

La sphingosine 1-phosphate, un nouveau régulateur de la mitose

Olivier Cuvillier, Anastassia Hatzoglou

Institut de pharmacologie et de biologie structurale, université de Toulouse, CNRS, UPS, 205 route de Narbonne, 31077 Toulouse, France.

olivier.cuvillier@inserm.fr

> La sphingosine 1-phosphate (S1P) est un lipide présent dans une grande diversité d'organismes et qui régule de nombreux processus biologiques [1]. La S1P est issue de la conversion de la sphingosine par les deux isoformes de la sphingosine kinase (SphK1 et SphK2) et, de manière générale, son rôle est opposé à celui de son précurseur, un médiateur de l'arrêt du cycle cellulaire et de l'apoptose [2]. La voie de signalisation de la S1P est fréquemment dérégulée dans le cancer avec une quantité accrue de S1P, conséquence d'une production augmentée et/ou d'une dégradation réduite [3]. Dans ce contexte, la S1P est impliquée dans la prolifération, la survie, l'invasion et la migration des cellules tumorales ainsi que dans la résistance thérapeutique. Elle participe également aux processus inflammatoires ou angiogéniques associés aux tumeurs [4] (→).

(→) Voir la Nouvelle de O. Cuvillier, *m/s* n° 11, novembre 2015, page 964

Cette voie de signalisation représente donc une cible potentielle dans le traitement du cancer [5]. La S1P exerce principalement ses effets biologiques en se liant à l'un des cinq récepteurs S1P₁₋₅ de type RCPG (récepteur couplé aux G-protéines) pour induire une cascade de signalisation paracrine ou autocrine. Ces récepteurs sont exprimés de façon différentielle d'un type cellulaire à l'autre, et selon le contexte physio-pathologique, œuvrant en synergie ou en antagonisme. L'effet biologique observé en réponse à la S1P résulte de l'ensemble de ces actions [6] (→).

(→) Voir la Synthèse de O. Cuvillier, *m/s* n° 11, novembre 2012, page 951

Alternativement, une signalisation intracellulaire existe, mais les cibles de la S1P sont encore mal définies et même controversées en raison des difficultés techniques inhérentes à l'étude des interactions protéine-lipide et à l'absence d'évidence génétique ou structurale.

La division cellulaire, ou mitose des cellules somatiques, est l'ensemble des événements de séparation du génome (caryodière) et du corps cellulaire (cytocinèse) permettant la formation des deux cellules filles génétiquement identiques. Au cours de la prométaphase, le fuseau mitotique capture les chromosomes au niveau de leurs centromères/kinétochores afin de les aligner sur la plaque métaphasique. Pour que la ségrégation du matériel génétique soit équitable, chaque chromosome doit établir des connections stables avec les deux pôles du fuseau mitotique en générant un accrochage dit amphitélique. Le point de contrôle du fuseau (*spindle assembly checkpoint* ou SAC) prévient la séparation des chromatides sœurs tant que tous les chromosomes ne sont pas correctement attachés et alignés. Lorsque tous les chromosomes sont reliés aux deux pôles du fuseau mitotique, le SAC devient inactif et la transition de la métaphase vers l'anaphase est amorcée. L'ensemble de ces mécanismes prévient ainsi les erreurs de ségrégation des chromosomes et la génération d'aneuploidie, c'est-à-dire l'altération du nombre de chromosomes par cellule. À l'instar de l'instabilité chromosomique, l'aneuploidie est reconnue comme une caractéristique

de la plupart des cellules cancéreuses, contribuant à l'initiation et la progression du cancer [7].

Bien que l'effet prolifératif de la S1P ait été rapporté dans pléthore de modèles cellulaires, son rôle dans la régulation du cycle cellulaire et les mécanismes moléculaires sous-jacents associés sont mal compris. Des études ont suggéré un rôle des kinases SphK1 et SphK2 dans la progression de la phase G1 vers S [8]. Quelques travaux proposent un rôle pour la voie SphK1/S1P dans la mitose. L'accumulation de la sphingosine inactiverait la *cyclin-dependent kinase 1* (CDK1), une kinase qui s'associe avec la cycline B pour former un complexe contrôlant la transition de la phase G2 vers M et le déroulement de la mitose [9]. L'inhibition de la SphK1 dans un modèle cellulaire de cancer du sein augmente le contenu en ADN, suggérant un défaut de cytocinèse [10]. Collectivement, ces observations suggèrent que la voie de signalisation SphK1/S1P pourrait réguler la division cellulaire.

Nous avons récemment identifié une nouvelle fonction de la signalisation dépendante de la S1P au cours de la mitose [11]. Nous avons observé que la déplétion de la SphK1 causait un arrêt en prométaphase. Inversement, sa surexpression ou son activation induisait une accélération de la mitose. L'inhibition pharmacologique de la SphK1 conduit à un retard dans l'avancée de la mitose similaire à celui observé lors de la déplétion de la SphK1. Ces données suggèrent que la fonction mitotique de la SphK1 dépend de son activité enzymatique et donc de son produit, la S1P.

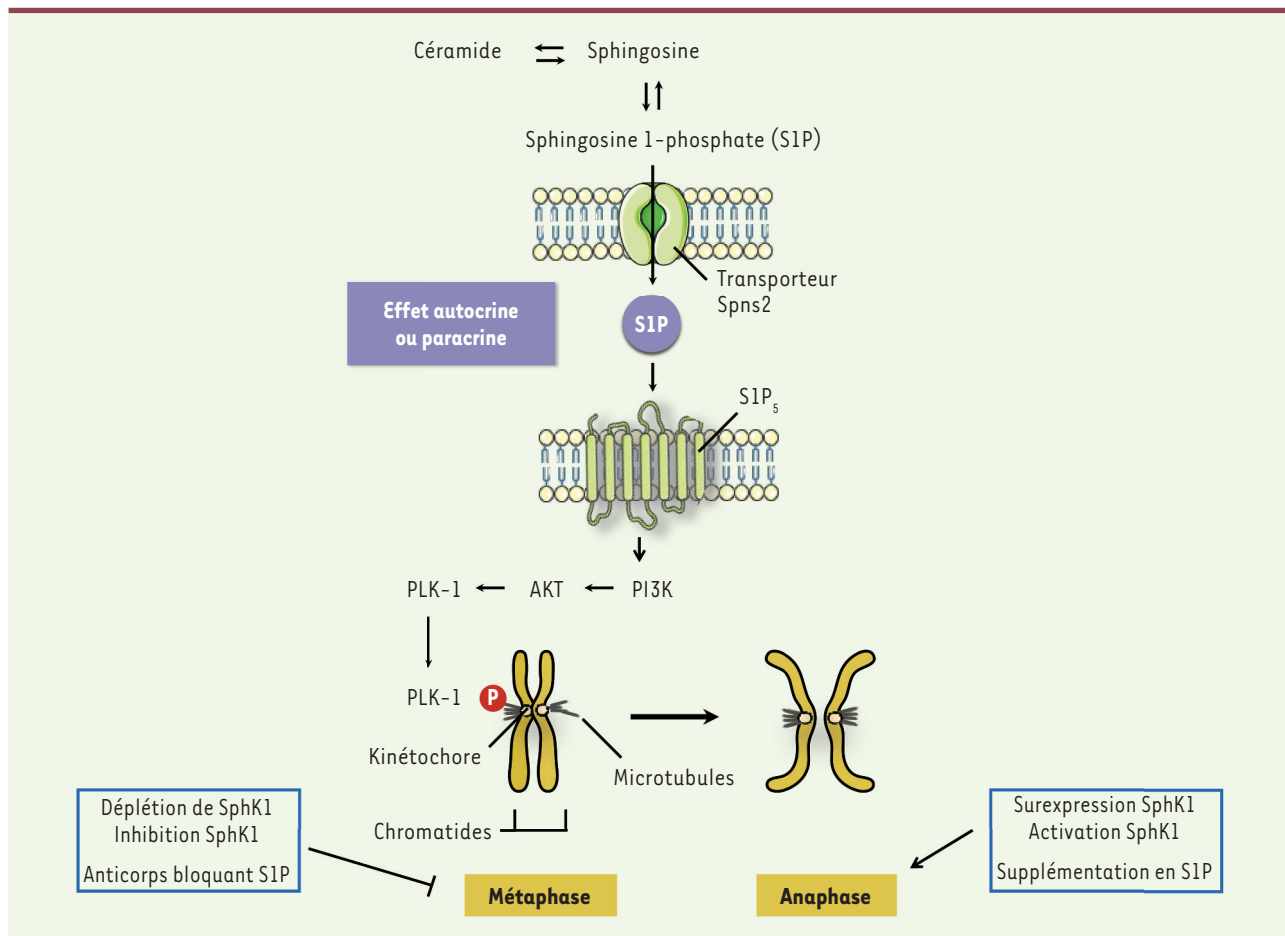


Figure 1. Schématisation des voies de sécrétion de S1P et de son action en mitose. La sphingosine 1-phosphate (S1P) est sécrétée grâce au transporteur Spns2, elle interagit avec S1P₅, un récepteur lié aux G-protéines qui relaye ses actions. La S1P accélère le déroulement de la mitose et plus particulièrement le déclenchement de l'anaphase. Son action met en jeu la voie PI3K/Akt/Plk1 (*phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B/polo-like kinase 1*) et nécessite la phosphorylation de Plk1 par Akt sur sa Sérine 99.

L'utilisation d'un anticorps neutralisant la S1P [12] dans le milieu extracellulaire nous a permis de démontrer que la S1P impactait le déroulement de la mitose de manière autocrine et paracrine. En effet, l'anticorps neutralisant dirigé contre la S1P bloque l'accélération de la mitose induite par l'ajout de S1P dans le milieu ou la surexpression ectopique de la SphK1, dans les modèles cellulaires. Par ailleurs, la déplétion du transporteur membranaire de S1P, Spns2 (*spinter homolog 2*), bloque la sécrétion de S1P et conduit à un retard dans la mitose. Enfin, dans des cellules humaines HeLa, l'anticorps anti-S1P bloque les perturbations mitotiques induites par l'ajout de milieu conditionné riche en S1P,

sécrété par des cellules tumorales prostatiques.

Comme mentionné en introduction, la signalisation extracellulaire de la S1P est relayée par la liaison à l'un des cinq récepteurs (S1P₁₋₅). Par des approches de délétion ou d'inhibition pharmacologique, nous avons identifié le récepteur S1P₅ comme la cible centrale de l'effet de la S1P sur la mitose. En accord avec ces résultats, le déroulement de la mitose n'est pas affecté par la S1P dans des fibroblastes embryonnaires de souris (*mouse embryonic fibroblast*, MEF) issus de souris invalidées pour le gène *s1p5*. Nous avons pu établir que la signalisation dépendante du S1P₅ impliquait la voie PI3K/Akt/Plk1 (*phosphatidylinosi-*

tol-3-kinase/protein kinase B/polo-like kinase 1). La kinase mitotique Plk1 a récemment été identifiée comme une cible directe de la kinase Akt et sa phosphorylation sur la sérine 99 (Ser99), au voisinage du kinétochore, est requise pour une progression normale de la métaphase vers l'anaphase. [13]. L'utilisation d'un système d'expression inducible par la tétracycline (*Tet-On*) pour générer des lignées HeLa exprimant une protéine PIK1 non-phosphorylable sur sa Ser99, nous a permis de démontrer que l'effet mitotique de la S1P nécessitait cette phosphorylation de la kinase Plk1. Cette étude met en évidence un rôle insoupçonné de la signalisation de la S1P et du récepteur S1P₅ dans le

contrôle de la mitose. Comme récemment démontré avec la voie EGF/EGFR (*epidermal growth factor/receptor*) [14], ces travaux mettent en exergue le rôle du microenvironnement cellulaire dans la coordination de la mitose. De fait, un milieu extracellulaire enrichi en S1P pourrait accélérer la mitose et conduire à des défauts de ségrégation chromosomique (Figure 1), pouvant favoriser l'aneuploïdie. Il sera important d'analyser dans le futur les conséquences d'une ségrégation incorrecte des chromosomes induite par la S1P et d'évaluer le potentiel ciblage thérapeutique de cette voie de signalisation pour inhiber la prolifération tumorale. ♦

Sphingosine 1-phosphate as a new regulator of mitosis

REMERCIEMENTS

Ces travaux ont été soutenus par La Ligue Nationale Contre le Cancer (Comité 31).

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Leong WL, Saba JD. S1P metabolism in cancer and other pathological conditions. *Biochimie* 2010 ; 92 : 716-23.
2. Cuvillier O. Sphingosine in apoptosis signaling. *Biochim Biophys Acta* 2002 ; 1585 : 153-62.
3. Brizuela L, Ader I, Mazerolles C, et al. First evidence of sphingosine 1-phosphate lyase protein expression and activity downregulation in human neoplasm: implication for resistance to therapeutics in prostate cancer. *Mol Cancer Ther* 2012 ; 11 : 1841-51.
4. Cuvillier O. SphingomabTM, un anticorps anti-sphingosine 1-phosphate pour inhiber l'hypoxie. *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 : 964-7.
5. Cuvillier O. Downregulating sphingosine kinase-1 for cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets* 2008 ; 12 : 1009-20.
6. Cuvillier O. Récepteurs sphingosine 1-phosphate : de la biologie à la physiopathologie. *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 951-7.
7. Torres EM, Williams BR, Amon A. Aneuploidy: cells losing their balance. *Genetics* 2008 ; 179 : 737-46.
8. Igarashi N, Okada T, Hayashi S, et al. Sphingosine kinase 2 is a nuclear protein and inhibits DNA synthesis. *J Biol Chem* 2003 ; 278 : 46832-9.
9. Kim DS, Kim SY, Kleuser B, et al. Sphingosine-1-phosphate inhibits human keratinocyte proliferation via Akt/protein kinase B inactivation. *Cell Signal* 2004 ; 16 : 89-95.
10. Kotelevets N, Fabbro D, Huwiler A, Zangemeister-Wittke U. Targeting sphingosine kinase 1 in carcinoma cells decreases proliferation and survival by compromising PKC activity and cytokinesis. *PLoS One* 2012 ; 7 : e39209.
11. Andrieu G, Ledoux A, Branka S, et al. Sphingosine 1-phosphate signaling through its receptor S1P5 promotes chromosome segregation and mitotic progression. *Sci Signal* 2017 ; 10.
12. Brizuela L, Martin C, Jeannot P, et al. Osteoblast-derived sphingosine 1-phosphate to induce proliferation and confer resistance to therapeutics to bone metastasis-derived prostate cancer cells. *Mol Oncol* 2014 ; 8 : 1181-95.
13. Kasahara K, Goto H, Izawa I, et al. PI 3-kinase-dependent phosphorylation of Plk1-Ser99 promotes association with 14-3-3gamma and is required for metaphase-anaphase transition. *Nat Commun* 2013 ; 4 : 1882.
14. Mardin BR, Isokane M, Cosenza MR, et al. EGF-induced centrosome separation promotes mitotic progression and cell survival. *Dev Cell* 2013 ; 25 : 229-40.

NOUVELLE

Vésicules extracellulaires stromales et régulation des cellules souches et progéniteurs hématopoïétiques

Grégoire Stik^{1,2}, Laurence Petit¹, Pierre Charbord¹, Thierry Jaffredo¹, Charles Durand¹

¹Sorbonne université, UPMC université Paris 06, institut de biologie Paris-Seine (IBPS), CNRS UMR7622, Inserm U1156, laboratoire de biologie du développement, 9, quai Saint-Bernard, 75005 Paris, France.

²Adresse actuelle : CRG, PRBB, 08003, Barcelona, Espagne. charles.durand@upmc.fr

> Les cellules souches hématopoïétiques (CSH), localisées chez l'adulte dans la moelle osseuse, sont responsables du renouvellement continu des différentes populations de cellules sanguines. Les CSH sont intimement régulées par des cellules stromales qui constituent un microenvironnement (ou niche) essentiel à leur survie et leur auto-renouvellement. Actuellement, la caractérisation cellulaire de la niche médullaire des CSH fait l'objet d'intenses investigations. Sur

le plan moléculaire, le dialogue entre CSH et cellules de leur microenvironnement met notamment en jeu des molécules de signalisation (facteurs de croissance, cytokines, chimiokines et morphogènes) et des molécules d'adhérence cellulaire et de remodelage par synthèse et dégradation de la matrice extracellulaire. Comprendre la complexité du dialogue entre les CSH et leur niche représente donc un enjeu essentiel dans le domaine de la biologie des cellules souches et de

la médecine régénératrice compte tenu des applications importantes en thérapie cellulaire.

Les CSH et leur microenvironnement

L'élément cellulaire clé de la niche médullaire est la cellule stromale mésenchymateuse (CSM) qui établit avec les CSH une interface privilégiée au sein de la moelle osseuse. Ainsi, les CSM positives pour la nestine (nestine⁺), capables de s'auto-renouveler et de