



chez les patients atteints de mélanome et 4 réponses partielles dans les cas de cancer du rein. Dans la troisième étude, l'association de l'IL-21 et du Rituximab chez 15 patients une des rechute de lymphome B a permis d'obtenir deux réponses complètes caractérisées par une disparition totale des tumeurs dans l'organisme, 3 réponses partielles, ainsi que 8 stabilisations.

De nouveaux essais cliniques sont en cours avec l'IL-21 seule ou en combinaison avec d'autres agents (Tableau 1). Deux cytokines, l'IL-2 et l'IFN- α , sont déjà utilisées dans le traitement du mélanome métastatique et du carcinome à cellules rénales, mais elles induisent une réponse antitumorale faible et l'IL-2 s'avère toxique à long terme lorsqu'elle est utilisée aux doses efficaces sur le plan tumoral. Le traitement par l'IL-2 entraîne en effet un syndrome hémorragique vasculaire qui produit des œdèmes interstitiels et provoque la défaillance d'organes comme les poumons et le cœur. L'IL-21 est, quant à elle, considérablement moins toxique que l'IL-2 pour une efficacité anti-tumorale au moins équivalente sinon supérieure, permettant donc d'envisager son utilisation seule ou associée à d'autres agents thérapeutiques, si ces premières données se confirment dans d'autres essais cliniques. L'IL-21 semble donc à ce jour être la seule cytokine dotée de propriétés antitumorales efficaces, notamment vis-à-vis des

cellules B malignes, et dont la toxicité est acceptable, aucun effet secondaire mortel ou sévère n'ayant été rapporté à ce jour. Récemment, notre groupe de recherche a démontré un taux faible d'IL-21 circulante chez les patients infectés par le VIH (virus de l'immunodéficience humaine) développant un SIDA (syndrome d'immunodéficience acquise), et une corrélation positive entre l'absence d'IL-21 et la progression vers un SIDA [16]. De plus, nos données expérimentales attestent un effet bénéfique de l'IL-21 sur la réponse antivirale relayée par les cellules NK et les LTCD8⁺. Cette cytokine représente donc l'un des agents immunothérapeutiques les plus prometteurs et les essais cliniques en cours apporteront de précieuses informations sur son efficacité dans le traitement de patients atteints de cancer ou de pathologies associées à des virus ou à des bactéries. \diamond

Interleukin-21, new adjuvant for cancer therapy?

RÉFÉRENCES

- Spolski R, Leonard WJ. Interleukin-21: basic biology and implications for cancer and autoimmunity. *Ann Rev Immunol* 2008; 26: 57-79.
- Gougelet A, Mansuy A, Blay J. De l'eau au moulin de thérapies ciblant l'interleukine-6 dans les tumeurs épithéliales. *Med Sci (Paris)* 2008; 24: 694-6.
- Kirkwood JM, Tarhini AA, Panelli MC, et al. Next generation of immunotherapy for melanoma. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3445-55.
- Andorsky DJ, Timmerman JM. Interleukin-21: biology and application to cancer therapy. *Exp Opin Biol Ther* 2008; 8: 1295-307.
- Comes A, Rosso O, Orengo AM, et al. CD25⁺ regulatory T cell depletion augments immunotherapy of micrometastases by an IL-21-secreting cellular vaccine. *J Immunol* 2006; 176: 1750-8.
- Zeng R, Spolski R, Finkelstein SE, et al. Synergy of IL-21 and IL-15 in regulating CD8⁺ T cell expansion and function. *J Exp Med* 2005; 201: 139-48.
- Wang G, Tschoi M, Spolski R, et al. *In vivo* antitumor activity of interleukin 21 mediated by natural killer cells. *Cancer Res* 2003; 63: 9016-22.
- Moroz A, Eppolito C, Li Q, et al. IL-21 enhances and sustains CD8⁺ T cell responses to achieve durable tumor immunity: Comparative evaluation of IL-2, IL-15, and IL-21. *J Immunol* 2004; 173: 900-9.
- Skak K, Kragh M, Haussman D, et al. Interleukin 21: combination strategies for cancer therapy. *Nat Rev Drug Discov* 2008; 7: 231-40.
- Roda JM, Joshi T, Butchar JP, et al. The activation of natural killer cell effector functions by cetuximab-coated, epidermal growth factor receptor positive tumor cells is enhanced by cytokines. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 6419-28.
- Gowda A, Roda J, Hussain SRA, et al. IL-21 mediates apoptosis through up-regulation of the BH3 family member BIM and enhances both direct and antibody-dependent cellular cytotoxicity in primary chronic lymphocytic leukemia cells *in vitro*. *Blood* 2008; 111: 4723-30.
- Akamatsu N, Yamada Y, Hasegawa H, et al. High IL-21 receptor expression and apoptosis induction by IL-21 in follicular lymphoma. *Cancer Lett* 2007; 256: 196-206.
- Sarosiek K, Chen J, Pham DG, et al. Interleukin-21-induced apoptosis and cell death of diffuse large-B cell lymphoma (DLBCL) cell lines and primary tumors are associated with an induction of Bim. *ASH Annual Meeting. Blood* 2006; 108 (suppl): 2503 (abstract).
- Marzec M, Halasa K, Kasprzycka M, et al. Differential effects of interleukin-2 and interleukin-15 versus interleukin-21 on CD4⁺ cutaneous T-cell lymphoma cells. *Cancer Res* 2008; 68: 1083-91.
- Yoon J, Newton S, Wysocka M, et al. IL-21 enhances antitumor responses without stimulating proliferation of malignant T cells of patients with Sézary syndrome. *J Invest Dermatol* 2008; 128: 473-80.
- Iannello A, Tremblay C, Routy J, et al. Decreased levels of circulating IL-21 in HIV-infected AIDS patients: Correlation with CD4⁺ T cell counts. *Viral Immunol* 2008; 21: 385-8.

NOUVELLE

Migration des cellules tumorales : GEF et GAP montrent le chemin

Gilles Gadéa

Équipe Pierre Roux, Centre de Recherche de Biochimie Macromoléculaire, CNRS UMR 5237, 1919, route de Mende, 34293 Montpellier Cedex 05, France. Gilles.Gadea@crbm.cnrs.fr

> Dans la plupart des cancers, la mortalité est essentiellement liée à la formation de métastases. Lors de ce processus, les cellules tumorales dont les fonctions prolifératives sont déjà alté-

rées, complètent leur potentiel malin par un accroissement de leur capacité migratoire. Cela permet leur dissémination et l'établissement de tumeurs secondaires au niveau de sites distants.

L'absence de stratégies thérapeutiques efficaces contre ce processus métastatique justifie l'effort de recherches et le besoin de découvertes dans ce domaine.

Dans l'organisme, les cellules sont en contact avec une matrice extracellulaire et évoluent dans un environnement en trois dimensions (3D). Les études récentes du processus de migration cellulaire à l'intérieur d'une matrice 3D (gels de collagène, matrices issues de cellules ou cultures associant plusieurs couches de cellules mimant la diversité d'un tissu) plus représentative de la réalité physiologique que les systèmes 2D classiques ont révolutionné la manière d'appréhender les mécanismes de motilité. Dans de tels environnements, la façon dont les cellules migrent et les morphologies qu'elles peuvent adopter sont complètement différentes de celles qu'elles adoptent lorsqu'elles sont cultivées sur les substrats bidimensionnels plats et rigides qui sont habituellement utilisés. Ainsi, en 3D, on distingue deux types de migration individuelle : la migration amiboïde et la migration de type mésenchymateux [1]. Ces deux phénotypes migratoires ont également été observés *in vivo* et plusieurs études ont révélé que les cellules pouvaient alterner ces deux modes de migration, en fonction notamment des conditions environnementales [1, 2]. Si les conditions envi-

ronnementales ne sont pas propices à l'un de ces modes de migration, certaines cellules cancéreuses opteront pour l'autre mode de migration afin de ne pas interrompre leur déplacement. Lorsque les cellules se déplacent selon le mode amiboïde, leur morphologie générale est celle d'une sphère dotée de protrusions membranaires globulaires extrêmement dynamiques. Dans ces conditions, les cellules semblent pouvoir migrer au travers de la MEC en s'affranchissant au moins partiellement de la dégradation protéique qui accompagne ce processus. *A contrario*, si les cellules choisissent une migration de type mésenchymateux, leur morphologie est allongée de type fibroblastique. Dans ce cas, la dégradation de la MEC est un prérequis pour que les cellules puissent la traverser.

Rho et Rac déterminent le mode amiboïde ou mésenchymateux de la migration

Or, morphologie et migration sont sous la dépendance du cytosquelette d'actine et de l'ensemble des molécules capables de le remanier, notamment les petites GTPases de la famille Rho [8, 9]. Ainsi, les deux modes de migration

dans une structure 3D sont déterminés par l'utilisation de voies de signalisation spécifiques et antagonistes. La migration amiboïde nécessite l'activation de la GTPase RhoA et de sa kinase effectrice ROCK, alors que la migration mésenchymateuse fait intervenir l'activation de la Rho GTPase Rac [3]. Une cellule est donc capable d'adapter sa morphologie et son type de migration aux contraintes imposées par le milieu extracellulaire en modifiant l'équilibre entre les voies de signalisation dépendantes soit de RhoA soit de Rac. Bien que les contributions de RhoA et Rac soient clairement définies, les mécanismes permettant la régulation de leur activité respective restent mal documentés. La régulation de l'activité des Rho GTPases est sous le contrôle essentiellement de deux grandes familles de protéines : les GEF (*guanine nucleotide exchange factors*) qui facilitent l'échange du GDP (*guanosine-5'-diphosphate*) par le GTP (*guanosine-5'-triphosphate*) et contrôlent ainsi l'activation des GTPases, et les GAP (*GTPases accelerating protein*) qui catalysent la réaction d'hydrolyse du GTP conduisant à l'inactivation des

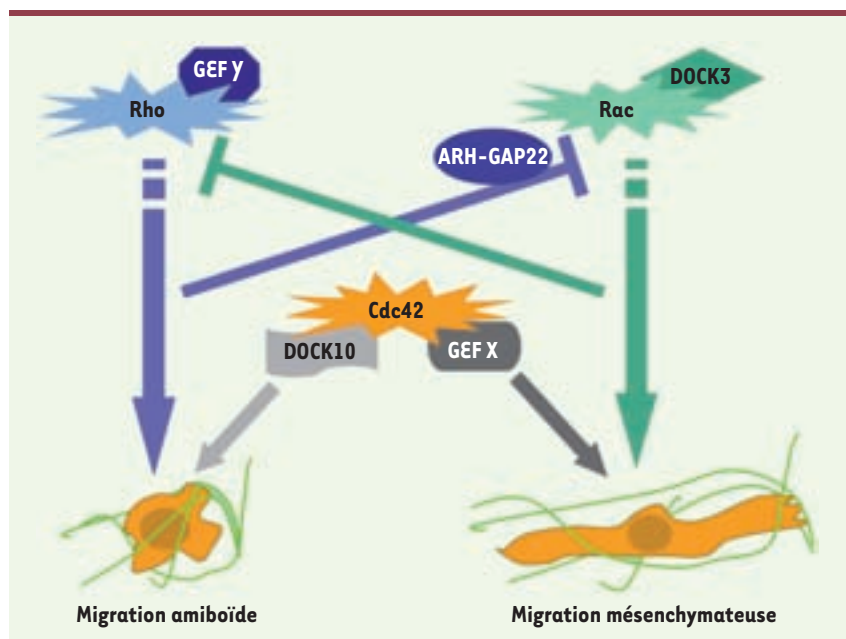


Figure 1. Stratégies de mise en place des différents modes de migration tridimensionnelle. Deux modes de migration antagonistes ont été décrits dans un environnement tridimensionnel : la migration amiboïde et la migration mésenchymateuse. L'établissement de la migration amiboïde résulte soit de l'activation de la GTPase RhoA par un GEF Y dont l'identité reste à déterminer soit de l'activation de la GTPase Cdc42 par son facteur d'échange DOCK10. Par ailleurs, la migration mésenchymateuse fait intervenir l'activation de la GTPase Rac par son facteur d'échange DOCK3 ou bien encore la GTPase Cdc42 sous le contrôle d'un GEF X différent de celui qui est engagé dans la migration amiboïde et qui reste également à identifier. De plus, l'activation de RhoA ou de Rac conduit à l'inhibition de la voie

antagoniste, notamment par l'activation de GAP, ARH-GAP22 dans le cas de la migration mésenchymateuse. En revanche, Cdc42 se trouve à une place centrale qui lui permet selon le jeu des GEF (DOCK10 ou X) de sélectionner l'un des deux types de migration.



GTPases [4, 5]. Il existe seulement une vingtaine de Rho GTPases, mais leurs régulateurs sont, eux, bien plus nombreux : environ 80 GEF et 70 GAP. Une même Rho GTPase peut donc interagir avec différentes protéines régulatrices, et c'est donc GEF et GAP qui assurent ainsi sélectivité et spécificité signalétiques.

GEF et GAP

sont les vrais « sélectionneurs »

Dans ce contexte, une découverte majeure dans la compréhension de la migration cellulaire a récemment été faite dans le laboratoire du Pr Christopher Marshall à Londres. Le Dr Victoria Sanz-Moreno et ses collègues ont identifié un niveau supplémentaire de complexité dans la régulation des Rho GTPases et la détermination du mode de migration adopté par les cellules tumorales [6]. En illustrant l'importance jouée par les GEF et les GAP dans un modèle de mélanome humain, les travaux du Dr Victoria Sanz-Moreno ont permis d'établir les bases moléculaires des mécanismes de plasticité cellulaire et ainsi d'expliquer comment la cellule peut choisir un mode de migration particulier. En effet, l'activation spécifique de Rac par son facteur d'échange DOCK3 en aval de NEDD9 (*neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 9*), reconnu pour son rôle dans la formation des métastases, favorise la mise en place d'une migration mésenchymateuse. L'activation consécutive de WAVE2, molécule impliquée dans la polymérisation de l'actine et membre de la famille des protéines WASP (*Wiskott-Aldrich syndrome protein*) a pour conséquence d'inactiver la voie de signalisation RhoA. Dans ces conditions, la cellule tumorale se retrouve dans l'incapacité de générer un mouvement de type amiboïde. À l'inverse, l'activation de la voie de signalisation RhoA-ROCK conduit à l'activation d'un régulateur négatif de l'activité de Rac : la GAP ARH-GAP22 (*Rho GTPase activa-*

ting protein 22) et donc à l'inhibition de la migration mésenchymateuse. Ainsi, sous l'impulsion de diverses stimulations notamment environnementales, le jeu coordonné des GEF et des GAP va permettre l'activation exclusive de Rho ou de Rac et la mise en place d'une voie de signalisation spécifique entraînant obligatoirement l'inhibition de la voie antagoniste.

Un troisième larron : la Rho GTPase Cdc42

Nous avons également démontré pour la première fois l'importance pour la migration 3D d'une troisième Rho GTPase : Cdc42 (*cell division cycle 42*). Cette dernière est remarquable parce qu'elle est impliquée dans les deux types de migration [7]. La hiérarchie des événements est la suivante : le facteur d'échange DOCK10 va déclencher l'activation de Cdc42 ainsi qu'une cascade réactionnelle impliquant notamment les molécules effectrices PAK2 (*p21 protein (Cdc42/Rac)-activated kinase 2*) et N-WASP (*neural Wiskott-Aldrich syndrome protein*). L'association du GEF de Cdc42 DOCK10 avec ses effecteurs PAK2 et N-WASP constitue un module favorable à la mise en place de la migration amiboïde. En complément, nos travaux démontrent également que, sous l'impulsion de facteurs d'échange encore inconnus, Cdc42 est aussi impliquée dans la migration de type mésenchymateux, rôle qui était jusqu'alors l'apanage de Rac. L'identification de la voie de signalisation DOCK10-Cdc42-N-WASP/Pak2 comme une composante majeure de la migration tumorale amiboïde est une découverte primordiale. Cette voie est en effet utilisée par les cellules invasives pour produire des mouvements amiboïdes, rôle dévolu jusqu'à maintenant à la seule voie RhoA/ROCK. Ainsi, de façon schématique, les cellules peuvent utiliser deux stratégies différentes pour décider de leur mode de migration. La première repose sur le choix de la GTPase : Rac pour la migration mésenchymateuse ou

RhoA pour la migration amiboïde. Dans la seconde, une même GTPase, Cdc42, est en cause, et c'est l'activateur qui diffère, et qui va être responsable de la spécification du type de migration utilisé (*Figure 1*).

Conclusion

Comme l'illustrent ces travaux sur la signalisation des petites GTPases de la famille Rho au cours des mécanismes de migration et d'invasion, le rôle joué par les GEF et les GAP est d'une importance capitale car ces adaptateurs déterminent la sélectivité et la spécificité de la migration. Les GEF et GAP véhiculent ainsi un fort potentiel thérapeutique [8]. Envisager leur inhibition spécifique permettrait de limiter la diffusion du signal et les effets secondaires ainsi que la mise en place d'une thérapie anti-métastatique enfin efficace. ♦

Metastatic migration : GEF and GAP show the way

RÉFÉRENCES

1. Wolf K, Mazo I, Leung H, et al. Compensation mechanism in tumor cell migration: mesenchymal-amoeboid transition after blocking of pericellular proteolysis. *J Cell Biol* 2003 ; 160 : 267-77.
2. De Wever O, Nguyen QD, Van Hoorde L, et al. Tenascin-C and SF/HGF produced by myofibroblasts in vitro provide convergent pro-invasive signals to human colon cancer cells through RhoA and Rac. *FASEB J* 2004 ; 18 : 1016-8.
3. Sahai E, Marshall CJ. Differing modes of tumour cell invasion have distinct requirements for Rho/ROCK signalling and extracellular proteolysis. *Nat Cell Biol* 2003 ; 5 : 711-9.
4. Rossman KL, Der CJ, Sondek J. GEF means go: turning on RHO GTPases with guanine nucleotide-exchange factors. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005 ; 6 : 167-80.
5. Peck J, Douglas G 4th, Wu CH, Burbelo PD. Human RhoGAP domain-containing proteins: structure, function and evolutionary relationships. *FEBS Lett* 2002 ; 528 : 27-34.
6. Sanz-Moreno V, Gadea G, Ahn J, et al. Rac activation and inactivation control plasticity of tumor cell movement. *Cell* 2008 ; 135 : 510-23.
7. Gadea G, Sanz-Moreno V, Self A, et al. DOCK10-mediated Cdc42 activation is necessary for amoeboid invasion of melanoma cells. *Curr Biol* 2008 ; 18 : 1456-65.
8. Renault L, Guibert B, Cherfils J. Structural snapshots of the mechanism and inhibition of a guanine nucleotide exchange factor. *Nature* 2003 ; 426 : 525-30.
9. Ménager C, Kaibuchi K. Les protéines Rho : leur rôle dans les neurones. *Med Sci (Paris)* 2003 ; 19 : 358-63.
10. Primeau M, Lamarche-Vane N. Coup d'œil sur les petites GTPases Rho. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 157-62.