

Gènes impliqués dans l'apoptose prostatique provoquée par un déficit androgénique

Marc Bruyninx
Anne Cornet
Benoit Hennuy
Éric Reiter
Marc Klug
Jean Closset
Georges Hennen

La prostate est le siège d'affections invalidantes et graves telles l'hyperplasie bénigne et, surtout, le cancer. Ce dernier se caractérise par un taux de prolifération cellulaire particulièrement faible, et il est admis aujourd'hui qu'il résulte essentiellement d'un déficit du processus d'apoptose. La mort cellulaire programmée est un phénomène actif qui requiert la synthèse de nouvelles protéines. Plusieurs gènes, réglés au cours de l'apoptose affectant les cellules épithéliales prostatiques privées d'androgènes, ont été mis en évidence. Toutefois, la (ou les) cascade(s) d'activation conduisant à la mort de ces cellules demeure(nt) encore fort mal connue(s). L'identification de nouveaux gènes impliqués dans cette apoptose dépendante d'un déficit en androgènes, notamment à l'aide de techniques de clonage différentiel, pourrait s'avérer très importante pour le développement de nouvelles stratégies de traitement du cancer prostatique.

L'étude de l'apoptose (ou mort cellulaire programmée) est devenue, au cours de ces dernières années, un des thèmes majeurs de recherche sur la prostate tant normale que pathologique. Il y a à cet intérêt récent plusieurs raisons : d'une part, la prostate est un organe sans équivalent pour comprendre et comparer les phénomènes de prolifération cellulaire et d'apoptose, à la fois dans des tissus sains et néoplasiques ; d'autre part, c'est aussi un organe glandulaire assez simple sur les plans morphologique et histologique. Ses sécrétions jouent également un rôle important pour la vita-

lité et la mobilité du sperme, et interviennent dans la défense anti-infectieuse du bas appareil urinaire. Située sous la vessie et entourant l'urètre, la prostate est, de plus, accessible aux techniques chirurgicales classiques.

La fonction prostatique est sous le contrôle des androgènes qui sont testiculaires et surrénaliens chez l'homme, et exclusivement gonadiques chez le rat. Une déplétion en androgènes résultant d'une castration, ou induite par un traitement médicamenteux, conduit à une régression spectaculaire de l'épithélium glandulaire dans les jours qui suivent l'intervention [1].

ADRESSES

M. Bruyninx : étudiant en thèse, boursier FRIA.
A. Cornet : étudiante en thèse, boursière FRIA.
B. Hennuy : étudiant en thèse, boursier L. Frédéricq.
E. Reiter : chargé de recherches.
M. Klug : étudiant en thèse, boursier Télévie.
J. Closset : maître de conférences.
G. Hennen : professeur des universités.
Service de biochimie, Laboratoire d'endocrinologie, Faculté de médecine de l'Université de Liège, Tour de Pathologie-B23, 3, avenue de l'Hôpital, 4000-Liège, Belgique.

Chez l'homme, la prostate est le siège de maladies très invalidantes telle l'hyperplasie bénigne, ou de très mauvais pronostic, comme le cancer prostatique (*m/s n° 5, vol. 9, p. 542*). Cinquante pour cent des hommes présentent en effet une hyperplasie de la prostate entre 50 et 60 ans et près de 90% d'entre eux après 90 ans [2]. Le cancer prostatique est, quant à lui, la deuxième cause de décès par cancer chez l'homme après celui du poumon. Il est à lui seul responsable de 15 % des décès par cancer dans la population [3]. Plus parlant encore est la statistique montrant que, sur trois nouveaux cas de cancers diagnostiqués chez l'homme, l'un d'entre eux est un cancer prostatique [4]. Celui-ci évolue en outre inéluctablement vers un stade androgénorésistant, et il n'existe pas à ce jour de traitement curatif efficace.

Dans la prostate, comme dans la plupart des autres organes, la structure tissulaire et la fonction de la glande ne sont maintenues que si la prolifération par mitose des cellules épithéliales est contrebalancée par des morts cellulaires programmées d'égale importance. Ce contrôle coordonné de la prolifération cellulaire et de l'apoptose est assuré par l'apport permanent d'androgènes, qui agissent comme agonistes et antagonistes de ces deux mécanismes au niveau des cellules épithéliales. De ce fait, toute perte de contrôle d'un de ces processus peut conduire à un développement tumoral.

Une étude fondamentale de l'apoptose sur un modèle expérimental bien maîtrisé s'avère donc très utile pour la compréhension du processus cancéreux. La mort cellulaire programmée pouvant résulter d'une combinaison entre surexpression de signaux de suicide et répression de facteurs de survie, la mise en évidence de gènes contrôlant l'apoptose prostatique peut en effet conduire au développement de nouveaux traitements de ce type de cancer [5]. La régression prostatique observée après castration chez le rat constitue un modèle expérimental très utile pour répondre à ces objectifs. Elle est en effet bien étudiée en raison d'une mise en place rapide après une intervention chirurgicale aisée, et est aujourd'hui définie par des critères morphologiques et biochimiques précis.

La prostate du rat castré : un modèle d'apoptose

Morphologiquement, la prostate du rat adulte se compose d'un épithélium glandulaire représentant environ 80 % du volume de l'organe, entouré d'un stroma fibromusculaire. Les cellules constituant ces deux compartiments sont équipées de récepteurs des androgènes; toutefois, l'activité 5 α -réductase, responsable de la transformation de la testostérone en son métabolite actif, la 5 α -dihydrotestostérone, n'est présente que dans les cellules stromales [6-8]. Le maintien de l'homéostasie cellulaire de l'épithélium glandulaire par les androgènes implique donc des interactions avec les cellules du stroma. Celles-ci sont notamment le siège de synthèses de facteurs de croissance à actions paracrines, dépendant des androgènes.

Chez le rat castré, la prostate régresse jusqu'à ne plus représenter que 20 % de son poids initial dans les sept jours qui suivent l'opération [9]. Si les trois lobes de l'organe semblent indistinctement touchés par cette atrophie, celle-ci est cependant plus rapide dans la prostate ventrale que dans les lobes dorsaux et latéraux [10]. La régression prostatique résulte d'un arrêt de la prolifération cellulaire suivi de la mort par apoptose des cellules épithéliales glandulaires. Les cellules basales de l'épithélium et les cellules du stroma semblent largement épargnées par le phénomène.

L'apoptose des cellules épithéliales induite par la déplétion en androgènes est un processus séquentiel: il se caractérise par une involution cellulaire impliquant dans un premier temps une diminution de la synthèse protéique dépendante des androgènes ainsi que des modifications morphologiques mineures de l'épithélium. A ce stade du processus, l'involution cellulaire peut être totalement contrecarrée par un traitement de substitution par les androgènes. Dans un second temps, si la déplétion en androgènes persiste, un programme épigénétique de synthèse se met en place, conduisant irrévocablement les cellules vers la mort par apoptose.

Chronologiquement, la castration est suivie dans les cinq à six heures après

l'opération, d'une chute de la concentration de testostérone circulante de 98 % par rapport au niveau basal [9]. Déjà douze heures après la castration, les récepteurs des androgènes ont pratiquement disparu des noyaux cellulaires isolés de la prostate ventrale [9]. Douze à vingt-quatre heures plus tard, il ne subsiste plus au niveau prostatique que 5 % de la 5 α -dihydrotestostérone [11].

Dans les heures qui suivent la castration, la synthèse de protéines contrôlant le cycle cellulaire, comme les cyclines, est réprimée, de même que celle de l'ornithine décarboxylase et de certaines protéines de sécrétion. L'épithélium prend alors un aspect cubique et la concentration intracellulaire en androgènes atteint un niveau très bas. A ce moment, la production des polyamines diminue et la concentration intracellulaire en calcium augmente, s'accompagnant d'un accroissement de l'activité d'endonucléases dépendantes du Ca²⁺. L'aspect de la chromatine devient moins dense et l'hydrolyse de l'ADN par ces enzymes s'installe. Il est aujourd'hui confirmé que la DNase I constitue, au niveau prostatique, l'endonucléase responsable de la fragmentation de l'ADN [12]. Par la suite, apparaîtront les corps apoptotiques et les premiers signes de phagocytose par les macrophages et les cellules adjacentes [13].

Le taux maximal de cellules en apoptose est atteint au niveau de l'organe entier quatre jours après l'orchidectomie, mais le processus de mort cellulaire programmée se poursuit encore pendant les deux semaines suivantes. Cette apoptose prolongée suggère l'importance du rôle joué par les facteurs protéiques dépendants des androgènes au cours de l'apoptose prostatique.

Plusieurs protéines corrélées à l'apoptose prostatique sont déjà connues

Dans la prostate privée d'androgènes, comme dans de nombreux tissus subissant l'apoptose, un traitement à l'aide d'un inhibiteur de la synthèse des ARN messagers (actinomycine D) ou des protéines (cycloheximide) prévient la mise en place de l'apoptose. Ces données suggè-

rent que la mort cellulaire programmée constitue un processus actif qui requiert la synthèse de nouvelles protéines [14]. La comparaison d'électrophorèses à deux dimensions de protéines issues de tissus normaux et de tissus subissant l'apoptose confirme cette hypothèse [15]. Par ailleurs, différentes méthodes de clonage ont permis de mettre en évidence des gènes spécifiquement réglés lors de l'apoptose prostatique. Dans cet organe, la castration s'accompagne notamment d'une augmentation importante de l'expression de gènes codant pour des protéines telles que TRPM-2 (*testosterone repressed prostatic message-2*, communément appelée clustérine) ou TGF β (*transforming growth factor β*). Ce dernier est un facteur de croissance dont la synthèse est assurée exclusivement par les cellules stromales [16]. Les cellules épithéliales glandulaires sont, quant à elles, équipées de récepteurs du TGF β de type I et de type II, dont la synthèse est également augmentée lors de l'apoptose prostatique [17]. En outre, le traitement de cellules épithéliales en culture par le TGF β est suffisant pour induire leur mort par apoptose [18]. Le TGF β paraît donc être un candidat sérieux comme médiateur de l'apoptose hormono-dépendante. Toutefois, aucune interaction entre la (ou les) voie(s) de transduction utilisée(s) par le TGF β et les voies d'apoptose déjà connues n'a encore été mise en évidence à ce jour. Il a, en revanche, été démontré que le TGF β stimule la synthèse d'IGFBP-3 (*insulin-like growth factor binding protein-3*) au niveau des cellules épithéliales. Une surexpression des protéines vectrices des IGF (*insulin-like growth factor*) (IGFBP-3 et IGFBP-5) a par ailleurs été observée dans le processus d'apoptose prostatique [19]. Ces protéines de liaison sont connues pour limiter la disponibilité des IGF vis-à-vis des cellules épithéliales et inhiber ainsi leur prolifération. Il semblerait également que ces protéines vectrices, en se liant à des molécules associées à la membrane plasmique, soient capables d'induire l'apoptose, et ce indépendamment de la présence des IGF et de leurs récepteurs [20].

La clustérine voit donc elle aussi son niveau d'expression augmenter de

manière très importante lors de l'apoptose prostatique. Elle est également surexprimée dans d'autres modèles d'apoptose comme la glande mammaire après sevrage ou le rein après ligature de l'uretère [21, 22]. Elle pourrait à ce titre être considérée comme un marqueur général des atteintes cellulaires. Toutefois, la clustérine est une protéine que l'on retrouve de manière constitutive dans la plupart des organes et dans les principaux liquides biologiques. En outre, sa surexpression n'est pas corrélée à tous les modèles d'apoptose, et notamment à la mort programmée qui affecte les cellules neuronales lors du développement. La fonction exacte de la clustérine lors de l'involution prostatique reste donc très largement méconnue. Il a été récemment suggéré que cette protéine pourrait intervenir dans le contrôle du flux de cholestérol au travers des membranes et dans leur remodelage, étape indispensable à la formation des corps apoptotiques [23].

Outre le remodelage des membranes plasmiques, le processus d'apoptose requiert également la dégradation des composants de la matrice extracellulaire. Certaines protéases se sont effectivement révélées être surexprimées lors de l'apoptose prostatique consécutive à la castration. Citons parmi celles-ci, les cathepsines B et D, la matrilysine, les métalloprotéases 2 et 9, la collagénase ou encore l'UPA (*urokinase-type plasminogen activator*). Ces protéases constituent une cascade protéolytique activée lors de la castration, et qui fonctionne en dégradant successivement les inhibiteurs de protéases présents au niveau cellulaire et les nombreux constituants de la membrane basale (pour revue, voir [24]).

Une des voies proposées pour expliquer la mort programmée des cellules épithéliales prostatiques est celle impliquant le recrutement des cellules dans un cycle mitotique défectueux. Cette voie suppose l'arrêt des cellules à l'interface G1-S et l'activation du processus d'apoptose par le biais de la protéine p53 [25, 26]. L'intervention de cette voie d'activation est en accord avec l'augmentation des concentrations moyennes d'ARN messager (ARNm) de c-Myc, c-Fos et H-Ras observée

dans les cellules prostatiques privées d'androgènes [27]. Isaacs *et al.* ont cependant clairement démontré que l'apoptose prostatique ne s'accompagne pas d'une augmentation de la transcription de ces proto-oncogènes [28]. Par ailleurs, aucune surexpression de p53, ni des kinases dépendantes des cyclines n'a été observée dans la prostate du rat castré [28]. Il a en outre été démontré que la déplétion en androgènes peut induire l'apoptose dans les cellules glandulaires à l'état quiescent, en phase G0 [11]. La mort cellulaire induite par la déplétion en androgènes peut dès lors se dérouler de manière indépendante du cycle cellulaire et de p53. Cela est d'autant plus important que 90 % à 97 % des cellules tumorales prostatiques sont quiescentes [29].

Parmi les voies d'apoptose connues et impliquant une cascade d'activation intracellulaire caractéristique, celles faisant intervenir les deux récepteurs de la famille des TNFR (*tumor necrosis factor receptor-1* et Apo1Fas) sont sans aucun doute les mieux élucidées. La liaison des ligands spécifiques (TNF et ligand Fas) à leurs récepteurs respectifs permet en effet la transmission du signal apoptotique *via* des interactions protéine-protéine où interviennent des séquences peptidiques caractéristiques, les *death domains* [30]. Ces cascades se poursuivent dans la cellule par l'activation successive de nombreuses protéines de la famille des *interleukin-converting enzymes* (ICE ou caspases) (pour revue, voir [31, 32]). Au niveau prostatique, le récepteur Apo1Fas a été mis en évidence dans l'organe normal, dans plusieurs lignées néoplasiques, ainsi que dans l'adénome et le cancer prostatique [33]. L'anticorps anti-récepteur Apo1Fas peut en outre induire l'apoptose dans deux des lignées cellulaires étudiées (ALVA31 et PC3) [33]. Toutefois, seule l'étude de l'expression des ligands naturels de ces récepteurs dans la prostate privée d'androgènes permettra d'élucider une éventuelle implication de cette cascade dans les processus contrôlant l'apoptose dépendante des androgènes.

Enfin, il est évident que parmi les gènes impliqués dans la régulation de l'apoptose prostatique, tous ne

peuvent être considérés comme des activateurs du processus apoptotique. Dans ce contexte, le cas de l'oncogène Bcl-2 (*B-cell lymphoma/leukemia-2*) est à ce jour unique: il présente en effet la particularité d'exercer ses propriétés oncogéniques en ralentissant le processus d'apoptose plutôt qu'en accélérant la prolifération cellulaire (*m/s n° 4, vol. 11, p. 635*) [34]. Bcl-2 appartient en fait à une famille de protéines apparentées, certaines présentant des effets inhibiteurs de l'apoptose (Bcl-X_L, A1, mcl-1), d'autres se révélant plutôt inductrices de la mort cellulaire programmée (Bax, Bcl-X_S, Bad). Les données les plus récentes concernant le mode d'action de ces protéines, localisées au sein des membranes externes des mitochondries, du réticulum endoplasmique et de l'enveloppe nucléaire, font apparaître qu'elles agiraient en tant que canaux ioniques ou protéines d'ancrage au niveau membranaire (*m/s n° 5, vol. 13, p. 738*) [35]. Dans la prostate, Bcl-2 est synthétisé dans les cellules basales de l'épithélium glandulaire. Ces cellules sont précisément celles qui échappent au processus d'apoptose induit par privation d'androgènes. On rencontre également Bcl-2 dans les cellules neuroendocrines et dans quelques lymphocytes acinaires, mais pas, en revanche, dans les cellules épithéliales luminales dépendantes des androgènes [36]. Enfin, Bcl-2 est surexprimé dans les cancers prostatiques devenus résistants aux traitements anti-androgéniques, appuyant par là les arguments en faveur de son rôle d'inhibiteur de l'apoptose prostatique.

Au vu des données présentées dans cet article, il apparaît clairement qu'un effort de recherche doit encore être consenti, d'une part afin d'identifier de nouveaux gènes impliqués dans la régulation de l'apoptose prostatique dépendante des androgènes, et, d'autre part, afin de déterminer leur rôle ainsi que la place qu'ils occupent dans l'une ou l'autre voie d'induction de la mort cellulaire programmée. Chez le rat adulte, le taux maximal de cellules épithéliales prostatiques en apoptose est atteint le quatrième jour suivant l'orchidectomie. Le rat castré depuis trois jours semble donc constituer un bon modèle pour le clonage de nouveaux

gènes susceptibles d'intervenir dans la cascade d'activation du processus d'apoptose. Des coupes réalisées dans la prostate d'animaux castrés depuis trois jours laissent en effet apparaître clairement la structure atrophiée de l'épithélium glandulaire ainsi que des corps apoptotiques, résultat ultime du processus

de dégradation cellulaire (*figure 1A*). De même, la séparation en gel d'agarose d'ADN génomique extrait de prostates de rats révèle la présence, dès le deuxième jour après castration, de fragments d'ADN caractéristiques de l'activation d'endonucléases spécifiques du processus d'apoptose (*figure 1B*).

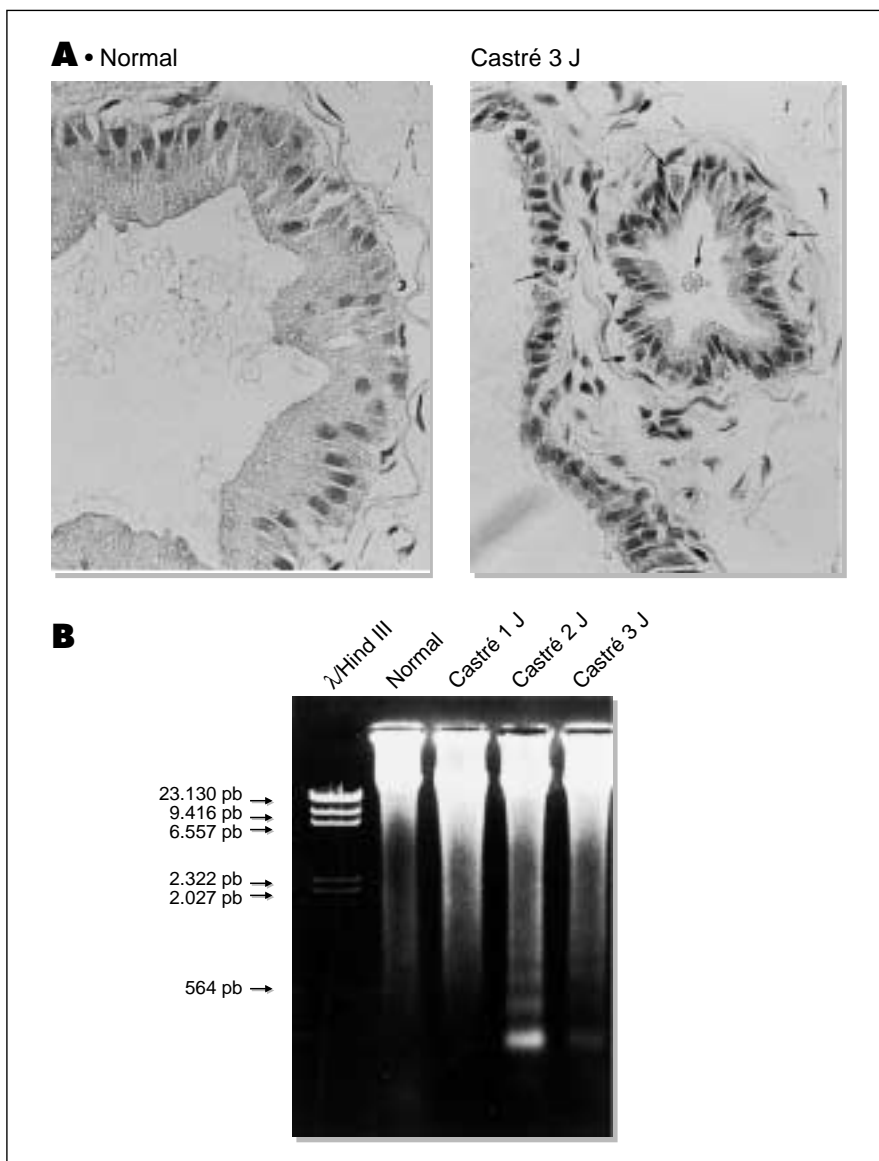


Figure 1. **A. Mise en évidence d'un épithélium glandulaire atrophié et de corps apoptotiques (marqués d'une flèche) dans des coupes (2 mm) réalisées dans la prostate de rat castré depuis 3 jours (agrandissement x 600).** L'épithélium de prostate de rat normal ne présente quant à lui aucun signe de mort cellulaire programmée. **B. Détection d'«échelles d'ADN» caractéristiques de l'apoptose par séparation en gel d'agarose d'ADN génomique extrait de prostate de rat.** Des fragments d'ADN dont les tailles sont des multiples de 180-200 paires de bases sont clairement visibles dans les prostates d'animaux castrés depuis 2 et 3 jours.

Les techniques de clonage différentiel

Parmi les techniques de clonage différentiel de gènes exprimés qui s'offrent aux chercheurs, l'hybridation soustractive a été largement utilisée au début des années 1990, notamment dans la prostate où elle a permis de mettre en évidence une augmentation de l'expression des gènes codant pour la γ -actine, la *matrix carboxyglutamic acid protein* et la glutathion S-transférase à la suite de la castration [37]. L'hybridation soustractive consiste à hybrider les ADN complémentaires (ADNc) issus d'un modèle d'intérêt avec un excès d'ADNc provenant d'un modèle témoin et à éliminer les hybrides correspondant aux séquences communes (figure 2A). Cette technique ne comporte malheureusement aucun point de contrôle permettant d'attester du bon déroulement des différentes réactions tout au long des nombreuses étapes menant à l'obtention de la banque soustraite. En outre, la soustraction n'est pas efficace à 100 % et nécessite dès lors un important travail de criblage de la banque soustraite ainsi obtenue.

Le *differential display* constitue quant à lui une technique rapide d'échantillonnage aléatoire qui permet de visualiser et de comparer de manière semi-quantitative des populations d'ARNm issues de modèles soumis à des conditions expérimentales différentes et amplifiées par PCR (*polymerase chain reaction*) (figure 2B). Si les différentes étapes que comporte la technique peuvent être contrôlées aisément, cette méthode engendre cependant un nombre important de « faux positifs ». De plus, contrairement à l'hybridation soustractive, les fragments d'ADNc obtenus par *differential display* sont généralement de très petite taille, rendant par la suite très difficile le clonage des ADNc complets correspondants.

A l'heure actuelle, une troisième technique semble prendre le pas sur

les deux précédentes; la *suppression subtractive hybridization* combine en effet l'efficacité de l'hybridation soustractive à la puissance de l'amplification par PCR (figure 2C). Cette technique permet notamment le clonage d'ADNc correspondant à des gènes dont le niveau d'expression est faible, même dans le modèle d'intérêt.

L'utilisation de ces trois méthodes nous a permis de cloner, outre le gène codant pour la clustérine, les ADNc correspondant à des gènes codant pour des protéines ribosomiques ainsi que des ADNc de séquences totalement inconnues et dont la caractérisation est en cours actuellement. Une synthèse accrue de protéines intervenant dans la composition du ribosome peut paraître surprenante de prime abord puisqu'il a été démontré que l'apoptose s'accompagne d'une diminution sensible de la synthèse générale des protéines [38]. Toutefois, il a été décrit que, dans certains cas, des protéines ribosomiques peuvent être impliquées dans des processus totalement indépendants de la machinerie traductionnelle. La protéine L5, par exemple, peut former un complexe avec le proto-oncogène Mdm-2 et la protéine p53 [39]. Il a aussi été établi que certaines protéines ribosomiques possèdent des domaines peptidiques de liaison à l'ADN, suggérant des rôles potentiels de facteurs de transcription [40].

Perspectives

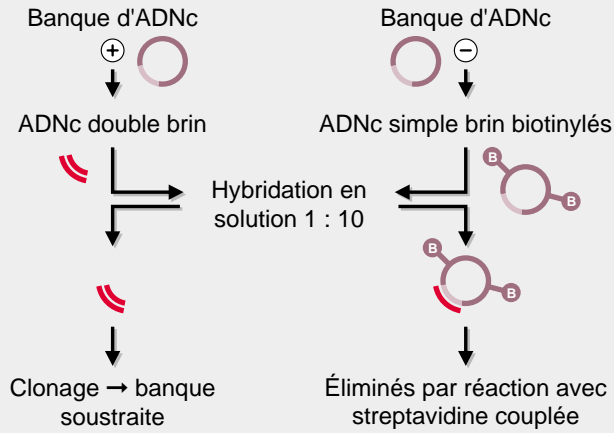
Une étude fondamentale du processus d'apoptose est d'un intérêt évident pour le développement de nouvelles thérapies du cancer en général, et du cancer prostatique en particulier. Ce dernier est connu pour sa grande dépendance vis-à-vis des androgènes et pour son évolution processive vers une forme résistante aux androgènes pratiquement incurable par les traitements antiprolifératifs actuels. En effet, à l'opposé des

cellules tumorales hormono-sensibles, la privation d'androgènes n'entraîne pas l'élimination de clones cancéreux hormono-résistants. Le traitement de ceux-ci à l'aide d'antimitotiques ne présente qu'un intérêt relatif puisque le cancer prostatique se caractérise par un taux de prolifération cellulaire particulièrement faible. Moins de 5 % des cellules cancéreuses prostatiques sont en phase de division contre parfois 30 % dans d'autres types de cancer [24]. L'accroissement du volume tumoral est donc peu rapide et résulte sans doute davantage d'un déficit du processus d'apoptose que d'une augmentation de la prolifération cellulaire.

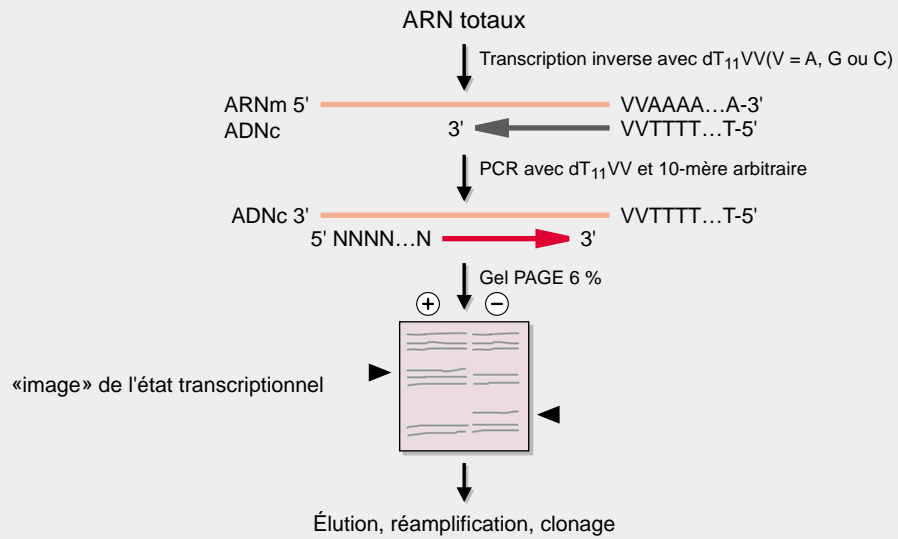
Dans cette perspective, il a été intéressant de découvrir que les cellules prostatiques résistantes aux androgènes ont conservé pratiquement intacte leur machinerie intracellulaire d'apoptose. Il paraît donc évident qu'une des stratégies thérapeutiques futures du cancer prostatique tentera d'induire la mort programmée des cellules résistantes aux androgènes. Augmenter l'apoptose de ces cellules pourrait en effet sans doute suffire à ramener la croissance tumorale à des valeurs acceptables, compte tenu du délai prolongé que nécessite le doublement des tumeurs résistantes aux androgènes, et de l'âge généralement avancé des patients qui ne leur garantit plus naturellement une grande espérance de vie. Ralentir le développement tumoral permettrait sans doute également de limiter les risques de dissémination de la tumeur. La mise au point de pareille stratégie thérapeutique sera largement facilitée si elle peut s'appuyer sur une connaissance précise, au niveau moléculaire, des effecteurs intracellulaires de l'apoptose prostatique, et sur l'identification au sein des promoteurs des gènes codant pour ces effecteurs, d'éléments de réponse permettant de moduler leur expression. Ces éléments de réponse pourraient dès lors constituer des cibles privilégiées pour de nouveaux traitements médicamenteux. La thérapie génique constitue une

Figure 2. Principe de l'hybridation soustractive (A), du differential display (B) et de la suppression subtractive hybridization (C). Ces 3 méthodes constituent les techniques les plus couramment utilisées pour le clonage des ADNc correspondant à des gènes dont le niveau d'expression dans un tissu ou une lignée cellulaire varie suite à un traitement expérimental. Les sigles + et - correspondent respectivement au modèle d'intérêt (pour lequel on recherche précisément la présence de gènes spécifiques ou exprimés de manière plus importante) et au modèle témoin. Dans le cadre de notre étude de l'apoptose prostatique dépendante des androgènes, le modèle d'intérêt est constitué par la prostate de rat castré depuis 3 jours, et le modèle témoin par la prostate de rat normal.

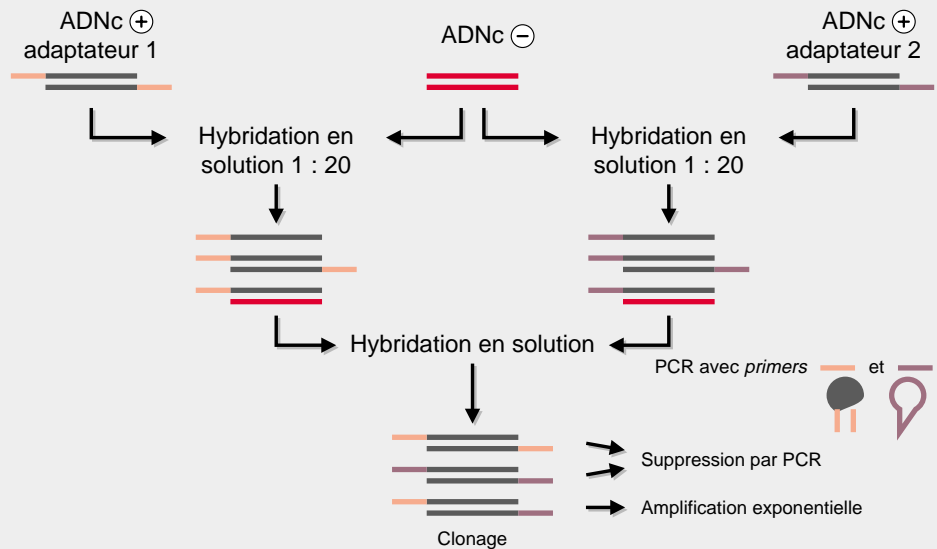
A • Hybridation soustractive



B • Differential display



C • Suppression subtractive hybridization



autre stratégie possible pour le traitement du cancer. De façon très schématique, cette thérapie vise, soit à réactiver des mécanismes immunitaires défectueux au niveau des tumeurs, soit à introduire des agents cytotoxiques dans les cellules cancéreuses. Le développement de vecteurs capables d'exprimer, après transfection des cellules cibles, des gènes inducteurs ubiquistes de l'apoptose ou spécifiques de la mort cellulaire programmée prostatique se révèle également d'un grand intérêt. Dans cette optique, notre recherche par les techniques de clonage différentiel de gènes surexprimés lors d'une déplétion en androgènes se justifie pleinement. Elle devrait toutefois s'accompagner, pour atteindre une spécificité tissulaire du traitement, d'une recherche de promoteurs puissants, porteurs d'éléments de réponse permettant une expression des gènes limitée exclusivement à la prostate ■

RÉFÉRENCES

- Isaacs JT. Antagonistic effect of androgens on prostatic cell death. *Prostate* 1984; 5: 545-57.
- Boyle P. The epidemiology of prostate cancer. In: Denis L, ed. *EOS Monographs*. Berlin: Springer-Verlag, 1991: 3-17.
- Statistics C Registration 1987 England and Wales. London: HMSO, 1993.
- Wingo PA, Tong T, Bolden S. Cancer statistics 1995. *CA Cancer J Clin* 1995; 45: 8-30.
- Solary E, Bertrand R, Pommier Y. Le rôle de l'apoptose dans la genèse et le traitement du cancer. *Med Sci* 1993; 9: 667-75.
- Sar M, Lubahn DB, Franch FS, Wilson EM. Immunohistochemical localization of the androgen receptor in rat and human tissues. *Endocrinology* 1990; 127: 3180-6.
- Silver RI, Wiley EL, Thigpen AE, Guileyardo JM, McConnell JD, Russell DW. Cell type specific expression of steroid 5 alpha reductase 2. *J Urol* 1994; 152: 438-42.
- Blanchard Y, Robaire B. Le mode d'action des androgènes et la 5-alpha-réductase. *Med Sci* 1997; 13: 467-73.
- Kyprianou N, Isaacs JT. Activation of programmed cell death in the rat ventral prostate after castration. *Endocrinology* 1988; 122: 552-62.
- Banerjee PP, Banerjee S, Tilly KI, Tilly JL, Brown TR, Zirkin BR. Lobe-specific apoptotic cell death in rat prostate after androgen ablation by castration. *Endocrinology* 1995; 136: 4368-76.
- Denmeade SR, Lin XS, Isaacs JT. Role of programmed (apoptotic) cell death during the progression and therapy for prostate cancer. *Prostate* 1996; 28: 251-65.
- Rauch F, Polzar B, Stephan H, Zanotti S, Paddenberg R, Mannherz HG. Androgen ablation leads to an upregulation and intranuclear accumulation of deoxyribonuclease I in rat prostate epithelial cells paralleling their apoptotic elimination. *J Cell Biol* 1997; 137: 909-23.
- Schwartzman RA, Cidowski JA. Apoptosis: the biochemistry and molecular biology of programmed cell death. *Endocrinol Rev* 1993; 14: 133-51.
- Stanisic T, Sadlowski R, Lee C, Grayhack JT. Partial inhibition of castration-induced ventral prostate regression with actinomycin D and cycloheximid. *Invest Urol* 1978; 16: 19-22.
- Lee C, Sensibar JA. Proteins of the rat prostate II. Synthesis of new proteins in the ventral lobe during castration-induced regression. *J Urol* 1987; 138: 903-8.
- Kyprianou N, Isaacs JT. Expression of transforming growth factor- β in the rat ventral prostate during castration-induced programmed cell death. *Endocrinology* 1989; 3: 1515-22.
- Kim IY, Ahn HJ, Zelner DJ, Park L, Sensibar JA, Lee C. Expression and localization of transforming growth factor- β receptors type I and type II in the rat ventral prostate during regression. *Mol Endocrinol* 1996; 10: 107-15.
- Sutkowski DM, Fong CJ, Sensibar JA, Rademaker AW, Sherwood ER, Kozlowski JM, Lee C. Interaction of epidermal growth factor and transforming growth factor beta in human prostatic epithelial cells in culture. *Prostate* 1992; 21: 133-43.
- Guenette RS, Tenniswood M. The role of growth factors in the suppression of active cell death in the prostate: an hypothesis. *Biochem Cell Biol* 1994; 72: 553-9.
- Rajah R, Valentinis B, Cohen P. Insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-3 induces apoptosis and mediates the effects of transforming growth factor- β 1 on programmed cell death through a p53- and IGF-independant mechanism. *J Biol Chem* 1997; 272: 12181-8.
- Buttayan R, Olsson CA, Pintar J, Chang C, Bandyk M, Ng PY, Sawczuk IS. Induction of the TRPM-2 gene in cells undergoing programmed death. *Mol Cell Biol* 1989; 9: 3473-81.
- Guenette RS, Corbeil HB, Léger J, Wong K, Mézl V, Mooibroek M, Tenniswood M. Induction of gene expression during involution of the lactating mammary gland of the rat. *J Mol Endocrinol* 1994; 12: 47-60.
- Wilson MR, Easterbrook-Smith SB, Lakins J, Tenniswood M. Mechanism of induction and function of clusterin at sites of cell death. In: Harmony J, ed. *Clusterin: function in vertebrate organ development, function and adaptation*. Austin, TX: RG Landes, 1994: 75-100.
- Tenniswood M. Apoptosis, tumor invasion and prostate cancer. *Br J Urol* 1997; 79 (suppl 2): 27-34.
- Colombel L, Olsson CA, Ng PY, Buttayan R. Hormone-regulated apoptosis results from reentry of differentiated prostate cells onto a defective cell cycle. *Cancer Res* 1992; 52: 4313-9.
- Zhang X, Colombel M, Raffo A, Buttayan R. Enhanced expression of p53 mRNA and protein in the regressing rat ventral prostate gland. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 198: 1189-94.
- Buttayan R, Zakeri Z, Lockshin R, Wolgemuth D. Cascade induction of c-fos, c-myc, and heat shock 70K transcripts during regression of the rat ventral prostate gland. *Mol Endocrinol* 1988; 2: 650-7.
- Furuya Y, Lin XS, Walsh JC, Nelson WG, Isaacs JT. Androgen ablation-induced programmed death of prostatic glandular cells does not involve recruitment into a defective cell cycle or p53 induction. *Endocrinology* 1995; 136: 1898-906.
- Mechali P, Poupon MF, Droz JP. Compte rendu du 86^e congrès de l'American Association for Cancer Research (AACR), Toronto, Ontario, 18-22 mai 1995. *Bull Cancer* 1996; 83: 85-98.
- Gueydan C, Coessens E. Avancées et perspectives de la recherche sur le facteur de nécrose tumorale (TNF). *Med Sci* 1997; 13: 83-8.
- Yuan J. Transducing signals of life and death. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9: 247-51.
- Mignon M, Riuquet N, Joulin V. Les caspases, les protéases à cystéine de l'apoptose: un enjeu thérapeutique pour demain? *Med Sci* 1998; 14: 9-17.
- Rokhlin OW, Bishop GA, Hostager BS, Waldschmidt TJ, Sidorenko SP, Pavloff N, Kiefer MC, Umansky SR, Glover RA, Cohen MB. Fas-mediated apoptosis in human prostatic carcinoma cell lines. *Cancer Res* 1997; 57: 1758-68.
- Reed JC. Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *J Cell Biol* 1994; 124: 1-6.
- Reed JC. Double identity for proteins of the Bcl-2 family. *Nature* 1997; 387: 773-6.
- Strasser A, Harris AW, Corcoran LM, Cory S. Bcl-2 expression promotes B- but not T-lymphoid development in scid mice. *Nature* 1994; 368: 457-60.
- Briehl MM, Miesfeld RL. Isolation and characterisation of transcripts induced by androgen withdrawal and apoptotic cell death in the rat ventral prostate. *Mol Endocrinol* 1991; 5: 1381-8.
- Lee C. Physiology of castration-induced regression of the rat prostate. *Prog Clin Biol Res* 1981; 75A: 145-51.

RÉFÉRENCES

39. Marechal V, Elenbaas B, Piette J, Nicolas JC, Levine AJ. The ribosomal L5 protein is associated with mdm-2 and mdm-2-p53 complexes. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 7414-20.
40. Hemmerich P, Micek AV, Neuman F, Sözeri O, Wolff-Vorbeck G, Zobelein R, Krawinkel U. Structural and functional properties of ribosomal protein L7 from human and rodents. *Nucleic Acids Res* 1993; 2: 223-31.

Summary

The androgen-deprived prostate, a model for the cloning of genes regulated during an hormone-dependent apoptosis

The prostate is a site of serious pathologies, such as benign hyperplasia and especially cancer. This latter is characterized by a very low rate of cellular proliferation, and it is recognized that prostate cancer results mainly from a deficit in the process of apoptosis. A fundamental study of apoptosis on a well-known experimental model would therefore be very useful for the comprehension of the cancer process. In particular, castration-induced rat prostatic regression is a good model, characterized by well-defined morphological and biochemical criteria. Prostatic apoptosis is an active process which requires the synthesis of new proteins. Several genes regulated during the programmed death of androgen-deprived epithelial prostatic cells have been described. However, the activation cascade(s) leading to the apoptosis of these cells is (are) still poorly understood. Efforts should be made to identify, for example by the use of differential cloning techniques, new genes implicated in this androgen-dependant apoptosis. These would be very important for the development of novel strategies for the treatment of prostate cancer.

TIRÉS À PART

M. Bruyninx.

m/s n° 5, vol. 14, mai 98



TENTH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON CHOLINERGIC MECHANISMS DIXIÈME SYMPOSIUM INTERNATIONAL SUR LES MÉCANISMES CHOLINÉRIQUES

Arcachon, France, 1^{er}-5 septembre 1998

• Les Symposiums Internationaux sur les Mécanismes Cholinergiques (ISCM) permettent de faire le point tous les trois ans sur les avancées de la recherche fondamentale, du niveau moléculaire au niveau intégré, et sur leurs implications, notamment en pharmacologie et médecine. Le Dixième Symposium de cette série aura lieu pour la première fois en France, au Palais des Congrès d'Arcachon, du 1^{er} au 5 septembre 1998. C'est à la station marine d'Arcachon que David Nachmansohn découvrit, en 1938, l'utilité des organes électriques de torpille pour l'analyse des synapses cholinergiques. Les sujets principaux concerneront l'organisation moléculaire, la régulation et la pharmacologie des récepteurs nicotiniques et muscariniques ; les mécanismes de la dépendance nicotinique ; la structure et l'ancrage de l'acétylcholinestérase ; le locus cholinergique des gènes de la choline acétyltransférase et du transporteur vésiculaire d'acétylcholine ; le mécanisme de libération de l'acétylcholine ; les facteurs trophiques des neurones cholinergiques ; le rôle des neurones cholinergiques dans l'apprentissage et la mémoire ; la maladie d'Alzheimer, les syndromes myasthéniques et autres pathologies cholinergiques ; la toxicologie cholinergique (pesticides et agents neurotoxiques). Des tables rondes seront organisées sur différents thèmes (thérapies cholinergiques de la maladie d'Alzheimer, régulation du système cholinergique par d'autres transmetteurs, etc.).

• Les auteurs suivants donneront des conférences plénières : Edson X. Albuquerque ; Stephen Arneric ; Marc Ballivet ; Daniel Bertrand ; Heinrich Betz ; Anders Björklund ; Steven J. Burden ; Jean Cartaud ; Jean-Pierre Changeux ; John A. Dani ; Pietro De Camilli ; Laurent Descarries ; Andrew G. Engel ; Jeffrey D. Erickson ; Alon Friedman ; Ezio Giacobini ; Stephen H. Heinemann ; Christopher Henderson ; Louis B. Hersh ; Ferdinand Hucho ; Ed C. Hulme ; Carlos Ibañez-Moliner ; Maurice Israel ; Jacques Mallet ; Jean Massoulié ; U. Jack McMahan ; André Ménez ; Emilio Merlo-Pich ; M.-Marsel Mesulam ; Danny Michaelson ; Cesare Montecucco ; David H. Moore ; Neil M. Nathanson ; Roger M. Nitsch ; Richard L. Rotundo ; Joshua R. Sanes ; Mohammed Shoaib ; Israel Silman ; Steven M. Sine ; Hermona Soreq ; Peter S. Spencer ; Palmer Taylor ; Jürgen Wess ; Victor P. Whittaker ; Kazuhito Yokoyama ; Steven Younkin.

• La date limite de soumission des contributions affichées est le 15 mai 1998. Elles pourront être incluses dans un numéro spécial du *Journal of Physiology Paris*.

INFORMATIONS

Dr Jean Massoulié, Laboratoire de Neurobiologie Moléculaire et Cellulaire, Cnrs URA 1857,
École Normale Supérieure, 46, rue d'Ulm, 75230 Paris Cedex 05, France
Téléphone : (33) 1 44 32 38 91 – Fax : (33) 1 44 32 38 87
e-mail: jean.massoulie@biologie.ens.fr
<http://www.ensam.inra.fr/ISCM.Arcachon>