

LIGNEES DE CARCINOME PROSTATIQUE ET APOPTOSE : Etat de la question

S. CALIFICE (1), D. WALTREGNY (1, 2), V. CASTRONOVO (1), F. VAN DEN BRÛLE (1, 3)

RÉSUMÉ : Le cancer de la prostate est une pathologie majeure des pays industrialisés. La croissance des masses tumorales résulte habituellement d'une prolifération cellulaire accrue, couplée à une diminution de la mort cellulaire programmée (apoptose). Dans ce manuscrit, après un bref descriptif des mécanismes apoptotiques et de leurs méthodes d'investigation, nous passons en revue la connaissance actuelle de l'implication de différents acteurs moléculaires dans la régulation de l'apoptose des cellules cancéreuses prostatiques. Cette revue synthétise notamment les connaissances actuelles de la (dé)régulation des effets des androgènes, de p53, de Bcl-2, Bcl-x_L et Bax, d'Akt et de PTEN, de Par-4, de la clusterine, de certaines caspases et de NF-κB dans les lignées d'adénocarcinome prostatique et offre une évaluation de leur potentiel thérapeutique. Une meilleure connaissance des voies apoptotiques dans ces cellules pourrait en effet permettre le développement de nouvelles stratégies anticancéreuses sélectives et efficaces.

INTRODUCTION

Dans nos pays industrialisés, l'adénocarcinome prostatique est le cancer le plus diagnostiqué et la deuxième cause de décès chez l'homme (1). Une meilleure connaissance de cette pathologie et un dépistage de masse ont permis une sensible diminution de mortalité ces dernières années (1) mais d'importants progrès thérapeutiques sont encore nécessaires.

L'apoptose, également appelée mort cellulaire programmée, définit le processus physiologique par lequel des cellules sont éliminées lors du développement et d'autres événements biologiques normaux. Elle est caractérisée par des modifications morphologiques stéréotypées (fig. 1) : condensation de la chromatine en figures géométriques compactes, condensation du noyau et rétrécissement du cytoplasme, externalisation des phosphatidylsérines de la membrane plasmique et fragmentation en corps apoptotiques (2).

La dérégulation de la prolifération cellulaire et la suppression de l'apoptose participent à l'initiation et la progression de la plupart des cancers (2). Cependant, c'est une inhibition de l'apoptose, bien plus qu'une augmentation de la prolifération cellulaire, qui constitue le facteur pathophysiologique critique contribuant au

PROSTATE CARCINOMA CELL LINES AND APOPTOSIS : A REVIEW

SUMMARY: Prostate cancer is a major pathology in industrialized countries. Tumor growth usually results from increased cell proliferation, conjugated with an inhibition of programmed cell death (apoptosis). In this paper, after a short description of the apoptotic mechanisms and their methods of investigation, we review the present knowledge of the implication of different molecular actors in the regulation of apoptosis in prostate cancer cells. This review notably summarizes the present knowledge of the (de)regulation of the effects of androgens, p53, Bcl-2, Bcl-x_L, Bax, Akt, PTEN, Par-4, clusterine, caspases and NF-κB in prostate adenocarcinoma cell lines and provides an appraisal of their therapeutic potential. A better knowledge of the apoptotic pathways in these cells could indeed allow the development of new selective and effective anti-cancer strategies.

KEYWORDS : *Apoptosis - Prostate - Cancer*

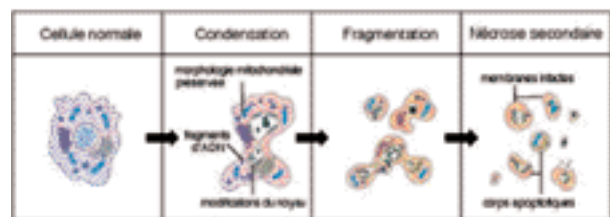


Fig 1. Modifications morphologiques de la cellule en apoptose. Dans un premier temps, le noyau se condense. Des fragments d'ADN s'échappent du noyau. Ensuite, la cellule se fragmente en corps apoptotiques dont la membrane est toujours intacte. En fin d'apoptose, les corps apoptotiques se nécrosent.

développement de l'adénocarcinome prostatique (2).

Les cellules de cancer prostatique androgéno-dépendantes et non androgénodépendantes posséderaient une machinerie apoptotique intacte (3). Les différences de résistance à l'apoptose induite par divers agents seraient dues à des blocages, à divers niveaux, des voies apoptotiques (2).

Dans cet article, après un bref descriptif des mécanismes apoptotiques et de leurs méthodes d'investigation, nous passons en revue la connaissance actuelle de l'implication de différents acteurs moléculaires dans la régulation de l'apoptose des cellules LNCaP et des cellules épithéliales prostatiques cancéreuses en général. Une meilleure connaissance des blocages des voies apoptotiques dans ces cellules pourrait permettre le développement de nouvelles stratégies anticancéreuses sélectives et efficaces.

(1) Laboratoire de Recherche sur les Métastases, Pathologie B23, (2) Service d'Urologie, (3) Service de Gynécologie, CHU B35, Sart-Tilman, Liège.

MÉCANISMES APOPTOTIQUES

Les voies apoptotiques sont nombreuses et complexes. Les voies extrinsèques, où la liaison de ligands à des récepteurs membranaires tels que Fas, TNF-R1 ou TRAIL-R1 et -R2 («death receptors») permet l'activation des protéines FADD et caspase-8. Les voies intrinsèques ne font pas intervenir ces récepteurs membranaires mais provoquent des altérations des mitochondries, un relargage de cytochrome C dans le cytoplasme et l'activation de la caspase-9 (2, 4).

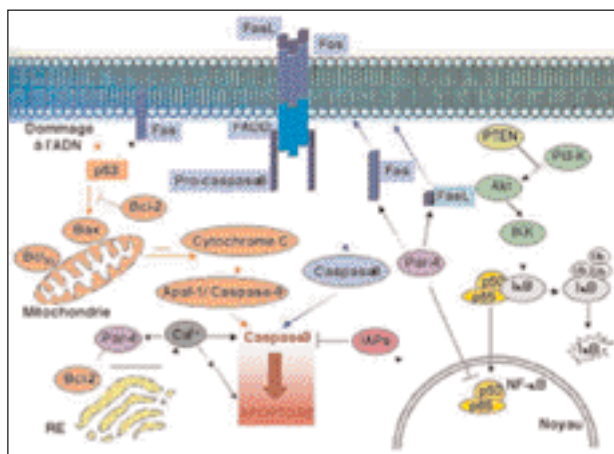


Fig. 2. Schéma récapitulatif des principales voies apoptotiques dans la prostate. La voie intrinsèque classique, caractérisée par des altérations des mitochondries, un relargage de cytochrome C dans le cytoplasme et l'activation de la caspase-9, est représentée à gauche (en orange). Un exemple de voie extrinsèque, où la liaison du récepteur membranaire Fas (un «death receptor») à son ligand (FasL) permet l'activation des protéines FADD et caspase-8, est schématisé au centre (en bleu). Toutes ces voies apoptotiques aboutissent à l'activation de la caspase-3 dont les activités protéolytiques jouent un rôle prépondérant dans l'apoptose. Abréviations : RE, reticulum endoplasmique; Ub, ubiquitine; IAP, inhibiteur de protéines impliquées dans l'apoptose (inhibitor of apoptosis proteins); Par-4, réponse-4 à l'apoptose dans la prostate (prostate apoptosis response-4); FADD, domaine «death» associé à Fas (Fas associated death domain); PI3-K, PI-3 kinase.

Toutes ces voies (fig. 2) conduisent à l'activation de caspases effectrices, essentiellement la caspase-3, dont les activités protéolytiques sont nombreuses (2, 4).

DÉTECTION ET QUANTIFICATION DE L'APOPTOSE

L'engouement pour l'étude de l'apoptose a conduit au développement de nombreuses méthodes d'investigation de ce processus. Voici un bref rappel des techniques les plus courantes. Le marquage à l'annexine-V, mettant en évidence l'externalisation des phosphatidylsérines, est souvent couplé au marquage à l'iodure de propidium. Les cellules positives pour l'annexine-V sont soit en apoptose précoce, si elles sont négatives pour l'iodure de propidium, soit en apoptose tardive ou nécrose, si elles sont

positives pour l'iodure de propidium (fig. 3A). La méthode TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling) permet de détecter la fragmentation oligonucléosomale de l'ADN, notamment *in situ* (fig. 3B) ou par cytométrie de flux. La technique du «DNA ladder» permet d'observer cette même fragmentation oligonucléosomale de l'ADN sur gel d'agarose (fig. 3C). L'emprunt de l'une ou l'autre voie caspasique peut être mis en évidence par des tests d'activité de caspases. Ces tests sont basés sur la détection spectrophotométrique du clivage d'un substrat spécifique conjugué à un chromophore. L'activité caspasique peut aussi être détectée par mise en évidence des formes activées, clivées, par Western blotting.

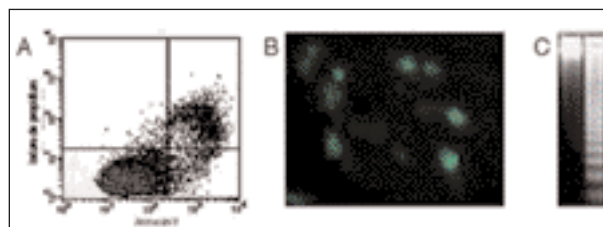


Fig. 3. Méthodes de détection de l'apoptose. (A) Analyse en cytométrie de flux de cellules ayant subi un double marquage annexine-V / iodure de propidium. Les axes définissent les intensités de fluorescence des cellules marquées (en abscisse, iodure de propidium; en ordonnée, annexine-V; échelle logarithmique). La population de cellules normales ne présente aucun des deux marquages (quadrant inférieur gauche). Les cellules positives pour l'annexine-V mais négatives pour l'iodure de propidium (quadrant inférieur droit) sont en apoptose précoce. Les cellules positives pour l'annexine-V et pour l'iodure de propidium (quadrant supérieur droit) sont soit en nécrose, soit en apoptose tardive. (B) Méthode TUNEL *in situ*. Les cellules marquées par l'addition de dUTP conjuguée à la fluorescéine au niveau de cassures des brins d'ADN sont en apoptose. (C) «DNA ladder». Sur gel d'agarose, l'ADN de cellules en apoptose (piste de gauche) migre selon un profil en échelle, suite à sa fragmentation oligonucléosomale, contrairement à l'ADN de cellules normales (piste de droite).

Cette dernière technique permet encore la détection de nombreuses protéines impliquées au cours de l'apoptose (par exemple Bcl-2, Bax et Akt), du relargage de cytochrome C dans le cytoplasme, et d'activités protéolytiques des caspases (le clivage de la PARP, par exemple).

LIGNÉES PROSTATIQUES CITÉES

Beaucoup de données décrites dans cet article proviennent de l'étude de lignées cancéreuses prostatiques *in vitro*. Les trois lignées de cancer prostatique LNCaP, DU-145 et PC-3 sont les mieux décrites et les plus largement utilisées dans diverses études.

LNCaP

La lignée LNCaP (American Type Culture Collection (ATCC), CRL-1740) a été établie en

1977, à partir de fragments biopsiques d'une métastase ganglionnaire d'un cancer prostatique modérément différencié diagnostiqué un an plus tôt chez un patient caucasien de 50 ans (5, 6).

DU-145

La lignée DU-145 (ATCC, HTB-81) a été établie en 1975, à partir d'une métastase cérébrale d'un homme caucasien de 69 ans atteint d'un cancer prostatique métastatique (7).

PC-3

La lignée PC-3 (ATCC, CRL-1435) provient de la mise en culture d'une métastase localisée au niveau des vertèbres lombaires d'un patient caucasien de 62 ans présentant un adénocarcinome prostatique peu différencié (8).

AUTRES LIGNÉES

La lignée TSU-PR1 est dérivée d'une métastase lymphatique cervicale d'un patient japonais de 73 ans (9). Les lignées ND-1 (10), ALVA-31 (11) et JCA-1 (12) proviennent toutes trois d'adénocarcinomes prostatiques primaires.

ACTEURS DE L'APOPTOSE DANS LA PROSTATE

ANDROGÈNES

Les androgènes favorisent la croissance des épithéliums prostatiques normaux et malins en stimulant la prolifération cellulaire et en inhibant l'apoptose (13, 14). La déprivation androgénique, soit par orchidectomie, soit par administration d'agonistes de la LHRH, provoque rapidement l'apoptose des cellules épithéliales de la prostate normale et l'involution de la glande (13). Lors du diagnostic, la plupart des cancers prostatiques se présentent comme un ensemble hétérogène de clones androgénodépendants et non androgénodépendants (13, 14). Une majorité d'adénocarcinomes prostatiques répondent dans un premier temps à la déprivation androgénique, par l'apoptose de la population cellulaire androgénodépendante prédominante (13). Les cellules non androgénodépendantes n'entrent pas en apoptose suite à la déprivation androgénique, mais gardent la capacité d'activer les voies apoptotiques en réponse à d'autres signaux cellulaires (13). Plus de 80 % des cancers métastatiques de la prostate répondent à la déprivation androgénique, mais la plupart de ces réponses sont transitoires, essentiellement parce que la population non androgénodépendante continue à proliférer et devient majoritaire (13). La lignée LNCaP est androgénodépendante, alors que les lignées DU-

145 et PC-3 ne sont pas androgénodépendantes. L'expression de récepteurs aux androgènes, présents dans les cellules LNCaP, reste controversée pour les DU-145 et PC-3 (15). Cependant, la déprivation androgénique n'induit pas l'apoptose des LNCaP mais bloque seulement leur prolifération (16).

p53

p53 est un gène suppresseur de tumeur et un facteur de transcription (17). Il intervient dans les voies apoptotiques considérées comme intrinsèques, par opposition à celles faisant intervenir des récepteurs membranaires, tels que TNFR, Fas et TRAIL, appelées voies extrinsèques (2). La perte de fonction normale de p53 conduit à une croissance cellulaire incontrôlée (13). Les mutations de p53 conduisent à l'augmentation de la demi-vie de la protéine p53 (18), ce qui rend sa détection possible par immunohistochimie.

Le gène p53 est fonctionnellement inactivé dans 70 % des tumeurs humaines (4). Des publications ont rapporté des taux élevés de mutations de p53 dans le cancer de la prostate (19). En fait, ces mutations sont peu communes dans les lésions prostatiques primaires mais fréquentes dans les stades cancéreux plus avancés (2, 13). Elles ont été associées aux métastases de cancers prostatiques (13, 19). L'expression de p53 et la présence de mutations de son gène ont été étudiées dans trois lignées cellulaires de cancer prostatiques : LNCaP, PC-3 et DU-145 (20). Un très faible pourcentage des noyaux de LNCaP présentent un immunomarquage pour p53 (20). Par comparaison, tous les noyaux de DU-145 sont marqués, alors que les noyaux des cellules PC-3 restent négatifs (20). Des mutations du gène p53 sont détectées dans les DU-145, les PC-3 et les TSU-PR1, mais pas dans les LNCaP (20, 21). La transfection de p53 de type sauvage dans les lignées de cancer prostatique contenant des allèles de p53 mutés inhibe leur croissance (21). À l'inverse, la réduction de la fonction de p53 de type sauvage dans la lignée LNCaP, par transfection avec un ADNc anti-sens ou une forme dominante-négative de p53, lui confère le phénotype hormono-résistant (22). Dans cette même lignée, la transfection avec un mutant «gain de fonction» (Gain-of-Function) de p53 permet également la croissance en l'absence d'androgènes (23). L'infection de cellules LNCaP (parentales ou transfectées avec Bcl-2) avec un vecteur adénoviral d'expression de p53 de type sauvage y induit l'apoptose alors que l'expression accrue de Bcl-2 protège la lignée PC-3 lors du même traitement (24).

BCL-2

La famille de Bcl-2 compte de nombreux inhibiteurs (Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Bfl-1, Bcl-11, Mcl-1, A1, E1B19K, LMW5-HL et EBV BHRF1) et promoteurs (Bax, Bak, Bcl-xS, Bad, Bid, Bik, Hrk, Bim et Bok) d'apoptose (4). L'activité anti-apoptotique de Bcl-2 semble être proportionnelle à son niveau d'expression (25). Bcl-2 n'est généralement pas exprimé dans la prostate normale (13) ou alors faiblement et seulement au niveau des cellules basales des épithéliums glandulaires qui sont résistantes à la déprivation androgénique (2). Par contre, Bcl-2 et d'autres protéines anti-apoptotiques de la même famille sont fréquemment exprimées dans les cancers prostatiques primaires et métastatiques (13). L'expression de Bcl-2 est corrélée positivement avec un grade de Gleason élevé, un stade clinique (pT) élevé et la progression vers l'androgénoindépendance (13). La plupart des tumeurs prostatiques androgéno dépendantes sont négatives pour Bcl-2, alors que Bcl-2 est exprimé dans 70 % des tumeurs androgéno indépendantes et seulement dans 34 % des métastases osseuses androgéno indépendantes (2). Le mécanisme par lequel l'expression de Bcl-2 est accrue dans le cancer prostatique reste à définir (13). Bcl-2 est exprimé de manière modérée dans la lignée LNCaP (26). Par comparaison, son niveau d'expression est très élevé dans les lignées PC-3 et TSU-PR1, mais nul dans les DU-145 (26). L'expression modérée de Bcl-2 protège la lignée LNCaP de l'apoptose induite par certains agents chimiothérapeutiques, notamment l'adriamycine et l'étoposide, puisque la transfection avec des transcrits Bcl-2 anti-sens provoque, parallèlement à une diminution d'expression de Bcl-2, une sensibilisation à ces agents inducteurs d'apoptose (14, 26). Inversement, la surexpression stable de Bcl-2 confère à la lignée LNCaP une résistance à l'apoptose induite par divers agents auxquels la lignée parentale était sensible : la déprivation en substances nutritives (16), la déprivation en androgènes ou en sérum (27) (effets contestés par d'autres (16)), les esters de phorbol (27), le traitement combiné de TRAIL (TNF-Related-Apoptosis-Inducing-Ligand) et de cycloheximide ou d'un inhibiteur de la PI-3 kinase (wortmannine ou LY-294002) (28, 29) et l'infection avec un adénovirus pour l'expression de PTEN couplée au traitement avec du TNF- α , un anti-corps agoniste anti-Fas ou de la staurosporine (30). Par contre, la surexpression de Bcl-2 ne protège pas les cellules LNCaP de l'apoptose induite par l'infection avec un vecteur adénoviral d'expression de p53 sauvage (24) ou de caspase-7 (31). Des cellules LNCaP surexprimant

Bcl-2 forment des tumeurs primitives plus tôt et plus grosses quand elles sont inoculées en sous-cutané à des souris mâles nues, et ce sont les seules (par comparaison à la lignée parentale ou aux clones contrôles) à former des tumeurs dans des souris nues castrées (27). Le traitement de LNCaP au paclitaxel, un agent chimiothérapeutique qui y induit l'apoptose, y provoque aussi la phosphorylation de Bcl-2, et donc la perte de sa fonction anti-apoptotique (32). Notons enfin que les androgènes induisent l'expression de Bcl-2 dans la lignée LNCaP, sensible à ces hormones, ce qui pourrait représenter un des mécanismes par lesquels les cellules de cancer prostatique androgéno dépendantes évoluent vers l'androgéno indépendance (14).

BCL-xL

Bcl-xL, tout comme Bcl-2, a une activité anti-apoptotique et leurs mécanismes d'action sont semblables à bien des égards (4). Bcl-xL et Bcl-2 sont les deux membres de la famille de Bcl-2 les plus souvent impliqués dans le cancer de la prostate (2). L'expression de Bcl-x a été mise en évidence dans les cellules épithéliales prostatiques normales (33). Mais Bcl-xL, comme Bcl-2, est surexprimé dans le cancer de la prostate (2). Bcl-xL est présent dans la totalité des cas d'adénocarcinomes prostatiques étudiés (2, 33). La lignée LNCaP exprime Bcl-xL de manière endogène (33). Il a été démontré que Bcl-xL, comme Bcl-2, peut bloquer l'apoptose induite par des agents physiologiques tels que le TRAIL et des inducteurs biochimiques tels que la staurosporine dans les lignées LNCaP, PC-3 et DU-145 (2). La surexpression de Bcl-xL désensibilise les cellules LNCaP et PC-3 à des agents cytotoxiques tels que le paclitaxel et la mitoxantrone (33). Inversement, la diminution d'expression de Bcl-xL seul, ou de Bcl-xL et de Bcl-2 par des stratégies anti-sens augmente fortement la sensibilité de ces lignées à des agents cytotoxiques chimiothérapeutiques tels que le paclitaxel, le docétaxel, la vinblastine et la mitoxantrone (33).

BAX

Contrairement à Bcl-2 et Bcl-xL, Bax est une molécule pro-apoptotique de la famille de Bcl-2. Les lignées de cancer prostatique LNCaP, LNCaP-Bcl-2, PC-3 et TSU-PR1 présentent des niveaux d'expression similaires de Bax; son expression n'est pas détectée dans la lignée DU-145 (34). Cette absence de Bax confère aux DU-145 une résistance à l'apoptose induite par la staurosporine (34). Une certaine résistance de la part des PC-3 peut s'expliquer par la diminution d'expression de Bax au cours du traitement à la staurosporine, alors que LNCaP et TSU-

PR1, très sensibles, maintiennent des niveaux d'expression constants (34). L'apoptose induite par l'infection avec un vecteur adénoviral d'expression de p53 sauvage ne modifie pas le niveau d'expression de Bax dans les LNCaP parentales ou surexprimant Bcl-2 (24). Il existe une corrélation entre l'expression de Bax dans les lignées de cancer prostatique et leur sensibilité à l'apoptose induite par Fas (3). Les lignées DU-145 et ND-1, résistantes à l'apoptose induite via Fas, n'expriment pas Bax, alors que les lignées PC-3 et ALVA-31, sensibles à Fas, expriment Bax (3). Cependant, Bax est également exprimé dans les lignées LNCaP et JCA-1, résistantes à l'apoptose induite via Fas (3).

AKT, TRAIL ET PTEN

TRAIL (TNF-Related-Apoptosis-Inducing-Ligand) est un membre de la superfamille TNF (tumor necrosis factor) qui s'est récemment révélé être très intéressant puisqu'il induit l'apoptose dans les cellules cancéreuses mais pas dans les cellules normales (28). Dans des souris nues injectées avec des tumeurs humaines, TRAIL réduit la taille de ces tumeurs sans effets secondaires notables (28). Les lignées de cancer prostatique PC-3 et DU-145 sont sensibles au TRAIL, alors que la lignée LNCaP y est résistante (28, 29). Pourtant, TRAIL et ses récepteurs (TRAIL-R1/DR4 et TRAIL-R2/DR5) sont exprimés de manière ubiquitaire, y compris dans les LNCaP (29). Il a été démontré que c'est une activité élevée d'Akt qui protège la lignée LNCaP de l'apoptose induite par TRAIL (29).

Akt facilite la survie cellulaire et bloque l'apoptose (28). L'activation de la voie PI-3 kinase/Akt génère du phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate, qui à son tour se lie au domaine homologue à la pleckstrine de la sérine/thréonine kinase Akt, ce qui mène au recrutement d'Akt à la membrane plasmique (28). Certaines cellules d'adénocarcinome prostatique expriment de manière constitutive de grandes quantités d'Akt, en raison de l'absence de phosphatase lipidique PTEN active, un inhibiteur de la voie de la PI-3 kinase (28). Ceci pourrait expliquer leur résistance à certains médicaments (28). C'est ainsi que les LNCaP qui, de manière constitutive, expriment le plus d'Akt phosphorylée (activée), par rapport aux lignées DU-145 et PC-3, sont résistantes au TRAIL alors que les deux autres lignées y sont sensibles (28). La diminution d'Akt active par des inhibiteurs de la PI-3 kinase (wortmannine et LY-294002) rend les LNCaP sensibles au TRAIL (2, 28). PTEN est un suppresseur de

tumeur doté d'une activité phosphatase (2). Son expression est perdue dans plus de 50 % des cancers prostatiques avancés, par blocage de sa transcription par méthylation ou par délétion du gène (2). Les LNCaP n'expriment pas PTEN de manière endogène, ce qui peut expliquer leur fort niveau d'expression d'Akt phosphorylée (30). L'expression de PTEN dans la lignée LNCaP par infection avec un adénovirus supprime l'activation constitutive d'Akt et sensibilise la lignée à l'apoptose induite par la voie des récepteurs («death receptors») au TNF, au TRAIL et Fas ou par des drogues (staurosporine, mitoxantrone et etoposide) (30). De plus, cette expression exogène de PTEN induit l'apoptose par elle-même 4 jours après infection (30). Par contre, l'infection de la lignée DU-145, qui exprime une protéine PTEN fonctionnelle de manière endogène, avec le même adénovirus, n'y induit pas l'apoptose (30). Notons au passage que la lignée PC-3, qui, comme la lignée LNCaP, n'exprime pas la protéine PTEN de manière endogène (2), et qui exprime la forme phosphorylée active d'Akt à un niveau intermédiaire à ceux des lignées LNCaP et DU-145, reste sensible à l'apoptose induite par le TRAIL (28).

PAR-4

Par-4 est un gène pro-apoptotique qui peut induire l'apoptose dans les cellules de cancer prostatique (2). Dans la prostate normale, Par-4 est exprimé dans le mésenchyme entourant la partie ventrale de la prostate et dans les cellules basales de l'épithélium glandulaire mais pas dans les cellules différenciées des canaux adjacents (2). Son expression augmente quand des cellules de cancer prostatique androgénoindépendantes sont soumises à un agent inducteur d'apoptose (2). L'expression ectopique de Par-4 suffit à induire l'apoptose dans les lignées de cancer prostatique PC-3, DU-145 et TSU-PR1, androgénoindépendantes, mais pas dans les LNCaP, androgénodépendantes, ni dans les cellules épithéliales normales de la prostate (35). Dans les PC-3, DU-145 et TSU-PR1, des lignées présentant une activité NF- κ B élevée, contrairement aux LNCaP et cellules normales, Par-4 inhibe l'activité anti-apoptotique de NF- κ B et mobilise Fas et FasL au niveau de la membrane plasmique (35).

TRPM-2/SGP-2/CLUSTERINE

La clusterine, également appelée TRPM-2 et SGP-2, est rapidement induite en réponse à la castration (14). Le traitement de cellules LNCaP par le TNF- α induit d'abord une élévation transitoire du niveau d'expression de la clusterine,

suivie par la déplétion de cette protéine qui précède temporellement l'initiation de l'apoptose (14). De plus, la transfection d'oligonucléotides antisens dirigés contre la clusterine augmente significativement l'apoptose dans les LNCaP alors que sa surexpression par transfection stable rend la lignée résistante à l'apoptose induite par le TNF- α (14). La clusterine aurait donc une activité anti-apoptotique dans les LNCaP.

CASPASES

Les caspases-3, -7, -8 et -9 sont activées dans les cellules LNCaP lors du traitement par divers agents inducteurs d'apoptose (29). Les caspases-8 et -9 sont des caspases initiateuses et la caspase-3 est la principale caspase effectrice de l'apoptose (2). Il existe cependant des agents apoptotiques, tels que la lovastatine, qui n'activent que la caspase-7 dans les LNCaP (36). Il a été montré que la seule surexpression de la caspase-7 induit l'apoptose dans les LNCaP et LNCaP surexprimant Bcl-2 (31).

NF- κ B, I κ B AND IKK

NF- κ B est un facteur de transcription possédant d'importantes fonctions anti-apoptotiques (2). Dans le cancer prostatique, NF- κ B contribue à la progression vers l'androgénoindépendance et vers un phénotype plus invasif et métastatique (2). Un niveau basal faible est détecté dans les cellules prostatiques épithéliales normales et dans la lignée LNCaP, androgénodépendante alors que les lignées de cancer prostatique androgénoindépendantes PC-3 et DU-145, présentent des activités NF- κ B élevées (2). La molécule IKK, qui inactive I- κ B, un inhibiteur de NF- κ B, en le phosphorylant, est exprimée de manière constitutive, sous sa forme active, dans les lignées PC-3 et DU-145, tandis que l'activité IKK est minimale dans les cellules LNCaP (2). Donc, NF- κ B est constitutivement activé dans les lignées PC-3 et DU-145, androgénoindépendantes, mais pas dans la lignée LNCaP, androgénodépendante, ou les cellules prostatiques épithéliales normales (2).

CONCLUSIONS

Les différences de sensibilité à l'apoptose observées dans les différentes lignées de cancer prostatique disponibles peuvent donc être au moins partiellement expliquées par différentes altérations des voies apoptotiques intracellulaires. Leur meilleure connaissance pourrait permettre le développement de nouvelles stratégies anticancéreuses sélectives et efficaces.

REMERCIEMENTS

Notre travail est supporté par des crédits du Fonds National de la Recherche Scientifique (FNRS), de Télévie et de la Fondation Léon-Frédéricq. S. Califice est le bénéficiaire d'un Grant spécial «Télévie» du FNRS et F. van den Brûle est Maître de Recherche du FNRS.

RÉFÉRENCES

1. Greenlee RT, Murray T, Bolden S et al.— Cancer statistics, 2000. *CA Cancer J Clin*, 2000, **50** (1), p. 7-33.
2. Gurumurthy S, Vasudevan KM, Rangnekar VM.— Regulation of apoptosis in prostate cancer. *Cancer Metastasis Rev*, 2001, **20** (3-4), p. 225-43.
3. Rokhlin OW, Bishop GA, Hostager BS et al.— Fas-mediated apoptosis in human prostatic carcinoma cell lines. *Cancer Res*, 1997, **57** (9), p. 1758-68.
4. Zornig M, Hueber A, Baum W et al.— Apoptosis regulators and their role in tumorigenesis. *Biochim Biophys Acta*, 2001, **1551** (2), p. F1-37.
5. Horoszewicz JS, Leong SS, Chu TM et al.— The LNCaP cell line – a new model for studies on human prostatic carcinoma. *Prog Clin Biol Res*, 1980, **37**, p. 115-32.
6. Horoszewicz JS, Leong SS, Kawinski E et al.— LNCaP model of human prostatic carcinoma. *Cancer Res*, 1983, **43** (4), p. 1809-18.
7. Mickey DD, Stone KR, Wunderli H et al.— Characterization of a human prostate adenocarcinoma cell line (DU 145) as a monolayer culture and as a solid tumor in athymic mice. *Prog Clin Biol Res*, 1980, **37**, p. 67-84.
8. Kaighn ME, Narayan KS, Ohnuki Y et al.— Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3). *Invest Urol*, 1979, **17** (1), p. 16-23.
9. Iizumi T, Yazaki T, Kanoh S et al.— Establishment of a new prostatic carcinoma cell line (TSU-Pr1). *J Urol*, 1987, **137** (6), p. 1304-6.
10. Narayan P, Dahiya R.— Establishment and characterization of a human primary prostatic adenocarcinoma cell line (ND-1). *J Urol*, 1992, **148** (5), p. 1600-4.
11. Loop SM, Rozanski TA, Ostenson RC.— Human primary prostate tumor cell line, ALVA-31 : a new model for studying the hormonal regulation of prostate tumor cell growth. *Prostate*, 1993, **22** (2), p. 93-108.
12. Muraki J, Addonizio JC, Choudhury MS et al.— Establishment of new human prostatic cancer cell line (JCA-1). *Urology*, 1990, **36** (1), p. 79-84.
13. Smith M, Kantoff P.— *Molecular Biology of Prostate Cancer*, in The Molecular Basis of CANCER, 2nd Edition, Mendelson et al., Editors. 2001. p. 343-360.
14. Tang DG, Porter AT.— Target to apoptosis : a hopeful weapon for prostate cancer. *Prostate*, 1997, **32** (4), p. 284-93.
15. Webber MM, Bello D, Quader S.— Immortalized and tumorigenic adult human prostatic epithelial cell lines : characteristics and applications Part 2. Tumorigenic cell lines. *Prostate*, 1997, **30** (1), p. 58-64.

16. Kajiwarra T, Takeuchi T, Ueki T et al.— Effect of Bcl-2 overexpression in human prostate cancer cells in vitro and in vivo. *Int J Urol*, 1999, **6** (10), p. 520-5.
17. Shen Y, White E.— p53-dependent apoptosis pathways. *Adv Cancer Res*, 2001, **82**, p. 55-84.
18. Finlay CA, Hinds PW, Tan TH et al.— Activating mutations for transformation by p53 produce a gene product that forms an hsc70-p53 complex with an altered half-life. *Mol Cell Biol*, 1988, **8** (2), p. 531-9.
19. Webber MM, Bello D, Quader S.— Immortalized and tumorigenic adult human prostatic epithelial cell lines : characteristics and applications. Part 3. Oncogenes, suppressor genes, and applications. *Prostate*, 1997, **30** (2), p. 136-42.
20. Carroll AG, Voeller HJ, Sugars L et al.— p53 oncogene mutations in three human prostate cancer cell lines. *Prostate*, 1993, **23** (2), p. 123-34.
21. Isaacs WB, Carter BS, Ewing CM.— Wild-type p53 suppresses growth of human prostate cancer cells containing mutant p53 alleles. *Cancer Res*, 1991, **51** (17), p. 4716-20.
22. Burchardt M, Burchardt T, Shabsigh A et al.— Reduction of wild type p53 function confers a hormone resistant phenotype on LNCaP prostate cancer cells. *Prostate*, 2001, **48** (4), p. 225-30.
23. Nesslinger NJ, Shi XB, deVere White RW.— Androgen-independent growth of LNCaP prostate cancer cells is mediated by gain-of-function mutant p53. *Cancer Res*, 2003, **63** (9), p. 2228-33.
24. Schumacher G, Bruckheimer EM, Beham AW et al. — Molecular determinants of cell death induction following adenovirus-mediated gene transfer of wild-type p53 in prostate cancer cells. *Int J Cancer*, 2001, **91** (2), p. 159-66.
25. Yin DX, Schimke RT.— BCL-2 expression delays drug-induced apoptosis but does not increase clonogenic survival after drug treatment in HeLa cells. *Cancer Res*, 1995, **55** (21), p. 4922-8.
26. Shi XB, Gumerlock PH, Muenzer JT et al.— BCL2 antisense transcripts decrease intracellular Bcl2 expression and sensitize LNCaP prostate cancer cells to apoptosis-inducing agents. *Cancer Biother Radiopharm*, 2001, **16** (5), p. 421-9.
27. Raffo AJ, Perlman H, Chen MW et al.— Overexpression of bcl-2 protects prostate cancer cells from apoptosis in vitro and confers resistance to androgen depletion in vivo. *Cancer Res*, 1995, **55** (19), p. 4438-45.
28. Chen X, Thakkar H, Tyan F et al.— Constitutively active Akt is an important regulator of TRAIL sensitivity in prostate cancer. *Oncogene*, 2001, **20** (42), p. 6073-83.
29. Nesterov A, Lu X, Johnson M et al.— Elevated AKT activity protects the prostate cancer cell line LNCaP from TRAIL-induced apoptosis. *J Biol Chem*, 2001, **276** (14), p. 10767-74.
30. Yuan XJ, Whang YE.— PTEN sensitizes prostate cancer cells to death receptor-mediated and drug-induced apoptosis through a FADD-dependent pathway. *Oncogene*, 2002, **21** (2), p. 319-27.
31. Marcelli M, Cunningham GR, Walkup M et al.— Signaling pathway activated during apoptosis of the prostate cancer cell line LNCaP : overexpression of caspase-7 as a new gene therapy strategy for prostate cancer. *Cancer Res*, 1999, **59** (2), p. 382-90.
32. Panvichian R, Orth K, Pilat MJ et al.— Signaling network of paclitaxel-induced apoptosis in the LNCaP prostate cancer cell line. *Urology*, 1999, **54** (4), p. 746-52.
33. Lebedeva I, Rando R, Ojwang J et al.— Bcl-xL in prostate cancer cells : effects of overexpression and down-regulation on chemosensitivity. *Cancer Res*, 2000, **60** (21), p. 6052-60.
34. Marcelli M, Marani M, Li X et al.— Heterogeneous apoptotic responses of prostate cancer cell lines identify an association between sensitivity to staurosporine-induced apoptosis, expression of Bcl-2 family members, and caspase activation. *Prostate*, 2000, **42** (4), p. 260-73.
35. Chakraborty M, Qiu SG, Vasudevan KM et al.— Par-4 drives trafficking and activation of Fas and FasL to induce prostate cancer cell apoptosis and tumor regression. *Cancer Res*, 2001, **61** (19), p. 7255-63.
36. Marcelli M et al.— Caspase-7 is activated during lovastatin-induced apoptosis of the prostate cancer cell line LNCaP. *Cancer Res*, 1998, **58** (1), p. 76-83.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Prof. F. van den Brûle, Service de Gynécologie, Centre Hospitalier Universitaire, B-35, Sart Tilman, B-4000 Liège.
E-mail : f.vandenbrule@ulg.ac.be