

Connexines testiculaires : marqueurs physiopathologiques et cibles potentielles aux toxiques environnementaux

Testicular connexins: pathophysiological markers and potential targets for environmental toxins

D. Segretain · A. Zeghimi · D. Carette · F. Carpentier · J. Dompierre · J. Gilleron · G. Pointis

Reçu le 13 janvier 2011 ; accepté le 14 février 2011
© SALF et Springer-Verlag France 2011

Résumé Les jonctions communicantes et leurs protéines constitutives, les connexines (Cxs), sont des constituants nécessaires à la cohésion tissulaire et reconnus comme suppresseurs de tumeurs. Le but de la présente revue est de faire le point sur l'organisation et le rôle des Cxs au sein du testicule et d'analyser leur expression en physiopathologie testiculaire. Organisées en structures hexamériques formant un canal reliant directement les cytoplasmes des cellules adjacentes, les Cxs sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques tels que la prolifération et la différenciation cellulaires. Le maintien d'une balance entre prolifération, différenciation et apoptose est un équilibre primordial évitant une prolifération cellulaire anarchique, risque de cancer. La spermatogenèse est un modèle sophistiqué de prolifération et de différenciation des cellules germinales dans lequel les Cxs jouent un rôle essentiel. Il est acquis qu'une altération de l'expression membranaire des Cxs est l'un des signes avant-coureurs de la cinétique tumorale germinale, et il a été suggéré que les toxiques environnementaux qui, dans leur grande majorité, affectent l'expression de ces protéines,

puissent être impliqués dans le développement de cette pathologie. La recherche de molécules capables de freiner les effets délétères de toxiques carcinogènes sur les Cxs semble être à l'heure actuelle une voie intéressante ouvrant de nouvelles perspectives en santé humaine. *Pour citer cette revue : Andrologie 21 (2011).*

Mots clés Communication jonctionnelle intercellulaire par gap · Connexines · Pathologies testiculaires · Séminome · Toxiques environnementaux

Abstract Gap junctions and their constitutive proteins, connexins, are essential in cell homeostasis and are considered as tumour suppressors. The purpose of the present review is to discuss the role of connexins in the testis and their expression in testis physiopathology. Organized in an hexameric arrangement forming a channel that connects cytoplasm of adjacent cells, connexins are implicated in numerous physiological processes such as cell proliferation and differentiation. The balance between cell proliferation/differentiation/apoptosis is prerequisite for limiting anarchic cell proliferation, a major risk of cancer development. Spermatogenesis is a sophisticated model of germ cell proliferation and differentiation in which connexins play an essential role. It is well recognized that alteration of membranous expression of connexins is an early event of germ cell tumoral kinetics and it has been suggested that environmental toxicants such as non-genomic carcinogens, which in most cases impair connexin expression, could be associated with testis tumoral development. The identification of agents capable of regulating the deleterious effects of carcinogens on connexin expression could be today of interest for opening new therapeutic perspectives. *To cite this journal: Andrologie 21 (2011).*

D. Segretain (✉) · A. Zeghimi · F. Carpentier · J. Dompierre
UMR S775, université Paris-Descartes,
45, rue des Saints-Pères,
F-75006 Paris, France
e-mail : dominique.segretain@parisdescartes.fr

Zerial Laboratory, Max-Planck Institute
of Molecular Cell Biology and Genetics,
Pfötenhauerstrasse 108, 01309, Dresden, Germany

D. Carette · J. Gilleron · G. Pointis
Inserm U 895, équipe 5,
bâtiment universitaire Archimède, C3M,
151, route Saint-Antoine-de-Ginestière, BP 23194,
F-06204 Nice cedex 03, France

G. Pointis
Université Nice–Sophia-Antipolis,
Nice cedex 03, France

Keywords Intercellular gap junction communication · Gap junction · Connexin · Testis pathologies · Seminoma · Environmental toxicants

Introduction

Les connexines (Cxs), protéines constitutives des jonctions communicantes, sont présentes dans la plupart des tissus, comme le cœur, le foie, les glandes endocrines, les tissus nerveux et les organes reproducteurs. Composées de canaux intercellulaires, les jonctions communicantes permettent le passage direct entre deux cellules voisines de métabolites, de nutriments et de seconds messagers. Ces jonctions sont impliquées dans l'homéostasie tissulaire, le contrôle de la prolifération cellulaire et la différenciation.

Des mutations des gènes des Cxs ont été associées à de nombreuses pathologies humaines : neuropathies périphériques, dermatoses, cardiopathies et cataractes. De nombreux travaux *in vivo* et *in vitro* ont associé ces pathologies ainsi que de nombreux cancers avec une perte de la fonctionnalité des canaux jonctionnels et des problèmes de trafic des Cxs. Au cours de ces dernières années, l'incidence croissante de pathologies testiculaires, modèle contrôlé de prolifération et de différenciation cellulaire et de cancers du testicule, nous a incité à examiner si un dérèglement de l'expression des Cxs ne pourrait pas être associé avec ces processus physiopathologiques.

La grande majorité des études portant sur le rôle des Cxs dans les processus tumoraux ont été réalisées *in vitro* sur des cellules exposées à des promoteurs tumoraux et/ou à partir de lignées cellulaires tumorales. Des résultats souvent contradictoires, dus aux lignées employées ainsi qu'aux modèles expérimentaux, ont été rapportés. Aussi, il nous a paru important de rassembler toutes les informations concernant des altérations des Cxs et de la fonctionnalité des jonctions communicantes pour démontrer l'importance de ces protéines dans le fonctionnement cellulaire. En relation avec l'incidence accrue des cancers testiculaires, cette revue a aussi pour but de faire le point sur l'émergence des

Cxs testiculaires comme de nouveaux marqueurs biologiques et de potentielles cibles thérapeutiques en cancérologie, en particulier pour les cancers testiculaires.

Jonctions communicantes et Cxs

Les jonctions communicantes sont formées de canaux intercellulaires qui relient les cytoplasmes de deux cellules voisines en créant un couplage électrique et métabolique (Fig. 1). Elles permettent le passage direct entre les cellules de molécules de poids moléculaires inférieurs à 1 kDa, tels que des facteurs de signalisation (AMPc, IP3...), des ions (Ca^{2+} sous forme de vagues calciques) et des nutriments [1]. Cet échange de signaux moléculaires par ces canaux a été impliqué dans de nombreux processus cellulaires tels que l'homéostasie, le couplage métabolique et électrique, l'embryogenèse et le contrôle de la prolifération et de la différenciation cellulaire [1,2]. Toutes les cellules, à l'exception des érythrocytes, des plaquettes, des cellules musculaires striées squelettiques et des spermatozoïdes sont couplées via les jonctions communicantes. Ces jonctions sont composées par des canaux jonctionnels issus de l'assemblage de six sous-unités protéiques : les Cxs.

À ce jour, 21 Cxs ont été identifiées chez l'homme et classées en fonction de leurs poids moléculaires [3]. Toutes les Cxs ont une structure similaire (Fig. 1) comprenant quatre domaines transmembranaires hydrophobes, deux boucles extracellulaires qui servent à l'appariement avec la Cx de la membrane voisine, une boucle intracytoplasmique et des extrémités NH_2 et COOH terminales cytoplasmiques [4].

De nombreux mécanismes régulant l'expression (transcriptionnelle, traductionnelle et les modifications posttraductionnelles) et le trafic (Golgi vers la membrane plasmique et endocytose) des Cxs ont été impliqués dans le contrôle de la

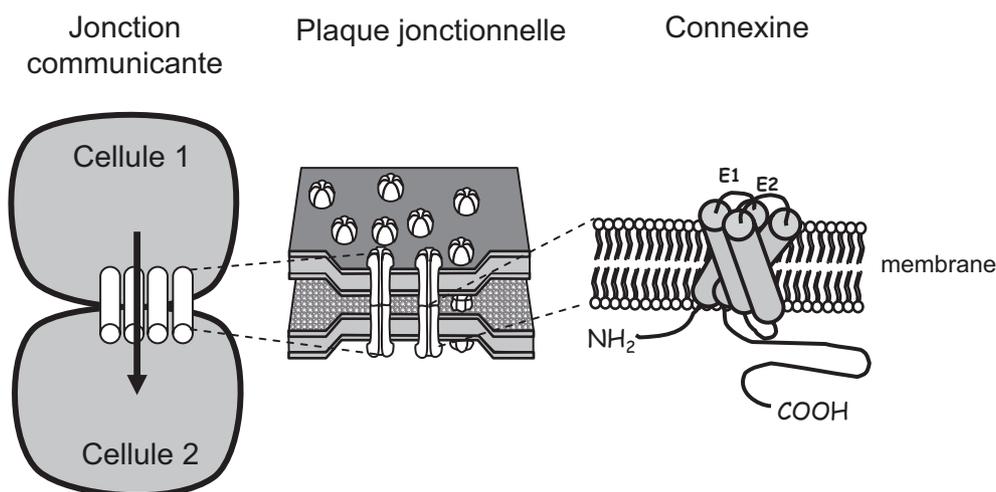


Fig. 1 Représentation schématique des jonctions communicantes de type gap, d'une plaque jonctionnelle et des connexines

fonctionnalité des communications jonctionnelles [5,6]. En effet, uniquement dans de rares cas, des mutations génétiques ainsi que des régulations épigénétiques ont été associées à un défaut d'expression des Cxs. Cependant, dans la majorité des cas, un blocage de la fonctionnalité a été observé lors d'une altération du trafic des Cxs [7,8]. Ces altérations des jonctions communicantes pourraient avoir des conséquences dramatiques telles que le dérèglement de la balance prolifération/différenciation/apoptose conduisant au processus tumoral.

Il a été rapporté que l'expression des Cxs varie en fonction des types cellulaires. Par exemple, si l'épiderme humain exprime les Cx26 ; 30 ; 30,3 ; 31 ; 31,1 ; 32 ; 37 ; 40 ; 43 et 45 [9], les cardiomyocytes ne possèdent que les Cx40, 43 et 45 [10]. Ces différences suggèrent une hétérogénéité fonctionnelle des jonctions communicantes dépendante des tissus. Cette hypothèse est soutenue par le fait que les différentes Cxs peuvent s'associer entre elles et former des canaux hétérogènes ayant des propriétés de conductance différentes. Par conséquent, l'identification des Cxs transcrites mais surtout traduites au sein de chaque tissu est primordiale pour une meilleure compréhension de la régulation et du rôle des communications jonctionnelles.

Dans le testicule mature de rat, 11 ARN messagers codant pour différentes Cxs ont été détectées (Cx26 ; Cx30,2 ; Cx31 ; Cx31,1 ; Cx32 ; Cx33 ; Cx37 ; Cx40 ; Cx43 ; Cx46 et Cx50). Cependant, seulement dix d'entre eux sont présents dans les polysomes et par conséquent probablement traduits [11]. Parmi ces Cxs, on retrouve notamment la Cx43, Cx ubiquitaire la plus étudiée à ce jour. Cette Cx joue un rôle capital dans de nombreux tissus. En effet, la déplétion constitutive du gène de la Cx43 génère une létalité postnatale due à des malformations cardiaques [12]. De plus, des altérations du développement des glandes mammaires sont observées lorsque le gène de la Cx43 est remplacé par celui de la Cx32 [13]. Enfin, au niveau testiculaire, où elle est majoritairement exprimée [14], la déplétion conditionnelle de la Cx43 dans les cellules de Sertoli conduit à un arrêt de la spermatogenèse et à une déficience en cellules germinales [15,16].

Cxs et fonction testiculaire

La spermatogenèse est un processus cyclique de prolifération et de différenciation cellulaire hautement contrôlé. Cette régulation est à la fois de nature endocrine, via les hormones gonadotropes, et paracrine, via majoritairement la testostérone. De plus, un contrôle par des interactions plus directes par l'intermédiaire de contacts cellulaires (récepteur/ligand) et de communications jonctionnelles est nécessaire au bon déroulement de ces processus. En effet, des études ultrastructurales et biochimiques ont mis en évi-

dence la présence de jonctions communicantes et de Cxs au sein de l'épithélium séminifère [14]. Récemment, l'approche moléculaire des Cxs a permis de démontrer leurs participations dans le contrôle sertolien de la spermatogenèse [17,18]. De façon similaire, les jonctions communicantes au niveau ovarien participent au blocage et à la reprise de la méiose par le biais des Cx43 et 37, toutes deux exprimées au niveau des cellules de la granulosa, l'équivalent des cellules de Sertoli [19]. Dans le testicule, la Cx43 est exprimée dans le tissu interstitiel et au niveau des tubes séminifères (Fig. 2), où elle colocalise avec des protéines de la barrière hémato-testiculaire (BHT) [20]. Les expériences d'inactivation totale ou conditionnelle, cellule spécifique du gène de la Cx43, ont montré une altération de la spermatogenèse avec un phénotype « syndrome de cellules de Sertoli isolées » [21].

Les données du laboratoire ont permis de mettre en évidence que la Cx43 est un élément clé du contrôle de la spermatogenèse. En effet, durant la période néonatale, cette Cx, régulée par les hormones thyroïdiennes (T_3), contrôle l'arrêt de la prolifération des cellules de Sertoli permettant leur différenciation [22]. De plus, les jonctions communicantes, constituées de Cx43 entre cellules de Sertoli et cellules germinales en régulant leur survie [17]. Enfin, notre équipe a récemment démontré que les protéines de la BHT, composant une barrière physique à franchir lors de la spermatogenèse, sont elles aussi contrôlées par la Cx43 [18]. Ces résultats démontrent qu'en plus de leur rôle fonctionnel dans la communication cellulaire, les Cxs sont capables de réguler des mécanismes moléculaires complexes dans leur environnement proche.

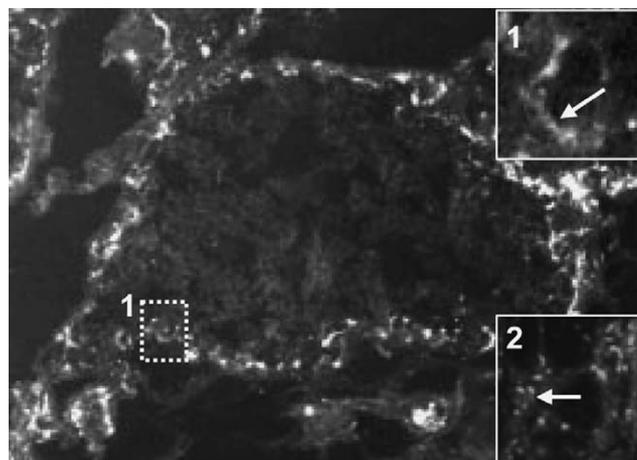


Fig. 2 Immunolocalisation de la Cx43 dans une coupe de testicule humain. Noter que le signal est retrouvé dans le compartiment basal du tube séminifère et dans l'interstitiel. Le grossissement (1) montre que la Cx43 est distribuée majoritairement entre les cellules de Sertoli sous forme de lignes discontinues. Dans le séminome (2), le signal apparaît sous forme de spots intracytoplasmiques

Cxs et cancer du testicule

Il est bien admis qu'un dérèglement de la croissance cellulaire et le processus de cancérogenèse ne sont pas uniquement la conséquence d'une seule cellule initiateur, mais résultent aussi de l'altération de l'homéostasie tissulaire qui a pour origine la modification des interactions entre la cellule et son environnement [23]. Dans les épithélia, les cellules sont ancrées à la matrice extracellulaire et entre elles par une grande variété de jonctions qui jouent un rôle essentiel dans l'organisation tissulaire et dans son fonctionnement. Les jonctions communicantes participent activement à ces processus en contrôlant les protéines permettant l'adhésion cellulaire, mais aussi en gardant les cellules dans un état différencié. De plus, une localisation aberrante des Cxs a été souvent associée à de nombreux cancers humains et a été rapportée dans quasiment toutes les cellules transformées tumorales ou après exposition des cellules à des promoteurs tumoraux (Tableau 1) [8,24].

Le cancer du testicule représente le cancer le plus fréquent de l'homme jeune. En Europe, son incidence augmente de 2 % par an. La majorité de ces cancers sont des séminomes, une prolifération anarchique des cellules germinales indifférenciées. La caractérisation de la Cx43 au niveau sertolien et

germinal, ainsi que sa possible implication dans le contrôle de la spermatogenèse, nous a conduit à proposer l'hypothèse qu'une perte partielle du contrôle sertolien de la spermatogenèse via une altération des jonctions communicantes, établies entre les cellules de Sertoli et les cellules germinales, pourrait être associée au processus de prolifération séminomateuse. Alors que la Cx43 est exprimée dans le testicule humain normal [25], la protéine est quasiment indétectable dans le testicule humain infiltré par un carcinome in situ et dans le séminome [26]. De plus, la transition du stade carcinome in situ préinvasif à séminome est accompagnée d'une diminution du nombre des transcrits de la Cx43 [27]. D'autres études montrent que la Cx43 peut être normalement détectée dans des séminomes purs et dans une lignée séminomateuse, mais que dans ces deux cas la protéine est délocalisée dans le cytoplasme des cellules tumorales [28–30]. L'analyse de la cinétique de la Cx43 au cours des stades primaires et avancés de tumorigenèse testiculaire chez une souris transgénique révèle que cette délocalisation précède la réduction des taux de protéine amenant à penser que cette localisation aberrante est un signe avant-coureur de prolifération incontrôlée dans le testicule pathologique [29]. Au contraire de la Cx43, qui est d'abord délocalisée puis dont l'expression est fortement altérée, d'autres Cxs comme les

Tableau 1 Expression et fonctionnalité des Cxs dans les cancers humains

Cancer	Connexines	Expression	Localisation	Fonctionnalité (CJ)
Carcinome épidermoïde de la tête et du cou	Cx31.1	Réduite	nr	nr
Carcinome nasopharyngé	Cx43, 45	Réduite	nr	nr
Méningiome et hémangiopéricytome	Cx26, 43	Réduite	Membrane	nr
Carcinome du larynx	Cx26, 30, 32, 43	Inchangée	nr	nr
Tumeur hépatique	Cx32	Inchangée	Cytoplasme	Réduite
Cancer du côlon	Cx26, 43	Réduite	Cytoplasme	Perdue
Cancer de l'œsophage	Cx26, 32, 43	Réduite	nr	nr
Cancer du sein	Cx26, 43	Réduite	Cytoplasme	Perdue
Mésothéliome	Cx37, 43, 45	Inchangée	Membrane	Réduite
Glioblastome	Cx43	Réduite	nr	Réduite
Cancer du poumon	Cx43	Réduite	nr	Réduite
Tumeur adrénocorticale	Cx43	Indétectable	nr	nr
Carcinome à cellule rénale	Cx32, 43	Indétectable	nr	nr
Carcinome cervical	Cx43	Indétectable	nr	–
Carcinome ovarien	Cx43	Réduite	Cytoplasme	Perdue
Carcinome de l'endomètre	Cx43	Réduite	Cytoplasme	Perdue
Tumeur de la prostate	Cx26, 32, 43	Réduite	Cytoplasme	Perdue
Cancer de la vessie	Cx26	Réduite	nr	Perdue
Carcinome thyroïdien	Cx26, 32, 43	Réduite	nr	Perdue
Cancer du testicule	Cx26, 40, 43	Réduite	Cytoplasme	Perdue
Hépatocarcinome	Cx26, 32	Réduite	nr	nr
Tumeur de la peau	Cx26, 30	Augmentée	nr	nr

CJ : communication jonctionnelle ; nr : non rapportée [8].

Cx26 et 40, qui ne sont pas détectées dans le testicule sain, ont une forte surexpression protéique dans les tubes séminifères infiltrés ou CIS [26,31]. Bien que les raisons, pour lesquelles ces trois Cxs sont altérées, soient inconnues, il a été envisagé que des altérations de l'expression et de la localisation cellulaire de ces Cxs pourraient être des marqueurs diagnostiques des tumeurs germinales.

Localisation aberrante des Cxs dans les tumeurs et en réponse à des promoteurs de tumeurs : exemple du testicule

Cette délocalisation de la Cx43 de la membrane vers le cytoplasme a été rapportée dans de nombreux autres cancers : hépatocarcinomes, cancers colorectaux, cancers mammaires, cancers de la prostate, cancers de l'endomètre (Tableau 1). Aux vues de ces données, nous avons proposé que la délocalisation de la Cx43 puisse servir de marqueur précoce de la progression tumorale [8]. Dans le but de comprendre les maillons de ce processus de délocalisation des Cxs, nous avons été les premiers à mettre en évidence une colocalisation des protéines d'adressage de type Rab 5, un marqueur des endosomes précoces, avec la Cx43 internalisée [29]. Nous avons émis l'hypothèse que cette localisation aberrante de la Cx n'était pas associée à un défaut d'adressage de la Cx et du connexon vers la membrane mais plutôt à une instabilité de la Cx à la membrane liée à une activation de l'endocytose [32]. Cette atteinte de la Cx43 a été vérifiée dans une étude assez large, mettant en œuvre plusieurs classes de toxiques dans différentes lignées cellulaires (Tableau 2) et dans une lignée de cellules de Sertoli développée au laboratoire [33,34]. Des études cinétiques par vidéomicroscopie dans des cellules de Sertoli, exprimant la Cx43 associée à la GFP, ont analysé la dynamique de ce processus d'internalisation et l'implication des cascades de kinases [35]. Ces événements très rapides mettent en évidence la nécessité de mieux appréhender tous les mécanismes moléculaires participant à ce processus d'internalisation. C'est pourquoi une étude en microscopie électronique de ce processus a été entreprise. Les images de la Figure 3 montrent, dans un premier temps, une restructuration par bourgeonnements de la jonction annulaire qui facilite la réduction de cette large structure. Cette réorganisation permet probablement un tri des Cxs encore réutilisables par la cellule ainsi qu'une réduction du volume de la jonction annulaire. Par la suite, une activation de la voie de macroautophagie, avec enserrement des jonctions annulaires dans une double membrane (issue soit de l'appareil de Golgi, soit du réticulum endoplasmique), conduit à une dégradation par fusion avec les lysosomes. Après réduction de la taille, une autre voie de dégradation par hétérophagie (dégradation interne à la structure) pourrait être aussi impliquée [32]. L'endocytose de la Cx43, induite par un carcinogène non génotoxique, le

Dégradation de la plaque

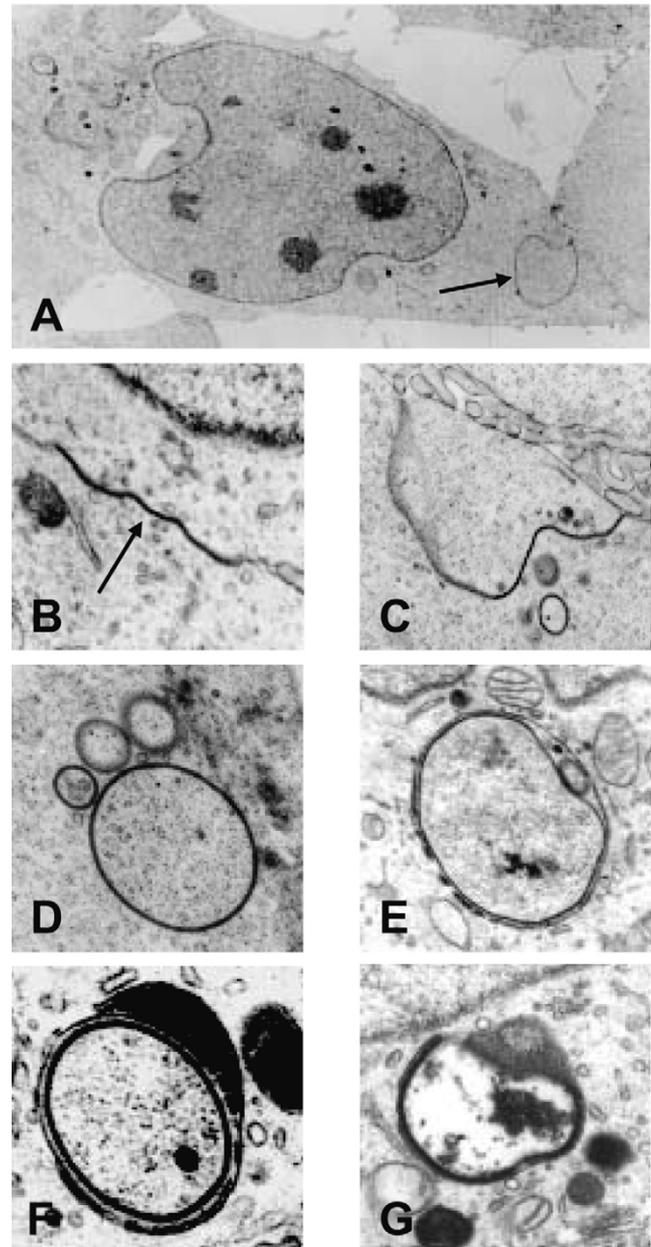


Fig. 3 Internalisation des jonctions communicantes examinée par microscopie électronique. A. Une large jonction annulaire est présente dans le cytoplasme (flèche). B. Jonction gap présente entre deux cellules voisines (flèche). C. Internalisation de la jonction qui présente une forme incurvée vers le cytoplasme d'une cellule. D. Jonction annulaire associée avec de petites jonctions annulaires. E. Le réticulum endoplasmique entoure partiellement la jonction annulaire, signe de l'initiation de l'autophagie. (F) Autophagie de la jonction annulaire. (G) Hétérophagie de la jonction annulaire montrée par l'absence de réticulum endoplasmique en périphérie et la dégradation interne de la jonction annulaire

Tableau 2 À gauche : agents connus pour altérer l'expression ou le fonctionnement des Cxs. À droite : agents pouvant contrebalancer l'effet inhibiteur de promoteurs tumoraux sur les jonctions communicantes [modifié d'après 8]			
Agents connus pour freiner l'expression des connexines ou altérer leur trafic		Agents connus pour améliorer la communication jonctionnelle et l'expression des connexines	
Esters de phorbol	13-acétate de 12-O-tétradécanoylphorbol	Rétinoïdes	Acide tout-transrétinoïque, liarozole + acide tout-transrétinoïque
Xénoestrogènes	Diéthylstilbestrol, tamoxifène dichlorodiphényltrichloroéthane, polychlorobiphényle, polybromobiphényle, tris(4-chlorophényl)méthanol	Caroténoïdes provitamine A, non provitamine A	Alpha- et bêtacarotène, lycopène, astaxanthine, canthaxantine
Pesticides herbicides	Dieldrine, endosulfane, chlordane H, époxide, lindane, pentochlorophénol, 2,4-D, 2,4,5-T butyl ester	Flavonoïdes	Génistéine, quercétine, kaempférol, apigénine, ginsénosides, thé vert, épicatechine
Toxines	Ochratoxine	Pigment polyphénolique	Curcumin
Polluants environnementaux	Nonylphénol, diméthylnitrosamine, hydrocarbure aromatique polycyclique	Agent phénolique	Ester caféate de phénéthyle
Métaux lourds	Mercure, méthylmercure, trichloroéthylène, cadmium	Vitamine	Vitamine E
Particules dans l'air	Diesels	Glucocorticoïdes	Dexaméthasone, hydrocortisone
Nutriments	Acides gras insaturés : acide eicosapentaénoïque	Inhibiteur de l'histone déacétylase	Butyrate de sodium, trichostatine A, acide suberoylanilide hydroxamique, 4-phénylbutyrate de sodium
Substances	Phénobarbital, barbital de sodium, amobarbital	Substances anticancéreuses	Docétaxel
Suppléments alimentaires et antioxydants	Saccharine, carragénine lambda, indolo[3,2-b]carbazole, hydroxytoluène butylé, oxyde d'hydroxytoluène butylé	Substances antihypercholestérolémie	Lovastatine
		Antioxydants	Superoxyde dismutase, N,N'-diphényl-p-phénylènediamine, indométhacine, a-tocophérol
		Molécules bioactives	Chaetoglobosine K

lindane, implique aussi une réorganisation membranaire des partenaires de la Cx, comme la protéine ZO-1 et la kinase c-Src [32]. Cette étude dynamique des étapes de l'internalisation, qui apparaît comme un signe précurseur de la cinétique tumorale, doit être complétée par des travaux sur la recherche d'autres partenaires des Cxs qui participent au processus endocytaire [36].

Agents capables de reverser l'effet de molécules toxiques environnementales

La notion que les gènes des Cxs seraient considérés comme des gènes suppresseurs de tumeurs vient de l'observation que la transfection d'une Cx dans une cellule transformée ou tumorale restaure une croissance cellulaire normale [37]. Ainsi, la surexpression de la Cx43 dans des cellules séminomateuses humaines freine la prolifération [28]. Il a donc été suggéré que la surexpression d'une Cx pourrait avoir un rôle thérapeutique dans certains cancers [23]. C'est pourquoi la recherche de

molécules capables de restaurer la communication jonctionnelle en cas d'altération de cette dernière et de stimuler l'expression des Cxs a été fortement encouragée. Afin de pallier aux effets délétères de nombreux produits, particulièrement de toxiques environnementaux et d'agents pharmaceutiques, et de reverser ces effets, de nombreuses molécules ont été testées sur les jonctions communicantes (Tableau 2). Ces facteurs peuvent agir de façon positive, soit en favorisant le trafic de la Cx vers la membrane, soit en freinant l'internalisation et la dégradation des Cxs. Il a été rapporté que plusieurs familles de molécules augmentent l'expression de la Cx43 et pourraient ralentir le processus tumoral en réinitiant une communication entre cellules adjacentes permettant ainsi un contrôle de la prolifération cellulaire anarchique (Tableau 2). Une famille très représentative concerne les rétinoïdes et les caroténoïdes, dérivés de la vitamine A, qui stimulent les jonctions communicantes [38]. Les flavonoïdes, qui appartiennent au groupe des polyphénols et qui exercent des effets antioxydants et antitumoraux, pourraient aussi améliorer la communication par jonctions gap [39].

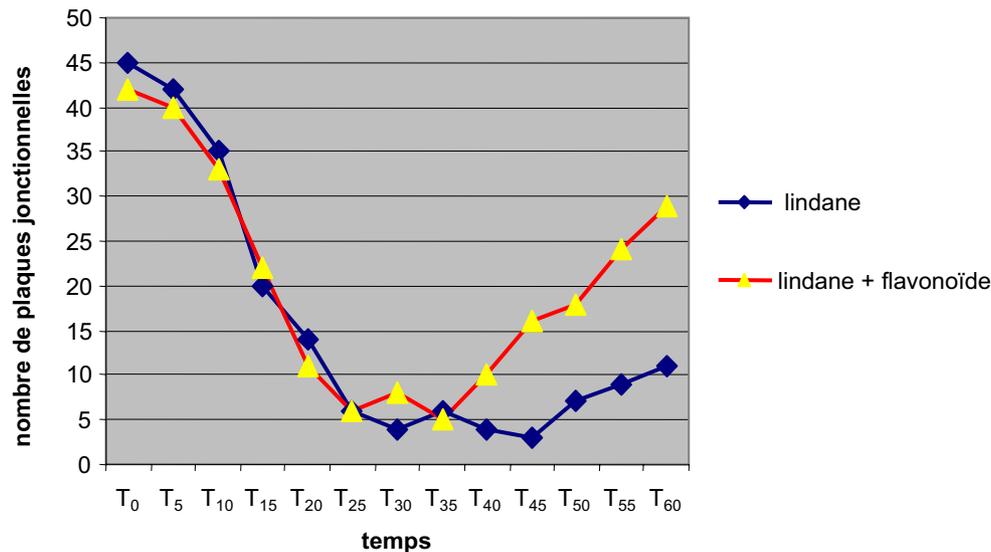


Fig. 4 Cinétique du nombre de plaques jonctionnelles dans des cellules de Sertoli transfectées par un vecteur chimérique de Cx43 couplé à la GFP (*green fluorescence protein*) et exposées au lindane plus ou moins un flavonoïde (méthylxanthine)

Si un retour spontané des Cxs à la membrane a été observé après une courte exposition des cellules de Sertoli à des produits pharmacologiques [40], nous avons pu montrer que cette relocalisation membranaire était fortement amplifiée lorsque les cellules étaient conjointement exposées à des agents capables d'intensifier le couplage jonctionnel. Ce retour à la membrane est associé dans le temps à une augmentation significative du nombre de plaques jonctionnelles quantifiées dans des cellules de Sertoli transfectées par un vecteur GFP permettant de visualiser et de dénombrer plus aisément ces structures. Un exemple de restauration est donné dans la Figure 4. Dans ce cas, les cellules ont été exposées à la fois au lindane et à un rétinol (méthylxanthine). Des études préliminaires révèlent en outre que le moment de l'exposition de ces agents, par rapport à celui où les cellules sont soumises aux toxiques, semble jouer un rôle clef dans ces effets protecteurs. Ces données montrent que la combinaison de deux produits antagonistes peut avoir un effet qui module l'action délétère d'un carcinogène sur les jonctions communicantes. Ces résultats ouvrent des perspectives nouvelles, et des travaux complémentaires devraient permettre de disséquer les mécanismes moléculaires qui gèrent ces effets et d'identifier les partenaires moléculaires des Cxs impliqués dans la régulation de ce trafic.

Conclusion

Les Cxs jouent un rôle clef dans le système reproducteur masculin en particulier par leur capacité à contrôler la prolifération et la différenciation des cellules germinales. Un dérèglement de la communication jonctionnelle, entre les cellules de Sertoli, cellules de soutien de la spermatogenèse, et les cellules germinales sous l'effet de toxiques environnementaux, pourrait par-

ticiper au développement de pathologies testiculaires et conduire dans certains cas à un cancer du testicule. Il est, à ce jour, capital de mieux comprendre les altérations du trafic des Cxs qui ont été rapportées dans ces pathologies testiculaires et qui apparaissent à l'heure actuelle comme des signes précurseurs d'un dérèglement cellulaire. De même, il serait intéressant de mieux appréhender le rôle joué par les molécules partenaires des Cxs dans ces processus. L'apport des nouvelles techniques d'imagerie, telles que la microscopie suboptique et la microscopie corrélative devraient permettre des avancées significatives dans ce domaine. Une approche thérapeutique, qui prendrait en compte les aspects moléculaires et les partenaires des molécules cibles d'intérêt, pourrait ainsi voir le jour. Enfin, dans le but de limiter l'effet des toxiques sur la fonction de reproduction mâle, il semble nécessaire de continuer à développer des stratégies de recherche permettant d'identifier des agents capables de reverser et/ou de freiner les effets de ces toxiques sur les jonctions communicantes et l'expression des Cxs testiculaires et par voie de conséquence sur la spermatogenèse.

Conflit d'intérêt et remerciements : les auteurs remercient la région Île-de-France (Oseo innovation) pour son soutien financier.

Références

1. Bruzzone R, White TW, Paul DL (1996) Connections with connexins: the molecular basis of direct intercellular signaling. *Eur J Biochem* 238:1-27
2. Kumar NM, Gilula NB (1996) The gap junction communication channel. *Cell* 84:381-8

3. Willecke K, Eiberger J, Degen J, et al (2002) Structural and functional diversity of connexin genes in the mouse and human genome. *Biol Chem* 383:725–37
4. Zhang JT, Nicholson BJ (1994) The topological structure of connexin 26 and its distribution compared to connexin 32 in hepatic gap junctions. *J Membr Biol* 139:15–29
5. Oyamada M, Oyamada Y, Takamatsu T (2005) Regulation of connexin expression. *Biochim Biophys Acta* 1719:6–23
6. Lampe PD, Lau AF (2004) The effects of connexin phosphorylation on gap junctional communication. *Int J Biochem Cell Biol* 36:1171–86
7. Chipman JK, Mally A, Edwards GO (2003) Disruption of gap junctions in toxicity and carcinogenicity. *Toxicol Sci* 71:146–53
8. Pointis G, Fiorini C, Gilleron J, et al (2007) Connexins as precocious markers and molecular targets for chemical and pharmacological agents in carcinogenesis. *Curr Med Chem* 14:2288–303
9. Di WL, Common JE, Kelsell DP (2001) Connexin 26 expression and mutation analysis in epidermal disease. *Cell Commun Adhes* 8:415–8
10. Gros DB, Jongsma HJ (1996) Connexins in mammalian heart function. *Bioessays* 18:719–30
11. Risley MS (2000) Connexin gene expression in seminiferous tubules of the Sprague-Dawley rat. *Biol Reprod* 62:748–54
12. Reaume AG, De Sousa PA, Kulkarni S, et al (1995) Cardiac malformation in neonatal mice lacking connexin 43. *Science* 267:1831–4
13. Plum A, Hallas G, Magin T, et al (2000). Unique and shared functions of different connexins in mice. *Curr Biol* 10:1083–91
14. Pointis G, Segretain D (2005) Role of connexin-based gap junction channels in testis. *Trends Endocrinol Metab* 16:300–6
15. Brehm R, Zeiler M, Rüttinger C, et al (2007) A Sertoli cell-specific knockout of connexin 43 prevents initiation of spermatogenesis. *Am J Pathol* 171:19–31
16. Sridarhan S, Simon L, Meling DD, et al (2007) Proliferation of adult Sertoli cells following conditional knockout of the gap junctional protein GJA1 (connexin 43) in mice. *Biol Reprod* 76:804–12
17. Gilleron J, Carette D, Durand P, et al (2009) Connexin 43 a potential regulator of cell proliferation and apoptosis within the seminiferous epithelium. *Int J Biochem Cell Biol* 41:1381–90
18. Carette D, Weider K, Gilleron J, et al (2010) Major involvement of connexin 43 in seminiferous epithelial junction dynamics and male fertility. *Dev Biol* 346:54–67
19. Gershon E, Plaks V, Dekel N (2008) Gap junctions in the ovary: expression, localization and function. *Mol Cell Endocrinol* 282:18–25
20. Batias C, Siffroi JP, Fénichel P, et al (2000) Connexin 43 gene expression and regulation in the rodent seminiferous epithelium. *J Histochem Cytochem* 48:793–805
21. Pointis G, Gilleron J, Carette D, Segretain D (2010) Physiological and physiopathological aspects of connexins and communicating gap junctions in spermatogenesis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 365:1607–20
22. Gilleron J, Nebout M, Scarabelli L, et al (2006) A potential novel mechanism involving connexin 43 gap junction for control of Sertoli cell proliferation by thyroid hormones. *J Cell Physiol* 209:153–61
23. Trosko JE (2007) Gap junctional intercellular communication as a biological “Rosetta stone” in understanding, in a systems biological manner, stem cell behavior, mechanisms of epigenetic toxicology, chemoprevention and chemotherapy. *J Membr Biol* 218:93–100
24. Cronier L, Crespin S, Strale PO, et al (2009) Gap junctions and cancer: new functions for an old story. *Antioxid Redox Signal* 11:323–38
25. Defamie N, Berthaut I, Mograbi B, et al (2003) Impaired gap junction connexin 43 in Sertoli cells of patients with secretory azoospermia: a marker of undifferentiated Sertoli cells. *Lab Invest* 83:449–56
26. Brehm R, Marks A, Rey R, et al (2002) Altered expression of connexins 26 and 43 in Sertoli cells in seminiferous tubules infiltrated with carcinoma in situ or seminoma. *J Pathol* 197:647–53
27. Brehm R, Rüttinger C, Fischer P, et al (2006) Transition from preinvasive carcinoma in situ to seminoma is accompanied by a reduction of connexin 43 expression in Sertoli cells and germ cells. *Neoplasia* 8:499–509
28. Roger C, Mograbi B, Chevallier D, et al (2004) Disrupted traffic of connexin 43 in human testicular seminoma cells: overexpression of Cx43 induces membrane location and cell proliferation decrease. *J Pathol* 202:241–6
29. Segretain D, Decrouy X, Dompierre J, et al (2003) Sequestration of connexin 43 in the early endosomes: an early event of Leydig cell tumor progression. *Mol Carcinog* 38:179–87
30. Mauro V, Chevallier D, Gilleron J, et al (2008) Aberrant cytoplasmic accumulation of connexin 43 in human testicular seminoma. *Open Biomarkers Journal* 1:20–7
31. Okada K, Katagiri T, Tsunoda T, et al (2003) Analysis of gene-expression profiles in testicular seminomas using a genome-wide cDNA microarray. *Int J Oncol* 23:1615–35
32. Gilleron J, Fiorini C, Carette D, et al (2008) Molecular reorganization of the connexin 43, zonula occludens-1 and c-Src complexes during gap junction plaque endocytosis in response to a non genomic carcinogen. *J Cell Sci* 121:4069–78
33. Defamie N, Mograbi B, Roger C, et al (2001) Disruption of gap junctional intercellular communication by lindane is associated with aberrant localization of connexin 43 and zonula occludens-1 in 42GPA9 Sertoli cells. *Carcinogenesis* 22:1537–42
34. Fiorini C, Tilloy-Ellul A, Chevalier S, et al (2004) Sertoli cell junctional proteins as early targets for different classes of reproductive toxicants. *Reprod Toxicol* 18:413–21
35. Mograbi B, Corcelle E, Defamie N, et al (2003) Aberrant connexin 43 endocytosis by the carcinogen lindane involves activation of the ERK/mitogen-activated protein kinase pathway. *Carcinogenesis* 24:1415–23
36. Segretain D, Falk MM (2004) Regulation of connexin biosynthesis, assembly, gap junction formation, and removal. *Biochim Biophys Acta* 1662:3–21
37. Kandouz M, Batist G (2010) Gap junctions and connexins as therapeutic targets in cancer. *Expert Opin Ther Targets* 14:681–92
38. Bertram JS, Vine AL (2005) Cancer prevention by retinoids and carotenoids: independent action on a common target. *Biochim Biophys Acta* 1740:170–8
39. Takahashi H, Nomata K, Mori K, et al (2004) The preventive effect of green tea on the gap junction intercellular communication in renal epithelial cells treated with a renal carcinogen. *Anticancer Res* 24:3757–62
40. Tramoni M, Gilleron J, Tahiri K, et al (2009) Contraceptive steroids from pharmaceutical waste perturbate junctional communication in Sertoli cells. *Biochimie* 91:1366–75