

## **L'arabinoxylane modifié au son de riz, le MGN-3/ImunoBran, sensibilise les cellules métastatiques du carcinome du sein au paclitaxel *in vitro***

MAMDOOH GHONEUM<sup>1</sup>, NARIMAN K. BADR EL-DIN<sup>2</sup>, DOAA A. ALI<sup>2</sup> et MAI ALAA EL-DEIN<sup>2</sup>

*1*Chaire d'otorhinolaryngologie, Université Drew de Médecine et des Sciences, Los Angeles, CA, U.S.A.;

*2*Chaire de zoologie, Faculté des sciences naturelles, Université de Mansoura, Mansoura, Égypte

## **L'arabinoxylane modifié au son de riz, le MGN-3/ImunoBran, sensibilise les cellules métastatiques du carcinome du sein au paclitaxel *in vitro***

MAMDOOH GHONEUM1, NARIMAN K. BADR EL-DIN2, DOAA A. ALI2 et MAI ALAA EL-DEIN2

*1Chaire d'otorhinolaryngologie, Université Drew de Médecine et des Sciences, Los Angeles, CA, U.S.A.;*

*2Chaire de zoologie, Faculté des sciences naturelles, Université de Mansoura, Mansoura, Égypte*

**Extrait - Arrière-plan :** Il existe un intérêt grandissant pour les méthodes alternatives de traitement visant la réduction de la toxicité de la chimiothérapie par la diminution de la concentration des agents chimio thérapeutiques tout en conservant l'intensité actuelle des effets de ces derniers sur les cellules cancéreuses. Les études précédentes ont démontré que l'arabinoxylane de son de riz, le MGN-3/ImunoBran, sensibilisait les cellules tumorales mammaires humaines (BCC) à la daunorubicine (DNR). Dans l'étude présente, nous avons fait l'évaluation de la capacité du produit MGN-3 à sensibiliser les cellules à d'autres types d'agents chimiothérapeutiques. **Matériel et méthodes :** cellules non métastatiques MCF-7 (BCC humaines) et cellules métastatiques 4T1 (BCC de souris) ont été cultivées avec diverses concentrations de paclitaxel en présence et en absence de MGN-3. On a examiné la survie des cellules, l'endommagement de l'ADN et la prolifération des cellules. **Résultats :** le MGN-3 a augmenté la sensibilité des deux types de cellules cancéreuses au paclitaxel de plus de 100 fois. Du point de vue mécanique, le MGN-3 fonctionne de manière synergique avec le paclitaxel : il endommage l'ADN, améliore l'apoptose et inhibe la prolifération des cellules AT1. **Conclusion :** nos données prouvent que le MGN-3 est un sensibilisateur chimique efficace et peut représenter un complément nouveau du traitement du cancer métastaté du sein.

Cet article est accessible librement on-line.

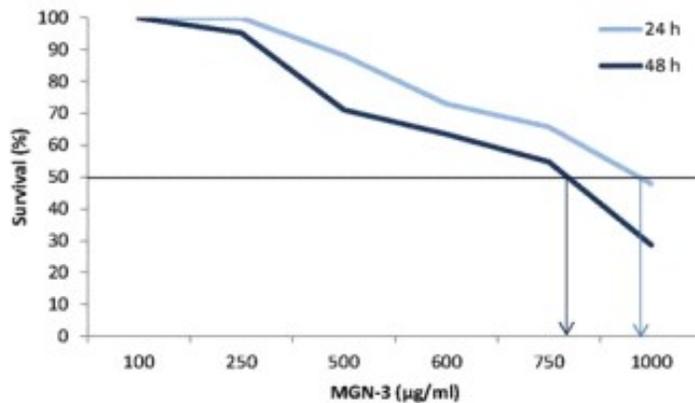
**Correspondance :** MamdoohGhoneum, Ph.D., Département d'Otholaryngologie, Université Drew de Médecine et des Sciences, Los Angeles, CA, Etats-Unis. Téléphone : +1 3104746724, Télécopie : +1 3235635953, Courriel : mghoneum@ucla.edu  
**Mots-clés :** MGN-3, ImunoBran, MTT, 4T1, MCF-7, paclitaxel.

Le cancer demeure la cause principale des décès dans le monde et coûte la vie de plus de six millions de personnes chaque année. La chimiothérapie est considérée comme la base de traitement de plusieurs types de cancer. De nombreux agents chimio thérapeutiques font preuve de toxicités qui en limitent le dosage (1-5). C'est pourquoi il existe un intérêt grandissant quant à trouver des substances qui pourraient augmenter la sensibilité des cellules cancéreuses aux agents chimio thérapeutiques conventionnels, réduisant ainsi leur effet toxique sur le reste de l'organisme (6-9). Les études antérieures effectuées dans notre laboratoire ont démontré que l'arabinoxylane obtenu à partir du son de riz, le MGN-3/ImunoBran, sensibilisait les cellules humaines leucémiques de la ligne HUT 78 à l'apoptose provoquée par les anticorps CD95 (10) et sensibilisait les cellules humaines tumorales mammaires (BCC) à la daunorubicine *in vitro* (11). D'autres études ont dévoilé l'effet synergique du MGN-3 avec la chimio embolisation transartérielle chez les patients souffrant de carcinome hépatocellulaire (12). Dans l'étude présente, nous examinons par ailleurs les capacités de chimio sensibilisation du produit MGN-3 à un autre des agents chimio thérapeutiques – le paclitaxel, connu couramment sous le nom de taxol.

Beaucoup de produits fabriqués à partir du son de riz ont été étudiés pour leur rôle d'agent anticancéreux, y compris le polysaccharide RBS (13), la particule de lipoprotéine (14), et l'agglutinine (RBA) (15). Par ailleurs, il a été démontré dans une étude précédente que le riz (*oryza sativa*) inhibait la croissance des cellules leucémiques humaines U937, et ce par l'intermédiaire de l'activation des cellules mononucléaires du sang périphérique (16). Le MGN-3 est un produit naturel obtenu en faisant réagir l'hémicellulose du son de riz avec plusieurs enzymes qui hydrolysent les hydrates de carbone du champignon Shiitaké. Le composant chimique principal du MGN-3 est l'arabinoxylane possédant un xylose dans sa chaîne principale et un polymère d'arabinase dans sa chaîne voisine (17). Dans d'autres études nous avons prouvé que le MGN-3 était un modificateur potentiel de la réaction biologique chez les hommes au moyen de l'activation des tueurs naturels, les cellules tueuses (NK) (18-20). Ce produit active aussi les cellules humaines dendritiques (21, 22), améliore la prolifération des cellules T et B (17) et intensifie la fonction phagocytaire des macrophages (23). Par ailleurs, d'autres études ont mis en évidence le fait que l'administration du MGN-3 aux souris cancéreuses avait pour conséquence une réduction importante du volume des tumeurs (24). Sur la base de nos découvertes antérieures nous avons lancé la réalisation de cette étude-ci qui se donne pour objectif d'examiner la faculté de chimio sensibilisation du MGN-3 à un autre des agents chimio thérapeutiques, le paclitaxel, dans les cellules tumorales métastatiques mammaires en vue d'éclaircir son mode de fonctionnement.

### **Matériel et méthodes**

**Médicaments et substances chimiques :** le paclitaxel a été acheté chez la société Sigma-Aldrich, Inc. (St. Louis, MO, USA). Le RPMI-1640 complété par 10% de sérum foetal bovin (FCS), (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium) (MTT) provient de chez Sigma-Aldrich.



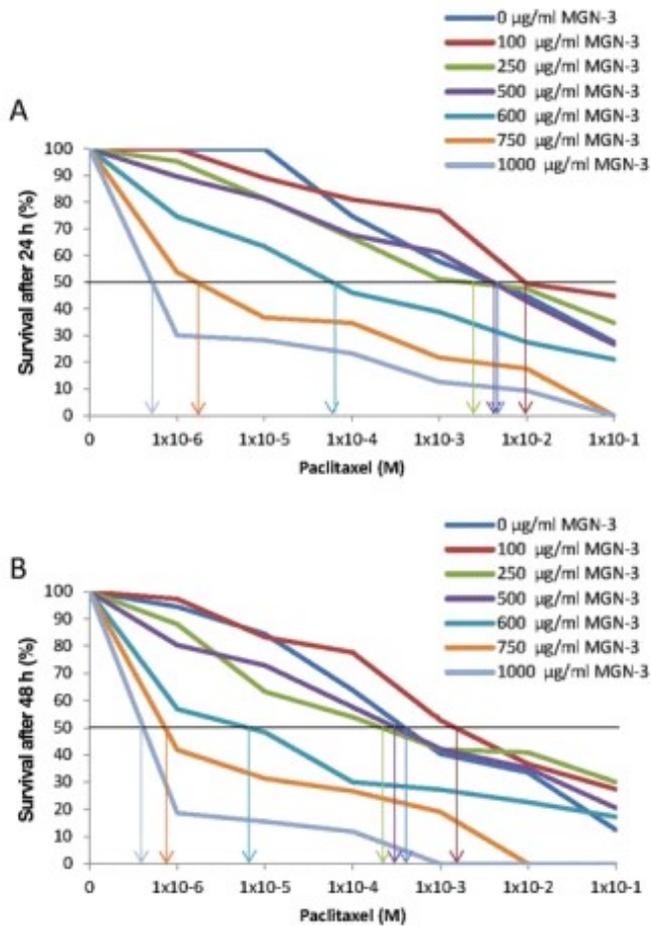
**Figure n°1-** Le MGN-3 à lui seul réduit le taux de survie des cellules MCF-7 : Avec la méthode du test MTT, les cellules MCF-7 ont été mises en incubation avec du MGN-3 (100-1000 µg/ml) pendant 24 et 48 heures. La concentration inhibitrice médiane maximale (IC<sub>50</sub>) est indiquée par des flèches.

Le MGN-3 a été fourni par la société Daiwa Pharmaceutical Co. Ltd. (Tokyo, Japon) et dissous dans un milieu complet (CM) de concentration 30 mg / ml.

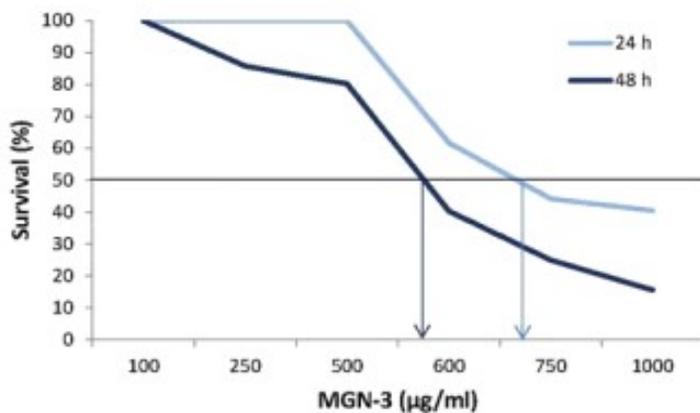
*Lignes cellulaires cancéreuses et conditions de culture:* dans cette étude on a utilisé la lignée humaine de cellules tumorales mammaires MCF-7 et la lignée murine de cellules tumorales mammaires 4T1 avec métastases pulmonaires. Les cellules ont été achetées auprès de l'American Tissue and Culture Collection (ATCC; Manassas, VA, Etats-Unis). Les cellules cancéreuses ont été maintenues dans notre laboratoire dans un milieu complet (CM) composé de RPMI-1640, complété de 10% FCS, de 2 mM de glutamine et de 100 µg/ml de streptomycine et de pénicilline.

*Influence de la chimiothérapie et du produit MGN-3 sur la croissance des cellules tumorales mammaires :* test de sensibilité au médicament. La sensibilité au médicament a été définie au moyen du test colorimétrique au MTT. Des cellules cancéreuses (au nombre de  $1 \times 10^4$  /trou) ont été mises sur des plaques de 96 trous et cultivées en triplicat en présence et absence de différentes concentrations de MGN-3 (100-1000 mg/ml), et en présence et en absence de concentrations sélectionnées de paclitaxel (de  $1 \times 10^{-1}$  à  $1 \times 10^{-6}$  M). Le volume final du milieu dans chaque trou après addition de MGN-3 ou de paclitaxel était de 200 µl. Les cultures ont été incubées à 37°C sur une durée de 24 et 48 heures après laquelle on a ajouté 50 mg de MTT dans chaque trou, les cultures incubant ensuite pendant 4 autres heures. Les plaques ont été ensuite mises en centrifuge, le médium a été enlevé avec précaution, les cristaux de formazan solubilisés avec de l'alcool acide et la valeur lue à l'aide du lecteur de plaques ELISA (Molecular Devices, Menlo Park, CA, Etats-Unis) était de 590 nm. La concentration inhibitrice médiane (IC<sub>50</sub>) a été établie comme étant la concentration de médicament conduisant à une réduction de 50% de la durée de vie des cellules. L'IC<sub>50</sub> a été définie d'après l'évaluation du logarithme de concentration du médicament *par rapport* au taux de survie des cellules traitées.

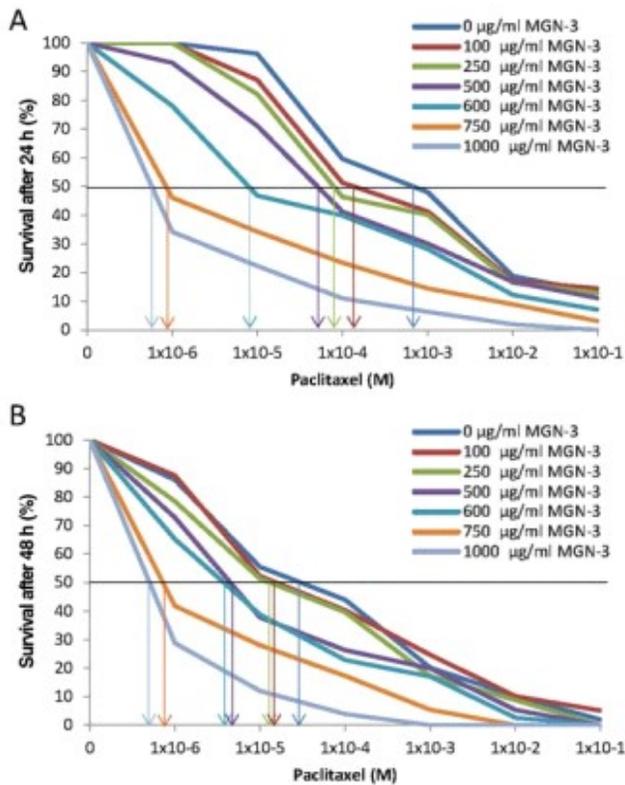
*Méthode d'exclusion du bleu Trypan :* différentes concentrations de MGN-3, de paclitaxel, et de combinaison de MGN-3 et paclitaxel en triplicat ont été ajoutées dans des tubes à essai stériles aux cellules et substances chimiques. Les cellules ont été mises en incubation pendant 24 et 48 heures à une température de 37°C en atmosphère humidifiée de 5% de CO<sub>2</sub> en milieu stérile. Les cellules viables ont été comptées par l'exclusion du bleu Trypan à l'aide d'un hémocytomètre. On a ensuite obtenu le pourcentage de cellules vivantes en divisant le nombre de cellules viables par le nombre total de cellules. Toutes les expériences ont été répétées en trois exemplaires.



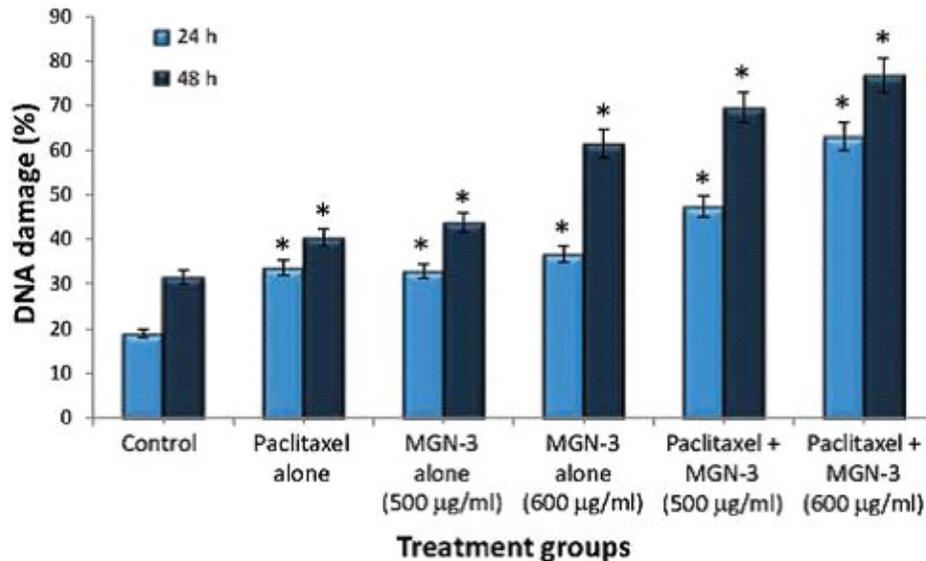
**Figure n°2** - La culture commune de paclitaxel et de MGN-3 a sensibilisé les cellules MCF-7 au paclitaxel, ce qui a eu pour conséquence une réduction encore plus importante de la survie des cellules. Les cellules MCF-7 ont été cultivées conjointement avec différentes concentrations de MGN-3 et de paclitaxel sur une durée de 24 heures (A) et e 48 heures (B). La concentration inhibitrice médiane maximale (IC<sub>50</sub>) est indiquée par des flèches pour chaque combinaison.



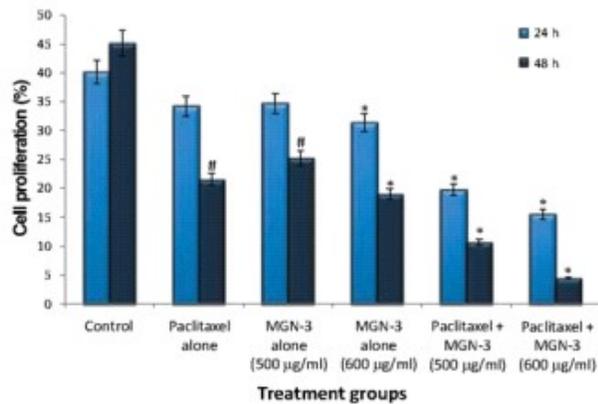
**Figure n°3** - Le MGN-3 à lui seul réduit le taux de survie des cellules 4T1 : avec la méthode du test MTT, les cellules 4T1 ont été mises en incubation avec du MGN-3 (100-1000 µg/ml) pendant 24 et 48 heures. La concentration inhibitrice médiane maximale (IC<sub>50</sub>) est indiquée par des flèches.



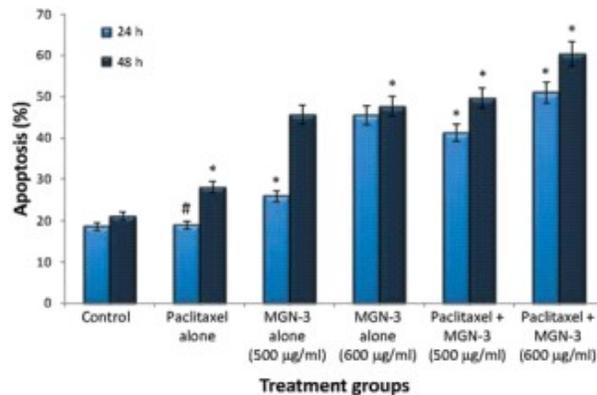
**Figure n°4 :** La culture commune de paclitaxel et de MGN-3 a sensibilisé les cellules 4T1 au paclitaxel, ce qui a eu pour conséquence une réduction encore plus importante de la survie des cellules. Les cellules 4T1 ont été cultivées conjointement avec différentes concentrations de MGN-3 et de paclitaxel sur une durée de 24 heures (A) et de 48 heures (B). La concentration inhibitrice médiane maximale (IC<sub>50</sub>) est indiquée par des flèches pour chaque combinaison.



**Figure n°5 -** Endommagement d'ADN des cellules 4T1 : l'effet du paclitaxel ( $1 \times 10^{-3}$  M), du MGN-3 (500 et 600 μg/ml) et de la combinaison de paclitaxel et de MGN-3 sur l'endommagement de l'ADN des cellules 4T1 a été examiné. L'endommagement d'ADN a été établi au moyen de la cytométrie en flux. Les données représentent la valeur moyenne  $\pm$ SD des expériences réalisées en triplicat. \* $p < 0,01$  comparativement au groupe de contrôle de cellules 4T1 non traitées.



**Figure n°6 :** Prolifération des cellules 4T1. L'effet du paclitaxel seul ( $1 \times 10^{-3}$  M), et combiné avec du MGN-3 (500 et 600 µg/ml) sur la prolifération des cellules 4T1 a été examiné. Le taux de prolifération des cellules 4T1 a été établi au moyen de la cytométrie en flux. Les données représentent la valeur moyenne  $\pm$ SD des expériences réalisées en triplicat. # $p < 0,05$ , \* $p < 0,01$  comparativement au groupe de contrôle de cellules 4T1 non traitées.



**Figure n°7 -** Apoptose des cellules 4T1 : l'effet du paclitaxel seul ( $1 \times 10^{-3}$  M), du MGN-3 seul (500 et 600 µg/ml) et de la combinaison de paclitaxel et de MGN-3 sur l'apoptose des cellules 4T1 sur une durée de 24 et de 48 heures a été examiné. Le taux d'apoptose des cellules 4T1 a été établi au moyen de la cytométrie en flux. Les données représentent la valeur moyenne  $\pm$ SD des expériences réalisées en triplicat. Niveau  $p < 0,05$ , #\* $p < 0,01$  comparativement au groupe de contrôle de cellules 4T1 non traitées.

*Analyse cytométrique en flux de l'apoptose, de l'endommagement d'ADN et de la prolifération des cellules:* La quantification de l'apoptose, de l'endommagement d'ADN et de la prolifération des cellules 4T1 traitées au MGN-3 en présence et en absence de paclitaxel a été faite simultanément au moyen de l'analyse cytométrique en flux multicolore réalisée à l'aide du kit d'apoptose, d'endommagement d'ADN et de prolifération de cellules spécifique pour le bromodéoxyuridine incorporé (BrdU), la H2AX phosphorylée ( $\gamma$ H2AX) et la poly (ADP) polymérase ribose (PARP) clivée (BD Biosciences Pharmingen, San Diego CA, Etats-Unis). Conformément aux instructions du producteur, les cellules ont été cultivées en milieu complet (CM) ou avec diverses concentrations de MGN-3 (500 µg/ml et 600 µg/ml) en présence et en absence de paclitaxel ( $1 \times 10^{-3}$ M) sur une durée de 24 ou de 48 heures. Dix microlitres de solution de travail de BrdU [1 mM BrdU dans  $1 \times$  (DPBS)] ont été ajoutés à chaque millilitre de milieu de culture de tissu (la densité de culture cellulaire était d'environ  $1 \times 10^6$  cellules/ml), après quoi les cellules ont été mises en incubation sur glace pendant 30 minutes. Les cellules ont été rincées en ajoutant 1 ml de tampon coloré / tube à essai puis centrifugées (5 min.) à  $250 \times g$ , et le liquide surnageant enlevé. Les cellules ont été fixées avec 100 µl de solution de fixation/perméabilisation BD Cytofix/Cytoperm par tube à essai et incubées pendant 30 minutes à température ambiante. Les cellules ont été ensuite rincées dans 1 ml de tampon  $1 \times$  BD Perm/Wash, puis centrifugées et le liquide surnageant a été enlevé. Les cellules ont été mises en incubation dans 100 µl de tampon Permeability BD Cytofix/Cytoperm Plus par tube à essai pendant 10 minutes dans la glace, rincées puis de nouveau fixées sur une durée de 5 minutes. Cent microlitres de DNase diluée ont été ajoutés aux cellules incubées pendant 1 heure à la température de  $37^\circ\text{C}$  puis rincées. Les cellules ont été resuspendues avec 20 µl de tampon de rinçage et des anticorps anti-BrdU de souris PerCP-CyTM5.5 (5 µl/test), des anticorps anti-H2AX de souris (pS139) Alexa Fluor®

647 (5 µl/test), et PE anti-PARP clivé (Asp214) (5 µl/test) pendant 20 minutes dans l'obscurité, puis rincées. Les cellules ont été resuspendues dans un tampon coloré pour l'analyse du tri cellulaire activé par fluorescence (FACSCalibur; BD Biosciences, San Jose, CA, USA) à l'aide du logiciel CellQuest 3.3 (25, 26).

*Analyse statistique* : Les valeurs indiquées sont des valeurs moyennes ± déviation standard et les données ont été analysées au moyen de l'analyse de la variance suivie de tests post hoc pour comparaisons multiples. La valeur „p“ inférieure à 0,05 a été considérée comme significative du point de vue statistique.

## Résultats

*Effets du MGN-3 seul sur la survie des cellules MCF-7* : L'effet du MGN-3 sur la survie des cellules MCF-7 a été examiné sur une culture de cellules cancéreuses avec du MGN-3 après 24 et après 48 heures. Les données obtenues par le test MTT sont indiquées sur la figure n°1 et montrent que le traitement au MGN-3 a conduit à une réduction du taux des cellules cancéreuses viables après une exposition de 24 heures. La valeur IC<sub>50</sub> était de 1000 µg/ml. L'effet cytotoxique a été plus marqué au bout de 48 heures où la valeur IC<sub>50</sub> était d'environ 800 µg/ml. Des résultats similaires ont été enregistrés lors du test du bleu Trypan (données non indiquées).

*Effets du MGN-3 sur la sensibilité des cellules MCF-7 au paclitaxel* : Les données du test MTT sur la figure n°2 indiquent que la survie des cellules MCF-7 a été inhibée après culture au paclitaxel. En revanche, la culture des cellules conjointement au MGN-3 et au paclitaxel ont provoqué une réduction plus marquée que dans le cas de l'utilisation du paclitaxel seul. L'effet de sensibilisation du MGN-3 est dépendant du dosage. Au bout de 24 heures, la valeur de la concentration inhibitrice maximale médiane IC<sub>50</sub> du paclitaxel a baissé de plus de 100 fois lors de concentrations de MGN-3 de 600, 750 et 1000 µg/ml, et ce comparativement à la culture au paclitaxel seul (Figure n°2A). Une nouvelle réduction de l'IC<sub>50</sub> a pu être observée au bout de 48 heures de culture (Figure n°2B). Des résultats similaires ont été enregistrés lors du test du bleu Trypan (données non indiquées).

*Effets du MGN-3 seul sur la survie des cellules 4T1* : Les données apparaissant sur la figure n°3 montrent que le MGN-3 réduit la survie des cellules 4T1 en fonction du dosage, ceci ayant été démontré par le test MTT. Un effet cytotoxique marqué du MGN-3 a été enregistré après 24 heures de culture où la valeur IC<sub>50</sub> approchait les 700 µg/ml. Après 48 heures de culture des cellules 4T1 avec le MGN-3, la valeur de l'IC<sub>50</sub> est descendue à environ 580 µg/ml. Des tendances similaires ont été enregistrées lors du test du bleu Trypan (données non indiquées).

*Effets du MGN-3 sur la sensibilité des cellules 4T1 au paclitaxel* : une inhibition de la survie des cellules 4T1 après culture au paclitaxel seul a été enregistrée ; une inhibition encore plus importante a été notée après culture au paclitaxel combiné avec le MGN-3. L'effet de sensibilisation du MGN-3 est dépendant du dosage. Les données indiquées sur la figure 4A démontrent que, au bout de 24 heures et comparativement à la culture au paclitaxel seul, la valeur de concentration inhibitrice maximale médiane IC<sub>50</sub> du paclitaxel a baissé de 3 fois environ avec une concentration de MGN-3 de 600 µg/ml, de 100 fois environ avec une concentration de MGN-3 de 1000 µg/ml. Des effets cytotoxiques encore plus marqués ont été notés lors d'un traitement conjoint de 48 heures (Figure n°4B). Ces résultats ont été par ailleurs confirmés par le test du bleu Trypan (données non indiquées).

*Sensibilité différentielle des cellules 4T1 et MCF-7 au paclitaxel en présence et en absence de MGN-3* : Nous avons observé la sensibilité des cellules non métastatiques MCF-7 et cellules métastatiques 4T1 au paclitaxel en présence et en absence de MGN-3. Les résultats ont démontré que les cellules 4T1 étaient plus sensibles que les cellules MCF-7 à la toxicité du paclitaxel à la fois seul et en combinaison avec le MGN-3, ainsi que l'indique la survie des cellules après 24 heures et après 48 heures mesurée au moyen du test MTT. L'exposition des deux types de cellules cancéreuses au paclitaxel seul et en combinaison avec le MGN-3 a montré que, sur des cultures de 24 et de 48 heures, les IC<sub>50</sub> pour les cellules 4T1 étaient inférieures à celles des cellules MCF-7. L'étude de l'endommagement de l'ADN, de la prolifération cellulaire et de l'apoptose a donc été réalisée en utilisant des cellules 4T1 seules afin d'élucider les mécanismes du fonctionnement du MGN-3.

*Endommagement de l'ADN des cellules 4T1:* on a étudié l'effet du MGN-3 (500 et 600 µg/ml) et du paclitaxel ( $1 \times 10^{-3}M$ ) sur le taux d'endommagement de l'ADN dans les cellules 4T1. Les données de la figure n° 5 indiquent que, en comparaison avec les cellules 4T1 du groupe de contrôle non traitées, le traitement des cellules au paclitaxel a augmenté fortement le taux d'endommagement de l'ADN ( $p < 0,01$ ). Une tendance similaire a été enregistrée lors du traitement des cellules 4T1 au MGN-3 seul ( $p < 0,01$ ) en comparaison avec les cellules du groupe de contrôle non traitées. En revanche, l'exposition des cellules 4T1 au paclitaxel associé au MGN-3 a donné une augmentation bien plus importante du taux d'endommagement de l'ADN que celle obtenue dans le cas de l'exposition des cellules 4T1 à chacun de ces agents, seuls. L'effet chimio sensibilisateur du MGN-3 était déjà important après une exposition de 24 heures et a encore augmenté après 48 heures (niveau  $p < 0,01$ ).

*Prolifération des cellules 4T1 :* La figure n° 6 démontre l'effet du MGN-3 (500 et 600 µg/ml) et du paclitaxel ( $1 \times 10^{-3}M$ ) sur le taux de prolifération des cellules 4T1. Comparativement aux cellules 4T1 du groupe de contrôle non traitées, le traitement des cellules 4T1 au paclitaxel pendant 24 heures a eu pour effet une inhibition de la prolifération cellulaire qui a encore diminué au bout de 48 heures de culture ( $p < 0,05$ ). De façon similaire, la prolifération cellulaire des cellules 4T1 a diminué, comparativement aux cellules 4T1 du groupe de contrôle non traitées, après une exposition au MGN-3 de 24 et de 48 heures d'une concentration de 500 µg/ml ( $p < 0,05$ ) et de 600 µg/ml ( $p < 0,01$ ). La culture des cellules 4T1 avec du paclitaxel combiné au MGN-3 a provoqué une inhibition encore plus importante de la prolifération cellulaire par rapport aux cas d'utilisation des agents seuls ( $p < 0,01$ ).

*Apoptose des cellules 4T :* On a observé l'effet du MGN-3 de concentrations 500 et 600 µg/ml et du paclitaxel ( $1 \times 10^{-3}M$ ) sur le taux d'apoptose des cellules 4T1. Les données indiquées sur la figure n°7 montrent que le traitement des cellules 4T1 au paclitaxel a augmenté le taux d'apoptose des cellules 4T1 au bout de 24 heures ( $p < 0,05$ ) et encore davantage après 48 heures (niveau  $p < 0,01$ ). Le MGN-3, en fonction du dosage, a accru fortement le taux d'apoptose des cellules 4T1 (niveau  $p < 0,01$ ). Cependant, l'exposition des cellules 4T1 au MGN-3 combiné au paclitaxel a débouché sur un taux d'apoptose cellulaire supérieur à ceux enregistrés dans le cas d'utilisation des agents seuls (niveau  $p < 0,01$ ).

## **Discussion**

Le paclitaxel, produit naturel issu de l'if, est considéré comme un agent chimio thérapeutique très puissant pour le traitement de nombreux types de cancer comme, par exemple, les cancers du sein, des ovaires et de la prostate, de l'oesophage, du carcinome pulmonaire non-à-petites cellules, et du mélanome (27, 28). L'effet apoptique du paclitaxel sur les cellules s'est avéré dépendant du dosage (29, 30) et de basses concentrations (5-25 nM) peuvent provoquer une apoptose dans les cellules du cancer anaplasique de la thyroïde (ATC) *in vitro* (30). Toutefois, dans la pratique clinique, il faut une plus grande concentration pour provoquer un effet apoptique sur le cancer (31-34). Or une dose aussi forte de paclitaxel signifie de graves effets secondaires y compris la neutropénie, la névralgie, et une toxicité gastro-intestinale (28, 35, 36). De ce fait, il devient urgent d'effectuer des recherches qui conduiraient à la définition de la concentration optimale de paclitaxel causant la mort des cellules cancéreuses tout en provoquant un dommage minimal au tissu sain.

Les données de la présente étude prouvent le potentiel du MGN-3 à réduire les effets chimio toxiques du paclitaxel au moyen d'une réduction de la concentration du produit nécessaire à la destruction des cellules tumorales. En présence du MGN-3 la concentration inhibitrice maximale médiane (IC<sub>50</sub>) du paclitaxel a diminué de plus de 100 fois chez les cellules MCF-7 et 4T1. Le MGN-3 est capable de sensibiliser les cellules cancéreuses à d'autres agents chimio thérapeutiques tels que le DNR (11). De plus, les études réalisées sur les animaux ont démontré que le produit avait des effets bénéfiques de protection contre la perte sévère de poids due au cisplatine (37). Cet effet de protection a été démontré lors de certains changements pathologiques graves de l'appareil gastro-intestinal ainsi que dans la prévention du décès dû à la chimiothérapie (38). Par ailleurs, les résultats des essais cliniques sur le carcinome hépatocellulaire et d'autres types de cancers progressifs ont montré que la chimiothérapie appliquée en présence du MGN-3 donnait un meilleur taux de survie, un pourcentage inférieur de récurrence ainsi qu'une amélioration de l'appétit par rapport au traitement ayant recours à des agents chimio thérapeutiques seuls (12, 39).

Nous avons montré précédemment que les mécanismes par lesquels le MGN-3 provoquait un effet de sensibilisation au daunorubicine impliquaient la faculté du MGN-3 à accroître l'accumulation de cet agent chimio thérapeutique dans les cellules tumorales mammaires humaines (11). Les résultats de la présente étude démontrent que le MGN-3 a un effet synergique sur l'agissement du paclitaxel en causant dans les cellules 4T1 un endommagement massif de l'ADN, en améliorant leur apoptose et en inhibant leur prolifération. L'effet combiné du paclitaxel avec le MGN-3 s'est avéré meilleur que les effets de ces produits utilisés seuls. Il existe plusieurs substances capables d'améliorer l'effet cytotoxique des agents chimio thérapeutiques dans les cellules cancéreuses en augmentant l'accumulation intracellulaire du médicament et en empêchant la résistance aux médicaments multiples (MDR) des cellules cancéreuses ; en font partie le diltiazem - bloqueur des canaux de calcium, et la cépharanthine – alcaloïde biscoclaurine (40-42), la quinidine – agent anti-arythmique (43, 44), et le dérivé synthétique d'isothiocyanate E-4IB (45). En outre, on a examiné l'intervention nutritive par rapport à la réaction de la tumeur à la chimiothérapie. On a utilisé des acides gras polyinsaturés Oméga-3 pour accroître l'accumulation intracellulaire des agents chimio thérapeutiques dans les cellules cancéreuses (9). Par ailleurs, nous avons démontré dans une étude précédente que le MGN-3 inversait la résistance aux médicaments multiples (MDR) dans les cellules HL60/AR (46).

Les recherches effectuées au cours des deux dernières dizaines d'années ont dévoilé que de nombreuses cellules anti-cancéreuses fonctionnaient par induction d'apoptose (47-49). Nous avons examiné le rôle du MGN-3 dans l'activation des caspases. Le traitement au MGN-3 a eu pour conséquence un accroissement du nombre des cellules tumorales mammaires humaines avec les caspases actives -8 et -9 dans les cellules MCF-7, et -3, -8 et -9 dans les cellules HCC70 (50). Par ailleurs, l'effet sensibilisateur du MGN-3 dans les cellules leucémiques humaines HUT 78 à l'apoptose induite par les anti-corps CD95 était en corrélation avec l'augmentation du nombre des cellules avec les caspases actives -3, -8, et -9 (10). Ceci laisse supposer que le MGN-3 sensibilise les cellules tumorales au daunorubicine selon un mécanisme activant les cascades de caspases. Des observations similaires ont été rapportées par Bodo *et al.*, selon lesquelles en post-traitement une accumulation intracellulaire accrue de platine associée au dérivé synthétique d'isothiocyanate E-41B était accompagnée d'une stimulation de l'activité de la caspase-3 (45). Dans cette étude nous avons observé que les cellules 4T1 traitées au paclitaxel mettaient en évidence un endommagement d'ADN associé à une inhibition de leur prolifération. Cet effet peut s'expliquer par la faculté du paclitaxel de se lier aux microtubules, empêchant ainsi la prolifération cellulaire. Le paclitaxel provoque l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose dans la plupart des types de cellules cancéreuses (51).

La promesse de l'activité anti-cancéreuse des dérivés du riz et du son de riz fait l'objet de nombreuses études. Le MGN-3 est un arabinosylane extrait du son de riz (17) qui possède une fonction immuno-modulaire pour différentes cellules immunes telles que les cellules dendritiques (DC), les cellules NK, les cellules T et B et les macrophages (17-23), et accroît la production de cytokines telles que le facteur- $\alpha$  de nécrose tumorale et l'interféron- $\gamma$  (52). En outre, le MGN-3 est apparu comme un nouvel agent anti-tumoral capable de sensibiliser les cellules leucémiques humaines à l'apoptose (10) provoquée par le récepteur de mort (CD-95) ainsi qu'à l'apoptose des cellules cancéreuses (50) provoquée par la levure, de même que de sensibiliser les cellules tumorales mammaires humaines à la daunorubicine (11). De plus, les résultats de cette étude ont montré que le MGN-3 rendait les cellules 4T1 métastatiques sensibles au paclitaxel. D'après ces données, le complément nutritif MGN-3, conjointement avec la chimiothérapie au paclitaxel, s'avèrerait donc être un apport dans le traitement du cancer métastaté du sein.

## Remerciements

Les auteurs expriment leurs remerciements à la société Daiwa Pharmaceutical Co. Ltd., Tokyo, Japon, pour son soutien financier à ce projet.