

**Cancer**

## ***L* a kallibréine hK2 peut-elle favoriser la progression des tumeurs cancéreuses de la prostate ?**

**L**a kallibréine hK2 est le dernier-né de la petite famille des kallibréines glandulaires humaines (voir revue dans [1]). Cette famille de protéases à sérine inclut trois membres: hK1 dont les effets vasoactifs sont connus depuis plus de 60 ans ; hK3 ou antigène prostatique spécifique (abréviation anglaise: PSA), le marqueur du cancer le plus connu et, finalement, hK2 dont on commence seulement à étudier les propriétés biochimiques et enzymatiques.

### **Historique**

Contrairement à l'histoire de hK1, celle de hK2 est relativement courte. Elle commença en 1987 lorsque Schedlich *et al.* (Sydney, Australie) [2] publièrent la première séquence complète d'un gène de kallibréine. Ils lui donnèrent le nom de *human glandular kallikrein-1* et l'abréviation hGK-1. Cette abréviation fut changée pour celle de hK2 en 1993 après l'adoption d'une nouvelle nomenclature des kallibréines glandulaires [3]. En 1988, notre équipe avait montré que l'ARN messager codant pour hK2 était exprimé dans la prostate, mais dans aucun des autres tissus examinés [4]. Dans les années qui suivirent, ces résultats furent confirmés par plusieurs équipes. Par ailleurs, la protéine elle-même échappa à toutes les tentatives de purification jusqu'à ce que nous parvenions à l'isoler en 1995 à partir du plasma séminal [5]. Cependant, elle n'avait aucune activité enzymatique parce que complexée à un inhibiteur de type serpine, l'inhibiteur de la protéine C (PCI). Peu de temps après, la protéine active pouvait être récupérée après la dissociation à pH alcalin du

complexe hK2-PCI [6]. La caractérisation enzymatique de hK2 pouvait enfin commencer. Les premiers travaux effectués nous permirent de distinguer les rôles respectifs de hK2 et hK3 sur l'hydrolyse des protéines de sécrétion des vésicules séminales. Comme on le verra plus loin, ce type d'activité peut aussi avoir des répercussions au niveau des cellules prostatiques cancéreuses puisque l'un de ces substrats s'y retrouve associé et que hK2 est synthétisé dans une grande proportion des adénocarcinomes prostatiques [7].

### **Hydrolyse des protéines des vésicules séminales par hK2 et hK3**

Les substrats les plus évidents des protéases hK2 et hK3 sont les protéines qui forment le coagulum dans lequel les spermatozoïdes se retrouvent temporairement piégés au moment de l'éjaculation. Ces protéines sont principalement les séminogélines I et II et la fibronectine [8, 9]. Les auteurs de ces travaux ont conclu que la kallibréine hK3 était la protéase responsable de l'hydrolyse des trois protéines. Nos travaux récents confirment ces conclusions pour les séminogélines. En effet, même si hK2 et hK3 hydrolysent les séminogélines avec une cinétique semblable, les concentrations de hK2 sont au moins 100 fois inférieures à celles de hK3 dans le plasma séminal, ce qui suggère que l'influence de hK2 sur ces substrats doit être négligeable [10]. Quant à la fibronectine, on a constaté qu'elle était hydrolysée avec beaucoup plus d'efficacité par hK2 que par hK3. Les protéines hK2 et hK3 pourraient donc jouer des rôles complémentaires sur les protéines de l'éjaculat.

On entrevoit, en outre, des effets importants pour hK2 en périphérie des cellules prostatiques cancéreuses s'il s'avère que la fibronectine de la matrice extracellulaire est aussi sensible à cette kallibréine.

### **La protéine hK2 comme facteur favorisant la progression du cancer**

L'hydrolyse des protéines de la matrice extracellulaire (fibronectine, laminine, collagène, etc.) est l'une des façons couramment mentionnée, mais non nécessairement exclusive, de favoriser la migration des cellules cancéreuses. Dans le cas des adénocarcinomes prostatiques, la production de hK2 pourrait être un facteur important à cet égard puisqu'elle est vraisemblablement sécrétée sous sa forme active comme dans le plasma séminal. Les enzymes protéolytiques peuvent aussi agir indirectement sur la matrice en contribuant à la formation de la plasmine active à partir du plasminogène. La plasmine active se montre, en effet, particulièrement agressive vis-à-vis des protéines de la matrice extracellulaire [11]. L'activation du plasminogène se fait généralement par l'urokinase activée. Or, les cellules produisent l'urokinase sous sa forme inactive à simple chaîne qui doit elle-même être activée *in vivo* par des protéases dont l'identité est encore inconnue. Nous venons de montrer que hK2 est capable de déclencher une cascade protéolytique conduisant successivement à l'activation de l'urokinase simple chaîne et du plasminogène [12]. La plasmine engendrée pourrait alors s'autosuffire et activer l'urokinase simple chaîne. Nos études montrent également que, contrairement à hK2, la kallibréine

hK3 est totalement incapable d'activer l'urokinase. Ces résultats contredisent ceux de Yoshida *et al.* (Miyasaki, Japon) obtenus avec une préparation de hK3 différente de la nôtre [13]. Nous concluons donc que hK2 pourrait déclencher l'activation du système urokinase-plasmine avec toutes les conséquences bien démontrées sur le cancer.

Une autre façon de contribuer à la progression des tumeurs est d'augmenter la biodisponibilité des facteurs de croissance de type *insulin-like growth factor*, IGF-I et IGF-II grâce à la protéolyse d'une de ses protéines liantes, *insulin-like growth factor binding proteins* ou IGFBP. On savait par les travaux du laboratoire de Pinchas Cohen (Stanford, CA, USA) [14] que hK3 pouvait altérer l'activité biologique de l'IGFBP-3. Grâce à une collaboration avec ce chercheur, il a récemment été possible de démontrer que la protéolyse des IGFBP-2 et -3 par hK2 était au moins 100 fois plus efficace que par hK3 (résultats non publiés). Les travaux récents du laboratoire de Michel Binoux (Paris, France) [15, 16] montrent que les cellules cancéreuses prostatiques PC-3 sécrètent de l'IGF-II et les IGFBP-2 et -3. Il est donc logique de penser que la production de hK2 actif par les cellules cancéreuses de la prostate pourrait contribuer à leur prolifération en augmentant la concentration des IGF capables d'interagir avec leur récepteur membranaire.

### Conclusion et perspectives

La protéolyse d'au moins trois substrats de la kallibréine prostatique hK2 pourrait influencer la croissance et la progression du cancer de la prostate (*figure 1*). L'action de hK2 sur ces substrats pourrait être directe ou résulter de l'activation du plasminogène. Étant donné les concentrations relativement faibles de hK2 dans les sécrétions prostatiques normales [6] et vraisemblablement aussi dans les cellules cancéreuses de la prostate, l'activation de l'urokinase pourrait être la voie la plus significative pour influencer l'évolution du cancer prostatique parce qu'elle fait appel à une cascade protéolytique permettant d'amplifier le signal initial. En outre,

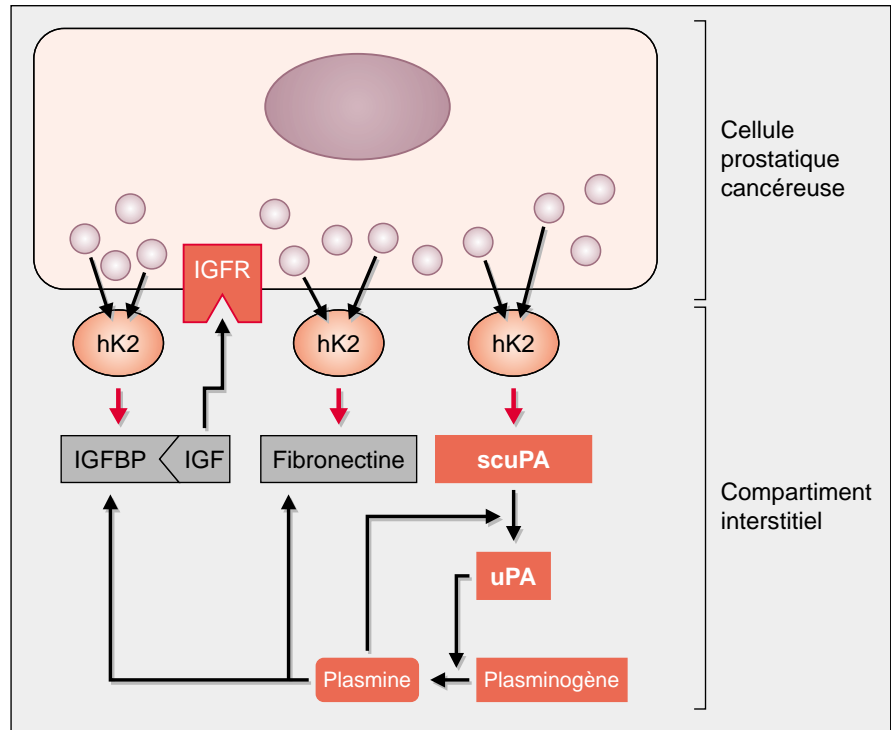


Figure 1. **Représentation schématique de l'action de la kallibréine hK2 sur trois substrats dont la protéolyse peut favoriser la progression des cellules cancéreuses de la prostate.** À la suite d'une perte de polarité des cellules cancéreuses, la kallibréine hK2 pourrait se retrouver dans l'espace interstitiel et convertir l'urokinase simple chaîne inactive (scuPA) en urokinase active (uPA), hydrolyser la fibronectine de façon extensive et fragmenter les insulin-like growth factor binding protein-2 et -3 (IGFBP). L'urokinase active ainsi engendrée peut à son tour transformer le plasminogène en plasmine active qui peut agir de façon encore plus efficace que hK2 sur les trois substrats (IGFBP, fibronectine et uPA). L'hydrolyse des IGFBP libère l'IGF-I ou l'IGF-II qui peuvent maintenant interagir avec leur récepteur membranaire IGFR et activer la prolifération des cellules cancéreuses.

quatre composantes de ce système (urokinase, IGF-II et IGFBP-2 et -3) sont produites naturellement par les cellules prostatiques cancéreuses et une autre, le plasminogène, est une molécule à large distribution dans tous les fluides biologiques.

La question est donc maintenant de savoir si les activités démontrées *in vitro* surviennent *in vivo* et ont l'importance qu'on leur attribue ici. Pour répondre à ces questions, il faudra développer des modèles animaux surexprimant la kallibréine hK2 dans les cellules cancéreuses. Mais la découverte d'un polymorphisme génétique du gène *hKLK2* codant, soit pour une forme active de hK2, soit pour une forme inactive [17] pourrait s'avérer une approche plus facile pour étudier directement

l'influence de hK2 sur la progression des cancers prostatiques.

En terminant cette brève revue, il faut également souligner que des travaux récents indiquent que hK2 est un candidat sérieux comme marqueur complémentaire de hK3 pour le diagnostic et le suivi du cancer de la prostate [18] et peut-être même du sein chez la femme [19] ■

### Jean Y. Dubé

Professeur titulaire à la faculté de médecine de l'Université Laval. Laboratoire de biorégulation hormonale. Centre de recherches du CHUQ Pavillon CHUL, 2705, boulevard Wilfrid-Laurier, Sainte-Foy, Québec, G1V 4G2 Canada.

## RÉFÉRENCES

- Bhoola KD, Figueroa CD, Worthy K. Bio-regulation of kinins: kallikreins, kininogens, and kininases. *Pharmacol Rev* 1992; 44: 1-80.
- Schedlich LJ, Bennetts BH, Morris BJ. Primary structure of a human glandular kallikrein gene. *DNA* 1987; 6: 429-37.
- Berg T, Bradshaw RA, Carretero OA, Chao J, Chao L, Clements JA, Fahnestock M, Fritz H, Gauthier F, MacDonald RJ, Margolius HS, Morris BJ, Richards RI, Scicli AG. A common nomenclature for members of the tissue (glandular) kallikrein gene families. In: Fritz H, Muller-Esterl W, Jochum M, Roscher A, Luppertz K, eds. *Recent Progress on Kinins*. Basel: Birkhauser Verlag, 1992; 38/1: 19-25.
- Chapdelaine P, Paradis G, Tremblay RR, Dubé JY. High level of expression in the prostate of a human glandular kallikrein mRNA related to prostate-specific antigen. *FEBS Lett* 1988; 236: 205-8.
- Deperthes D, Chapdelaine P, Tremblay RR, Brunet C, Berton J, Hébert J, Lazure C, Dubé JY. Isolation of prostatic kallikrein hK2, also known as hGK-1, in human seminal plasma. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1245: 311-6.
- Frenette G, Tremblay RR, Lazure C, Dubé JY. Purification of enzymatically active kallikrein hK2 from human seminal plasma. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1334: 109-15.
- Tremblay RR, Deperthes D, Têtu B, Dubé JY. Immunohistochemical study suggesting a complementary role of kallikreins hK2 and hK3 (prostate-specific antigen) in the functional analysis of human prostate tumors. *Am J Pathol* 1997; 150: 455-9.
- Lilja H. A kallikrein-like serine-protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. *J Clin Invest* 1985; 76: 1899-903.
- Lilja H, Oldbring J, Rannevik G, Laurell CB. Seminal vesicle secreted proteins and their reactions during gelation and liquefaction of human semen. *J Clin Invest* 1987; 80: 281-5.
- Deperthes D, Frenette G, Brillard-Bourdet M, Bourgeois L, Gauthier F, Tremblay RR, Dubé JY. Potential involvement of kallikrein hK2 in the hydrolysis of the human seminal vesicle proteins after ejaculation. *J Androl* 1996; 17: 659-65.
- Bogenmann E, Jones PA. Role of plasminogen in matrix breakdown by neoplastic cells. *J Natl Cancer Inst* 1982; 71: 1177-82.
- Frenette G, Tremblay RR, Lazure C, Dubé JY. Prostatic kallikrein hK2, but not prostate-specific antigen (hK3), activates single-chain urokinase-type plasminogen activator. *Int J Cancer* 1997; 71: 897-9.
- Yoshida E, Ohmura S, Sugiki M, Maruyama M, Mihara H. Prostate-specific antigen activates single-chain urokinase type plasminogen activator. *Int J Cancer* 1995; 63: 863-5.
- Cohen P, Graves HCB, Peehl DM, Kamarei M, Giudice LC, Rosenfeld RG. Prostate-specific antigen (PSA) is an insulin like growth factor binding protein-3 protease found in human seminal plasma. *J Clin Endocr Metab* 1992; 75: 1046-53.
- Angelloz-Nicoud P, Binoux M. Auto-crine regulation of cell proliferation by the insulin-like growth factor (IGF) and IGF binding protein-3 protease system in a human prostate carcinoma cell line (PC-3). *Endocrinology* 1995; 136: 5485-92.
- Harel L. Les propriétés multiples des protéines de liaison des IGF (*insulin-like growth factors*): inhibiteurs et activateurs de croissance. *Med Sci* 1996; 12: 359-63.
- Herrala A, Kurkela R, Porvari K, Isomaki R, Henttu P, Vihko P. Human prostate-specific glandular kallikrein is expressed as an active and an inactive protein. *Clin Chem* 1997; 43: 279-84.
- Darson MF, Pacelli A, Roche P, Rittenhouse HG, Wolfert RL, Young CYF, Klee GG, Tindall DJ, Bostwick DG. Human glandular kallikrein 2 (hK2) expression in prostatic intraepithelial neoplasia: a novel prostate cancer marker. *Urology* 1997; 49: 857-62.
- Hsieh ML, Charlesworth MC, Goodmanson M, Zhang S, Seay T, Klee GG, Tindall DJ, Young CYF. Expression of human prostate-specific glandular kallikrein protein (hK2) in the breast cancer cell line T47-D. *Cancer Res* 1997; 57: 2651-6.

## TIRÉS À PART

J.Y. Dubé.

## Deuxième conférence Louis Pasteur sur les maladies infectieuses SIGNAUX MOLÉCULAIRES ET MALADIES INFECTIEUSES 8-10 octobre 1988 • Institut Pasteur, Paris

La conférence portera sur la pathogenèse des maladies infectieuses (parasites, bactéries, virus) dans le cadre des développements récents en biologie cellulaire. L'accent sera placé sur les voies de signalisation intracellulaires et les signaux solubles produits par les microbes et leurs hôtes

Organisateurs  
Organizers

J.L. Virelizier  
(Institut Pasteur, coordinateur)  
R.R. Kiberg  
(???)  
K. Joiner  
(Yale University)

S. Pellegrin  
(Institut Pasteur)

INSTITUT PASTEUR  
Centre d'Information Scientifique  
28, rue du Docteur-Roux  
75015 Paris, France

Conférence inaugurale  
Peter C. Doherty (États-Unis)

Signalisation et invasion par les micro-organismes  
(adhésion, entrée, fusion, événements précoces)

Norma Andrews (États-Unis), Joan Brugge (États-Unis), Pascale Cossart (France), Jorge E. Calan (États-Unis), Keith Joiner (États-Unis), Dan Littman (États-Unis), Robert Menard (États-Unis), Philippe Samsonetti (France), John Skehel (Royaume-Uni).

Vie et mort des cellules infectées  
(immortalisation, apoptose, transmission des signaux, influences réciproques sur la survie)

Guy Cornelis (Belgique), Michael Donnenberg (États-Unis), Paul Farrell (Royaume-Uni), Alan Hall (Royaume-Uni), Gordon Langsley (France), Thomas Meyer (Allemagne), David Russel (USA), Jürg Tschopp (Suisse), Samuel Toreo (États-Unis), Karen Van-??? (États-Unis).

Signaux solubles  
(cytokines, chimiokines, récepteurs solubles, leurres, mécanismes de protection et d'échappement)

Fernando Arenzana-Se??? (France), Marco Baggiolini (Suisse), James X. ??? (États-Unis), David Sacks (États-Unis), Louis Scheffield (Australie), Geoffrey Smith (Royaume-Uni)

Présentation des affiches sélectionnées

Conférences de clôture  
Daniel Leuvar (France), Stanley Falkow (États-Unis)