



HAL
open science

La résistance aux traitements antiangiogéniques Une actualité clinique et scientifique

Yuchen Gu, He Lu, Catherine Boisson-Vidal, Hong Li, Guilhem Bousquet, Anne Janin, Melanie Di Benedetto

► To cite this version:

Yuchen Gu, He Lu, Catherine Boisson-Vidal, Hong Li, Guilhem Bousquet, et al.. La résistance aux traitements antiangiogéniques Une actualité clinique et scientifique. *Médecine/Sciences*, 2016, 32 (4), pp.370-377. 10.1051/medsci/20163204015 . hal-02327134

HAL Id: hal-02327134

<https://hal.science/hal-02327134>

Submitted on 22 Oct 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

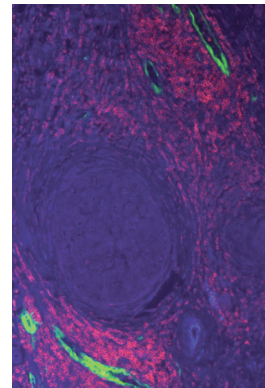
L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

La résistance aux traitements antiangiogéniques

Une actualité clinique et scientifique

Yuchen Gu¹, He Lu¹, Catherine Boisson-Vidal²,
Hong Li³, Guilhem Bousquet¹, Anne Janin¹,
Mélanie Di Benedetto^{1,4}

► Bien que l'utilisation des agents antiangiogéniques ait été considérée comme une stratégie prometteuse qui permet de bloquer la croissance tumorale et d'améliorer la biodisponibilité des médicaments jusqu'à la tumeur, l'utilisation en clinique de la plupart de ces agents s'avère limitée du fait du développement de la résistance à certains de ces antiangiogéniques et de leur importante toxicité. L'approche reste toutefois valable puisque cet outil thérapeutique a permis d'allonger la survie des patients sans progression pour ceux atteints de cancers coliques, mammaires, rénaux, pulmonaires et hépatiques. L'identification de marqueurs biologiques de réponse à cette famille de médicaments représente donc un domaine important d'investigation. ◀



¹Inserm UMR-S1165, université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, 1, avenue Claude Vellefaux, 75010 Paris, France ;

²Inserm UMR-S1140, université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, France ;

³Microenvironnement et renouvellement cellulaire intégré (MERC I - EA 3829), faculté de médecine et de pharmacie, université de Rouen, France ;

⁴Université Paris 13, avenue Jean-Baptiste Clément, 93430 Villetaneuse, France.
dibenedetto22@yahoo.fr

vont proliférer, se différencier pour former progressivement le bourgeon vasculaire et permettre la formation de la lumière du néovaisseau. Le système Notch-DLL4 (*delta like ligand 4*) contrôle cette formation en inhibant la synthèse du VEGFR2 et en stimulant préférentiellement la réponse mitogène. La phase de maturation permet ensuite de stabiliser le vaisseau néoformé. Elle fait intervenir le recrutement des péricytes et la membrane basale autour du vaisseau. Cette phase est stimulée par le *fibroblast growth factor-2* (FGF2), le *platelet derived growth factor* (PDGF), le *transforming growth factor β* (TGFβ) et l'angiopoïétine-1 (ANG1). L'angiopoïétine-1 agit comme un facteur de quiescence vasculaire. Ce sont les cellules endothéliales qui sécrètent ces facteurs et recrutent ainsi des progéniteurs mésenchymateux. Ces derniers se différencient en péricytes et stimulent la synthèse de matrice extracellulaire autour du néovaisseau. Cette étape est indispensable à la maturation du vaisseau en l'absence de VEGF. Les cellules tumorales recrutent également des précurseurs endothéliaux qui se différencient en cellules endothéliales et vont participer à la formation du nouveau réseau vasculaire. Les mécanismes de régulation sont communs entre l'angiogenèse tumorale et l'angiogenèse physiologique, mais les vaisseaux au sein d'une tumeur sont souvent très différents, présentant des anomalies morphologiques (diamètres irréguliers, porosité importante). Même si les cellules endothéliales issues de l'angiogenèse tumorale ont été longtemps considérées comme normales et stables, les études récentes montrent que ces cellules présentent, comme les cellules tumorales,

L'angiogenèse tumorale est un mécanisme complexe finement régulé, qui fait intervenir deux étapes fondamentales : la phase d'activation puis celle de maturation [1] (→).

(→) Voir la Synthèse de L. Treps et J. Gavard, *m/s* n° 11, novembre 2015, page 989

La phase d'activation au sein de la tumeur est liée à la présence d'un environnement hypoxique qui induit très précocement la sécrétion de facteurs angiogéniques par les cellules tumorales, dont le plus important est le *vascular endothelial growth factor* (VEGF). Celui-ci est présent sous différentes isoformes VEGF A, B ou C et D pour le système lymphatique. Pendant la phase d'activation, un nouveau vaisseau va se former grâce à un gradient de VEGF et à l'expression de son récepteur de type 2 (VEGFR2 ou KDR [*kinase insert domain receptor*]) à la surface des cellules endothéliales. D'autres facteurs tels que l'angiopoïétine-2 (ANG2), le *placenta growth factor* (PlGF), l'*hepatocyte growth factor* (HGF) et l'éphrine interviennent durant cette phase. Les cellules dites « pionnières » (*tip-cells*) vont migrer et permettre l'invasion du stroma grâce à une expression importante de métalloprotéases (MMP) dans ces cellules. D'autres cellules de type « tige » (*stalk-cells*)

des changements de type morphologique, physiologique, cytogénétique, épigénétique, ainsi que des différences génétiques pouvant conditionner des mécanismes de résistance [2, 3] (→).

(→) Voir l'Éditorial de J.Y. Blay, m/s n° 12, décembre 2007, page 1073

Deux approches pharmacologiques visant à limiter l'angiogenèse tumorale sont actuellement utilisées. Elles inhibent principalement la voie du VEGF grâce à l'utilisation d'inhibiteurs monospécifiques des voies angiogéniques et à celle de petites molécules inhibitrices de l'activité tyrosine kinase des récepteurs du VEGF.

Les inhibiteurs monospécifiques des voies angiogéniques

L'inhibiteur le plus connu est l'anticorps monoclonal humanisé bevacizumab (Avastin®). Il cible spécifiquement un épitope du VEGF A l'empêchant d'interagir avec son récepteur, le VEGF-R2, bloquant ainsi la cascade de signalisation propre à l'angiogenèse tumorale. Le fragment F(ab')₂¹ de cet anticorps, le ranibizumab (Lucentis®) [4], est également utilisé dans les pathologies oculaires de par sa meilleure pénétrabilité au niveau de la rétine, dans les cas de dégénérescence maculaire. Utilisé dans beaucoup de types de cancer (sein, poumon, rein, mélanome, ovaire, gastrique, lymphome) [5], le bevacizumab n'est cependant efficace dans le cas de cancers métastatiques que s'il est combiné à la chimiothérapie de référence. Des résultats cliniques ont ainsi montré que son association à une chimiothérapie cytotoxique, comme le 5-fluorouracile (5-FU), augmente la survie sans progression mais pas la survie globale des patients atteints d'un cancer colorectal [6]. Les recherches réalisées sur des modèles précliniques montrent un effet additif de l'anticorps bevacizumab avec certaines molécules cytotoxiques [7]. Cependant, dans ces études, aucune amélioration n'a été observée ni sur la survie ni sur la qualité de vie de patientes atteintes de cancer du sein métastatique, ce qui a conduit au retrait de son autorisation de mise sur le marché (AMM) aux États-Unis. Son efficacité est donc controversée. Elle semble liée à une grande variabilité interindividuelle en fonction des patients traités. Son utilisation spécifique requiert donc l'identification de biomarqueurs révélant la réponse du patient. Une autre stratégie consistant à cibler les récepteurs du VEGF est efficace dans le traitement du cancer colorectal, du lymphome et du cancer du rein. Ainsi, le VEGF-TRAP (Aflibercept, Zaltrap®) qui est une protéine recombinante de fusion qui comporte les domaines des récepteurs VEGF-R1 et VEGF-R2, inhibe le VEGF A mais également le VEGF B et le PIGF [8].

Les inhibiteurs multispécifiques de kinase et du complexe mammalian target of rapamycin (mTOR)

Les récepteurs du VEGF étant exprimés à la fois sur les cellules tumorales et sur les cellules endothéliales, l'exploration de l'efficacité d'inhibiteurs de tyrosine kinases, activité présentée par les VEGF-R,

a connu un essor important [9]. Ces inhibiteurs, lipophiles, présentent une importante biodisponibilité et interagissent directement avec les récepteurs des facteurs angiogéniques. Ils permettent d'obtenir une réponse positive dans 30 à 40 % des essais cliniques de phase III. Dans la plupart des cas, plusieurs types de ces récepteurs sont ciblés comme les récepteurs au *platelet derived growth factor* (PDGFR), à l'*epidermal growth factor* (EGFR), ou le récepteur tyrosine kinase de type RET (c-kit). Ainsi, les molécules inhibitrices comme le sunitinib (Sutent®), l'axitinib (Inlyta®), le pazopanib (Votrient®), le vandetanib (CaprelsaA®) et le vatalanib (PTK787 ou PTK/ZK®), qui interagissent, en général, principalement avec des récepteurs du VEGF, agissent aussi sur d'autres récepteurs, comme le PIGFR (*placental growth factor receptor*) dans le cas du vatalanib ou, pour le sunitinib, le CSF1R (*colony stimulating factor 1 receptor*) qui est très exprimé par les cellules tumorales. Le sunitinib est efficace en particulier dans le traitement du carcinome rénal à cellules claires métastatiques ou *clear cell renal carcinoma* (ccRCC). Le sorafenib (Nexavar®) inhibe les kinases Raf et cible ainsi les voies de signalisations dépendant des MAPK (*mitogen activated protein kinase*) et la voie Raf/MEK (*MAPK/ERK kinase*)/ERK (*extracellular signal-regulated kinase*). Il interagit également avec les récepteurs VEGF-R2 et R3, PDGFR-B, et c-kit. Il est efficace dans les traitements du mélanome, des cancers du rein de type ccRCC et dans les hépatocarcinomes non opérables, ainsi que dans les cancers différenciés de la thyroïde [9]. Les inhibiteurs de kinase agissent selon différents mécanismes. Le sunitinib est un inhibiteur de type I. En entrant en compétition avec l'ATP, il inhibe sa liaison à la kinase. Le sorafenib, qui est un inhibiteur de type II, agit directement sur la protéine kinase en la bloquant dans une conformation inactive. Une autre stratégie s'intéresse à l'inhibition des phosphoinositides 3-kinases (PI3K) et de mTOR (*mammalian target of rapamycin*) qui sont impliqués dans la prolifération, la migration et la survie des cellules. Leur modulation induit un effet anti-angiogénique ainsi qu'une inhibition de l'expression de l'*hypoxia inducible factor* de type α (HIF α). Des analogues de la wortmannin et le LY2944002², spécifiques des PI3K, sont ainsi en phase I de développement clinique. La rapamycine (sirolimus) et ses dérivés (évérolimus), inhibiteurs de mTOR, plutôt utilisés comme immunomodulateurs, sont efficaces dans le traitement de tumeurs de sein, de rein et de foie fortement vascularisées [10]. Dans le cancer du sein, le mécanisme de modulation avancé reposerait sur une

¹ Le fragment F(ab')₂ correspond à la partie spécifique de l'antigène (le paratope) de l'immunoglobuline. Il s'agit du fragment dépourvu des parties Fc qui se fixent aux récepteurs qui leurs sont spécifiques. Il est donc dépourvu d'activité activatrice mais conserve l'activité de reconnaissance antigénique.

² 2-(4-morpholinyl)-8-phenyl-4H-1-benzopyran-4-one.

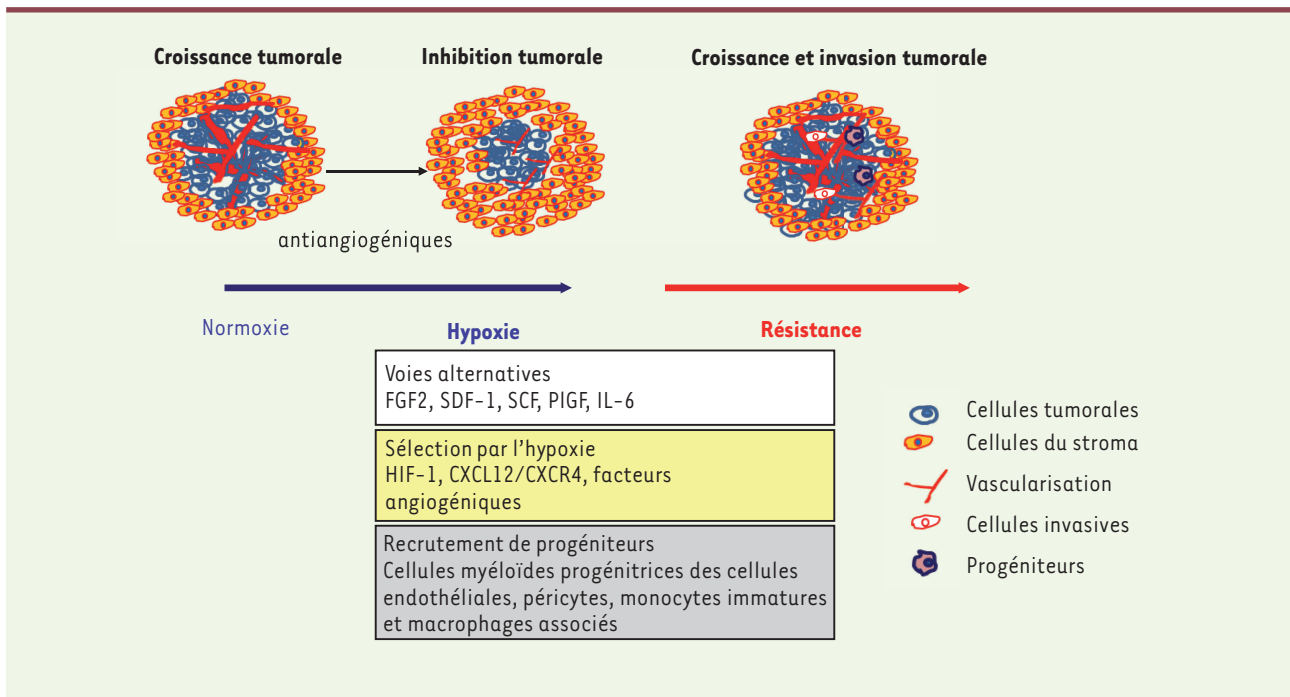


Figure 1. Les mécanismes de résistance de la cellule endothéliale aux agents anti-angiogéniques. Les cellules endothéliales présentes au sein de la tumeur et soumises aux traitements anti-angiogéniques (anti-VEGF [*vascular endothelial growth factor*] ou inhibiteurs de tyrosine kinases) en association à une chimiothérapie peuvent, après une première réponse, développer une résistance aux agents anti-angiogéniques par le biais de l'hypoxie, des voies alternatives de la néoangiogenèse, en stimulant des facteurs angiogéniques autres que le VEGF (le *fibroblast growth factor-2* [FGF2], le *stromal derived factor-1* [SDF-1], le *stem cell factor* [SCF], le *placenta growth factor* [PIGF], l'interleukine-6 [IL-6]), ou via le facteur *hypoxic inducible factor* (HIF-1) qui les stimule. D'autres voies, indépendantes de la néoangiogenèse, peuvent également prendre le relai par le recrutement de précurseurs endothéliaux ou par la stimulation de certaines voies de signalisation, en général impliquées dans l'invasion tumorale. CXCL12/CXCR4 : *chemokine (C-X-C motif) ligand 12/C-X-C chemokine receptor type 4* (d'après Giuliano et Pagès, modifié de [31]).

inactivation de la voie mTOR chez les patientes ayant une hormone-résistance acquise liée à un *switch* de signalisation. La rapamycine a également un effet bénéfique, comparée aux traitements classiques, dans le rejet des greffes de rein et dans la prévention de l'apparition des tumeurs post-transplantation [11]. Cet immunosuppresseur agit en bloquant la synthèse de HIF-1 α et en inhibant mTOR. Des essais cliniques réalisés pour le traitement du cancer du rein métastatique utilisant des analogues de la rapamycine (temsirolimus ou évérolimus selon que le mode d'administration soit intraveineux ou oral) montrent une amélioration de la survie des patients [9].

Les mécanismes de résistance aux agents antiangiogéniques impliquant la néoangiogenèse

Les mécanismes alternatifs dépendant de la synthèse de facteurs proangiogéniques

Le mécanisme de résistance reposant sur la synthèse de facteurs proangiogéniques est l'un des premiers à avoir été mis en évidence après un traitement ciblant spécifiquement la voie du VEGF. Bien que le VEGF soit le principal facteur angiogénique impliqué dans le développement tumoral, d'autres facteurs sont exprimés lors de la phase

tardive de l'angiogenèse, comme le FGF2 (*fibroblast growth factor 2*). En effet, le FGF2 (et non le VEGF), en synergie avec le PDGF-BB (*platelet-derived growth factor-BB*), intervient dans la maturité et la stabilité des vaisseaux. Il module la synthèse du récepteur au PDGF sur les cellules endothéliales ou sur les cellules de muscle lisse (péricytes) dont il potentialise la migration [11]. Il augmente également l'interaction entre les cellules par un mécanisme impliquant la VE(*vascular endothelial*)-cadhérine, renforçant ainsi l'intégrité des nouveaux vaisseaux formés. Le FGF jouerait aussi un rôle de régulateur en amont en stimulant l'expression du VEGF dans les cellules endothéliales et celles du stroma. Dans un modèle de muscle ischémié, *in vitro* et *in vivo*, il augmente l'expression du HGF (*hepatocyte growth factor*) [13]. Dans un autre modèle préclinique de cancer de pancréas, on observe, à la suite de l'administration d'anti-VEGF, un pic de FGF plasmatique qui est associé à une néoangiogenèse secondaire [14, 15]. D'autres facteurs angiogéniques dont le *stromal derived factor-1* (SDF-1), le *stem cell factor* (SCF), le *placental growth*

factor (PIGF) et l'interleukine-6 (IL-6) peuvent également compenser une inhibition de la voie du VEGF. L'ensemble de ces facteurs constituerait donc, au sein de la tumeur, un microenvironnement favorable permettant de stimuler une angiogenèse indépendante de celle impliquant le VEGF et son récepteur VEGF-R2 [16]. Les conditions d'hypoxie générées par une première phase de réponse antiangiogénique, pourraient être à l'origine de cette indépendance des tumeurs vis-à-vis du VEGF via l'expression du FGF1 et 2, de l'éphrine A1 et A2 et de l'ANG1 [14]. Des effets synergiques entre ces différents facteurs permettent également de relayer le processus angiogénique. C'est, par exemple, le cas entre le PDGF-BB et le FGF [16]. Des stratégies d'inhibition conjointe de la voie du VEGF et de celles d'autres facteurs angiogéniques, comme par exemple celle du PIGF, ont ainsi été proposées [17, 18] (Figure 1) (→).

(→) Voir la Nouvelle de A. Galaup et S. Germain, *m/s* n° 5, mai 2008, page 459

L'hypoxie

Les traitements antiangiogéniques réduisent la formation des microvaisseaux et augmentent les zones nécrotiques, marqueurs indirects des régions hypoxiques au sein de la tumeur [5, 19]. Une augmentation de l'expression de HIF-1 α (*hypoxia inducible factor α*) a été mise en évidence à ce niveau. En activant leur synthèse, HIF-1 α module la production de facteurs angiogéniques comme le VEGF et le PIGF, et leur récepteur VEGF-R1, le FGF2 et le SDF-1 (*stromal cell-derived factor 1*, aussi appelé CXCL12 [*chemokine (C-X-C motif) ligand 12*]), et son récepteur CXCR4 (*chemokine [C-X-C motif] receptor 4*) [19]. L'augmentation de HIF-1 α permet également le recrutement des péricytes en favorisant la synthèse du PDGF et de l'ANG1 [20]. HIF-1 α régule d'autre part l'expression de *MNNG HOS transforming gene c-MET* (également appelé *hepatocyte growth factor receptor* [HGFR]), le récepteur de l'HGF, augmentant ainsi la résistance des cellules tumorales aux inhibiteurs de kinases [21, 22]. Nous avons montré que l'hypoxie, induite par les traitements antiangiogéniques, génère également une résistance qui est liée à l'augmentation du nombre de cellules tumorales progénitrices dans les zones périnécrotiques [22].

Les mécanismes de résistance aux agents anti-angiogéniques indépendants de la néoangiogenèse

Le recrutement des précurseurs endothéliaux

L'apparition de zones d'hypoxie dans la tumeur, à la suite des traitements anti-angiogéniques, induit le recrutement de cellules dérivées de la moelle osseuse comme les cellules de type myéloïdes, des précurseurs endothéliaux et des péricytes, ainsi que les monocytes immatures et les macrophages associés aux tumeurs. Cependant les données cliniques relatives au recrutement de ces cellules en réponse aux traitements antiangiogéniques, ainsi que celles concernant la présence d'éventuels marqueurs moléculaires de réponse à ces traitements, restent encore rares. Nous avons développé dans notre laboratoire, des modèles de xéno greffes de tumeurs fraîches de cancer du rein chez la souris athymique (*patient derived xenograft* ou PDX). Grâce à ces souris (traitées par sunitinib et présentant des profils de

sensibilité variable à cette drogue), nous avons montré qu'il existait une corrélation positive entre le nombre de cellules progénitrices CD133⁺/CXCR4⁺ présentes dans les zones périnécrotiques et le pourcentage de nécrose au sein d'une tumeur [24]. Ces progéniteurs libèrent des facteurs angiogéniques qui favorisent des phénomènes de compensation à l'hypoxie. Des cellules de types myéloïdes (CD11b⁺Gr1⁺) sont retrouvées dans les tumeurs et dans le sang des souris portant des xéno greffes. De telles cellules sont également observées dans la rate de certains patients traités pour des tumeurs vascularisées [25]. La production de plusieurs facteurs (IL-6, SDF-1, G-CSF, etc.) qui sont sécrétés par des cellules du stroma sous l'effet de l'hypoxie, favoriserait le recrutement de ces cellules.

Les autres voies de signalisation

Des voies de signalisation alternatives, indépendantes de l'expression de facteurs angiogéniques, permettent également d'induire une résistance, comme la voie des MAPK qui est activée à la suite d'un traitement au sorafenib [26]. Une augmentation de la concentration intracellulaire en Ca²⁺ est également à l'origine de la migration et de la prolifération des cellules progénitrices [28]. Des activations indirectes de voies impliquant STAT3 (*signal transducer and activator of transcription 3*) ou le récepteur de type tyrosine kinase c-MET, sont également observées dans les cellules tumorales à la suite d'une hypoxie intratumorale, participant au processus de résistance de la tumeur aux traitements antiangiogéniques [28, 29]. La comparaison de l'analyse transcriptomique de glioblastomes résistants au bevacizumab avec d'autres, sensibles au traitement, issus d'un même patient, révèle une surexpression de c-MET. Parallèlement, une augmentation de sa phosphorylation ainsi que celle de c-MET-FAK (*focal adhesion kinase*) et STAT 3 est observée. Un traitement long par le bevacizumab de glioblastomes xéno greffés chez la souris athymique induit également une surexpression de c-MET. Son ciblage par un siARN (*small interfering RNA*) permet de remédier à la résistance, d'inhiber l'invasion et la survie de ces cellules en condition hypoxique, et rend les tumeurs sensibles au bevacizumab [15].

Directions futures pour les traitements antiangiogéniques

Les nouvelles voies de signalisation

Chez la souris, la résistance aux traitements anti-VEGF fait intervenir la stimulation de différentes voies de signalisation (Figures 1 et 2). Une augmentation de

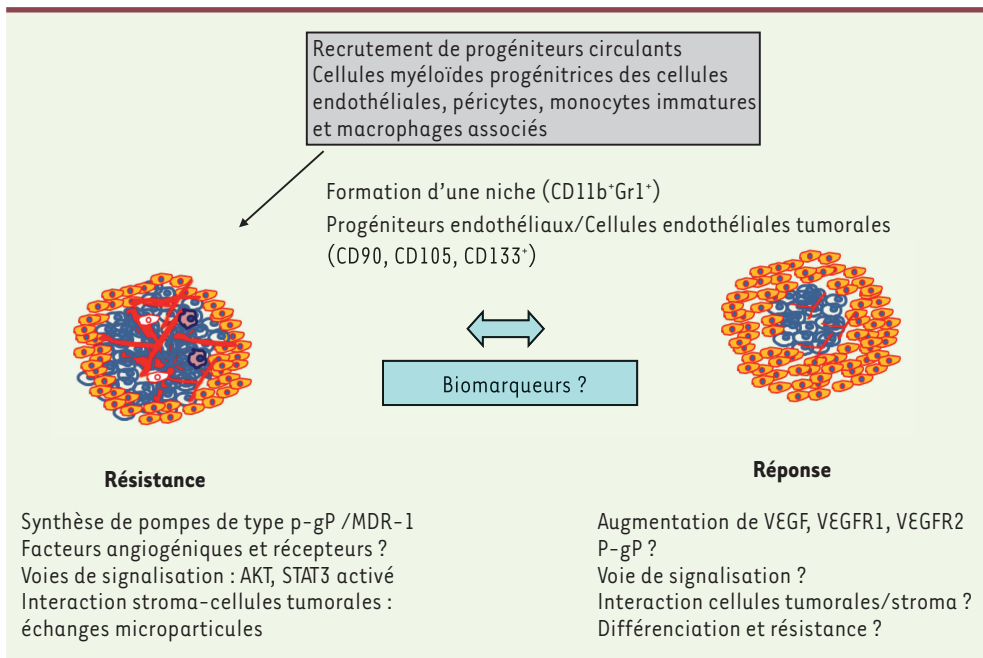


Figure 2. Participation des progéniteurs endothéliaux à la résistance aux agents anti-angiogéniques. La participation des progéniteurs endothéliaux dans la résistance fait intervenir plusieurs voies potentielles. Les marqueurs moléculaires relatifs à la néoangiogenèse sont à considérer, comme le VEGF (*vascular endothelial growth factor*) et ses récepteurs (VEGFR1/2), le degré de différenciation des progéniteurs ainsi que l'infiltration de lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques (LT8) dans la tumeur et, plus généralement, leur interaction avec les autres cellules présentes dans

la tumeur. Plusieurs voies sont possibles. Elles font intervenir les pompes à efflux et autres échanges membranaires avec les cellules tumorales, la séquestration des drogues par les lysosomes ou la stimulation de voies de signalisation comme le *MNNG HOS transforming gene* (c-Met), la protéine kinase B (AKT) ou le *signal transducer and activator of transcription 3* (STAT3). P-gP : glycoprotéine P, aussi appelée MDR-1 : *multidrug resistance protein 1*.

l'expression de plusieurs chimiokines proangiogéniques comme CXCL7 [30], CXCL8 ou IL-8 [29], et de leur récepteurs CXCR1-2, exprimés par les cellules endothéliales mais aussi au niveau des cellules tumorales et des cellules du système immunitaire, est observée [18, 30]. La lymphangiogenèse tumorale, *via* la surexpression du VEGFC, est également accrue. Une inhibition de l'ensemble de ces voies par des agents comme le SB225002, un inhibiteur des récepteurs couplés aux protéines G, que sont CXCR-1 et -2, s'avère ainsi être beaucoup plus efficace en combinaison à des traitements classiques de type anti-VEGF pour traiter certains cancers [5]. L'association de plusieurs ciblages complémentaires, fonction de l'implication de certains récepteurs dans l'invasion comme c-MET ou IGF-1R (*insulin-like growth factor 1 receptor*) par exemple, ouvre donc de nouvelles voies en combinaison avec les traitements antiangiogéniques [15].

Les échanges de microparticules et la présence de pompes à efflux sur les cellules endothéliales

De nouvelles perspectives d'étude concernent le rôle de l'autophagie qui a été mise en évidence dans des glioblastomes et qui est induite par la surexpression de l'HIF-1 α provoquée par l'hypoxie des tumeurs traitées par des agents anti-VEGF [32]. En effet, au cours du développement tumoral, les besoins en nutriments augmentent. L'autophagie permet ainsi aux cellules de survivre avant l'induction de l'angiogenèse, en dégradant les protéines et les organites qui ne leur sont pas essentiels. La séquestration dans des lysosomes de cellules tumorales, de l'inhibiteur sunitinib, constitue ainsi un mécanisme de résistance au traitement [33]. Les cellules inflammatoires, nerveuses et endothé-

liales peuvent générer des microparticules qui peuvent également intervenir dans l'angiogenèse tumorale [34]. Après échanges de ces microparticules entre les cellules « normales » et les cellules cancéreuses, des pompes d'efflux aux agents de chimiothérapies, de type MDR (*multi drug resistant*), pourraient ainsi être acquises et exprimées à la surface des cellules tumorales [34]. Ainsi la glycoprotéine-P (P-gp ou *ATP-binding cassette, sub-family B [MDR/TAP] member 1* [ABCB1]) pourrait être échangée entre les cellules tumorales d'adénocarcinome mammaire résistantes à la doxorubicine et les cellules endothéliales microvasculaires (cellules de la lignée HMEC [*human microvascular endothelial cell*]) [36]. ABCB1 participerait aussi aux mécanismes de séquestration du sunitinib dans les lysosomes résultant d'une autophagie incomplète des cellules tumorales de rein [36]. Ces observations permettent d'envisager l'emploi du sunitinib en association avec des inhibiteurs de la formation des lysosomes, des pompes ABCB1 et/ou du protéasome, dans les traitements des ccRCC. Nous avons récemment montré qu'ABCB1 était présent sur les cellules HMEC traitées à la doxorubicine. [38]. Ces pompes sont en effet exprimées à la surface des cellules endothéliales isolées de xéno greffes de cellules tumorales humaines (lignée MDA-MB-435) dans des souris nudes (dépourvues de système immunitaire) pré-traitées avec des petites doses de doxorubicine avant

la greffe [38]. Ces cellules endothéliales, traitées à la doxorubicine et exprimant ABCB1, présentent des résistances croisées aux agents de chimiothérapie comme l'étoposide (Vépéside® ou Etopophos® ou Cell-top®), mais également au sunitinib [39, 40]. Ces résultats montrent la complexité des mécanismes qui peuvent intervenir dans l'acquisition de cette résistance. Ils mettent également en relief l'instabilité génétique de la cellule endothéliale dans un contexte de culture cellulaire et/ou d'angiogenèse tumorale.

L'étude de la différenciation des progéniteurs

L'utilisation de la thérapie antiangiogénique a longtemps été considérée comme une solution à la résistance en raison de la stabilité génétique des cellules endothéliales dans les tumeurs. Cependant, si on les compare aux cellules endothéliales saines, ces cellules sont anormales, ce qui a conduit à établir une différence entre des cellules endothéliales dites « tumorales » et des cellules endothéliales dites « normales ». Des observations portant sur des cellules endothéliales issues de xéno greffes de souris montrent que ces dernières peuvent être aneuploïdes et présenter de multiples centrosomes et de larges noyaux hétérogènes [41]. Cette hétérogénéité des cellules endothéliales pourrait provenir d'une différenciation des cellules tumorales en cellules endothéliales, comme cela a été montré dans des cas de glioblastome ou dans le lymphome [42, 43]. Cependant, cette hypothèse reste controversée. Elle va à l'encontre de l'observation, dans les xéno greffes humaines, de cellules endothéliales murines, isolées et caractérisées sur des critères de spécificité d'espèce (en utilisant des sondes, des anticorps ou des réactions enzymatiques spécifiques de souris, les cellules tumorales étant elles, révélées par des sondes spécifiques de l'homme). La microdissection des cellules qui est une méthode très fine permettrait d'isoler spécifiquement les cellules endothéliales à l'intérieur de la tumeur et de réaliser des analyses avec des marqueurs d'espèce spécifiques (par exemple des sondes ARN). Au sein de la tumeur, une fraction de cellules progénitrices multipotentes exprimant CD133⁺ peuvent aussi bien être à l'origine des cellules tumorales que des cellules endothéliales [41]. De plus, les cellules endothéliales, présentes au sein d'une tumeur, sont résistantes à l'absence de sérum dans le milieu, ce qui n'est pas le cas des cellules endothéliales normales. Dans certains cas, les cellules isolées sont résistantes aux agents de chimiothérapie et des pompes de type *ATP-binding cassette*, CFTR/MRP, ABCC1 et ABCB1, ont été mises en évidence sur des cellules précurseurs exprimant les marqueurs CD90, CD105 et CD133 [41]. Une fraction de précurseurs endothéliaux peut donc contribuer à l'acquisition d'une résistance de la tumeur aux différents traitements de chimiothérapie ou antiangiogéniques. Des études récentes montrent en outre que le VEGF est capable de stimuler l'expression des pompes ABCB1 via la voie Akt (protéine kinase B) [41].

Perspectives et nouveaux modèles expérimentaux

Étant donnés les différents mécanismes de résistance possible induits par les traitements antiangiogéniques, des efforts de recherches doivent se concentrer sur l'identification de biomarqueurs fiables prédictifs de cette résistance. Ainsi, une augmentation de la

concentration plasmatique des facteurs de l'angiogenèse comme le VEGF, le PlGF, le FGF-2 ou l'IL-8, qui est le reflet d'une résistance ayant pour origine une néoangiogenèse, est considérée comme un marqueur de mauvais pronostic. La présence de ces facteurs en forte concentration dans le plasma ne permet cependant pas de prédire clairement la réponse aux agents antiangiogéniques. En effet, l'hétérogénéité des tumeurs mais aussi le polymorphisme qui existe pour les gènes codant le VEGF et ses récepteurs, constituent une partie importante de la variabilité observée dans les réponses aux traitements [44]. La complexité liée aux processus de l'angiogenèse tumorale et de la résistance aux agents qui l'inhibent, nécessite de développer des modèles précliniques qui incluent non seulement les données obtenues chez les patients mais également le contexte environnemental représentatif de la tumeur. En effet, il peut s'agir de la présence de cellules adjacentes appartenant au même tissu ou de cellules du stroma qui regroupent les fibroblastes, les cellules inflammatoires, immunitaires et vasculaires. L'étude des cellules endothéliales tumorales est limitée en raison de la difficulté de les isoler à l'aide de marqueurs qui leur sont réellement spécifiques, et de la présence éventuelle d'autres types cellulaires (péricytes, mésenchymales) qui les contaminent lors de la mise en culture des cellules après leur tri. L'utilisation du tri sur billes magnétiques sensibilisées avec des anticorps spécifiques des cellules isolées de tumeurs humaines ou de xéno greffes de souris suivi de leur remise en culture, de même que la technique de dissection au laser de cellules endothéliales présentes dans la tumeur, ont néanmoins permis de valider des modifications au niveau des cellules endothéliales. Ces cellules présentent, entre autres, une plasticité plus importante qui est spécifique du type de tumeur et de son microenvironnement. Ainsi, des différenciations cartilagineuses ont été observées au sein de cellules endothéliales tumorales obtenues à partir de tumeurs isolées du sein ou de la prostate [9]. Ces différenciations sont représentatives de microcalcifications vasculaires caractéristiques de certaines tumeurs comme celle du sein. L'origine des cellules endothéliales tumorales s'avère multiple. Elles peuvent provenir de cellules endothéliales préexistantes mais également de précurseurs endothéliaux et/ou de cellules tumorales qui mimeraient ces cellules et d'une niche de cellules mésenchymateuses et myéloïdes induisant différentes voies de l'angiogenèse. Cette multi-origine, de même que la plasticité de ces cellules, semblent contribuer fortement à l'acquisition de la résistance aux agents antiangiogéniques [8]. Nous développons de nouveaux modèles d'étude de ces cellules endothéliales tumo-

rales fondés sur l'implantation de biopsies de tumeurs mammaires ou rénales résistantes ou sensibles aux agents anti-angiogéniques, dans une souris athymique [23, 24]. Dans ces modèles, une stabilité histologique et moléculaire par rapport à la tumeur d'origine peut être observée [45] et la stabilité vis-à-vis de la réponse aux traitements antiangiogéniques est également retrouvée. Cependant, la souris athymique ne présentant pas de lymphocytes cytotoxiques (LT8, lymphocytes T CD8⁺), il est important de relier ces résultats à la nature du tissu d'origine et aux données cliniques, et d'évaluer, dans les tissus, l'infiltration des LT8 et l'expression de PDL-1 (*programmed death-ligand 1*), inhibiteur des LT8, qui peut varier selon le type de tumeur [46]. L'utilisation d'anticorps anti-PD-1 (*programmed cell death-1*)/PDL-1, associée à différentes thérapies (chimiothérapie, anti-angiogéniques et radiothérapie) permet une réversion de l'anergie, cet effet étant plus évident pour des thérapies induisant une réponse inflammatoire [47]. En effet, un rétablissement du rôle suppresseur de tumeur de plusieurs cellules immunitaires (les cellules T régulatrices et les cellules myéloïdes-dérivées de suppresseurs, MDSC) induit par des anticorps anti-PDL-1 en association avec le sunitinib a été mis en évidence [48]. Même si l'aspect immunitaire est important à considérer dans les tissus d'origine, ces xéno greffes nous permettent d'isoler et d'analyser les précurseurs endothéliaux murins recrutés au sein de la tumeur. Nous avons pu montrer récemment que les biomarqueurs PDGF-RB, la kinase RET (*rearranged during transfection*), et le récepteur VEGF-R pouvaient être reliés à la réponse au sunitinib et qu'ils étaient identifiables à la fois au niveau des cellules tumorales et sur les précurseurs endothéliaux ayant été isolés avec un anticorps spécifique du CD105⁺ murin³. La microdissection de cellules endothéliales réalisée à partir de biopsies de métastases, confirme ces observations [24]. Nous avons montré que les modèles expérimentaux précliniques que nous avons développés sont pertinents car la plupart des tumeurs aptes à se développer dans la souris athymique sont les clones les plus agressifs [23, 24, 45, 49]. La possibilité d'identifier différents marqueurs, notamment au niveau des niches de précurseurs endothéliaux, ouvre une voie nouvelle dans la prise en charge des traitements antiangiogéniques. Il est donc essentiel, dans un futur proche, de les identifier. ♦

SUMMARY

Resistance to anti-angiogenic therapy: a clinical and scientific current issue

Although the use of anti-angiogenic agents has been considered a promising strategy to block tumor growth and improve the bioavailability of drugs into the tumor, the use of most of them in clinical trials is limited. The development of resistance to some anti-angiogenic agents and their high toxicity are currently under investigations. However, the approach is still valid since this therapeutic tool has lengthened survival of patients with colon, breast, kidney, lungs and liver cancers. The identification of biomarkers in response to this family of drugs is an important area of investigation. ♦

³ CD105 est une protéine accessoire du complexe récepteur du TGFβ.

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

- Treps L, Julie Gavard J. L'angiogenèse tumorale : quand l'arbre de vie tourne mal. *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 : 989-95.
- Dudley AC. Tumor endothelial cells. *Cold Spring Harb perspect Med* 2012 ; 2 : a006536.
- Blay JJ. Le futur des thérapeutiques ciblées en oncologie : trouver les cibles, traiter tôt et au long court. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 12 : 1073-4.
- Rosenfeld PJ, Schwatz SD, Blumenkranz MS, et al. Maximum tolerated dose of a humanized anti-vascular endothelial growth factor antibody fragment for treating neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2005 ; 112 : 1048-53.
- Ahmadizar F, Onland-Moret NC, de Boer A, et al. Efficacy and safety assessment of the addition of bevacizumab to adjuvant therapy agents in cancer patients: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS One* 2015 ; 10 : e0136324.
- Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004 ; 350 : 2335-42.
- Gerber HP, Ferrara N. Pharmacology and pharmacodynamics of bevacizumab as monotherapy or in combination with cytotoxic therapy in preclinical studies. *Cancer Res* 2005 ; 65 : 671-80.
- Romero M, Brière J, de Bazelaire C, et al. Aflibercept-mediated early angiogenic changes in aggressive B-cell lymphoma. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011 ; 68 : 1135-43.
- Cook KM, Figg WD. Angiogenesis inhibitors: current strategies and future prospects. *CA Cancer J Clin* 2010 ; 60 : 222-43.
- Wang W, Jia WD, Xu GL, et al. Antitumor activity of rapamycin mediated through inhibition of HIF-1α and VEGF in hepatocellular carcinoma. *Dig Dis Sci* 2009 ; 54 : 2128-36.
- Kauffman HM, Cheriakh WS, Cheng Y, et al. Maintenance immunosuppression with target-of-rapamycin inhibitors is associated with a reduced incidence of *de novo* malignancies. *Transplantation* 2005 ; 80 : 883-9.
- Murakami M, Simons M. Fibroblast growth factor regulation of neovascularization. *Curr Opin Hematol* 2008 ; 15 : 215-20.
- Onimaru M, Yonemitsu Y, Tani M, et al. Fibroblast growth factor-2 gene transfer can stimulate hepatocyte growth factor expression irrespective of hypoxia-mediated downregulation in ischemic limbs. *Circ Res* 2002 ; 91 : 923-30.
- Casanovas O, Hicklin DJ, Bergers G, Hanahan D. Drug resistance by evasion of antiangiogenic targeting of VEGF signaling in late-stage pancreatic islet tumors. *Cancer Cell* 2005 ; 8 : 299-309.
- Bergers G, Hanahan D. Modes of resistance to anti-angiogenic therapy. *Nat Rev Cancer* 2008 ; 8 : 592-603.
- Ebos JM1, Lee CR, Christensen JG, et al. Multiple circulating proangiogenic factors induced by sunitinib malate are tumor-independent and correlate with antitumor efficacy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 17069-74.
- Nissen L1, Cao R, Hedlund EM, et al. Angiogenic factors FGF2 and PDGF-BB synergistically promote murine tumor neovascularization and metastasis. *J Clin Invest* 2007 ; 117 : 2766-77.
- Galaup A, Germain S. Les anticorps anti-PLGF : un nouvel outil thérapeutique anti-angiogénique ? *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 459-62.
- Hirota K, Semenza GL. Regulation of angiogenesis by hypoxia-inducible factor 1. *Crit Rev Oncol Hematol* 2006 ; 59 : 15-26.
- Rapisarda A, Melillo G. Role of the hypoxic tumor microenvironment in the resistance to anti-angiogenic therapies. *Drug Resist Updat* 2009 ; 12 : 74-80.
- Wang W, Li Q, Yamada T, et al. Crosstalk to stromal fibroblasts induces resistance of lung cancer to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Clin Cancer Res* 2009 ; 15 : 6630-8.
- Ide T, Kitajima Y, Miyoshi A, et al. Tumor-stromal cell interaction under hypoxia increases the invasiveness of pancreatic cancer cells through the hepatocyte growth factor/c-Met pathway. *Int J Cancer* 2006 ; 119 : 2750-9.
- Varna M, Gapihan G, Feugeas JP, et al. Stem cells increase in numbers in perinecrotic areas in human renal cancer. *Clin Cancer Res* 2015 ; 21 : 916-24.
- Bousquet G, Varna M, Ferreira I, et al. Differential regulation of sunitinib targets predicts its tumor-type-specific effect on endothelial and/or tumor cell apoptosis. *Cancer Chemother Pharmacol* 2013 ; 72 : 1183-93.

RÉFÉRENCES

25. Joyce JA, Pollard JW. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nat Rev Cancer* 2009 ; 9 : 239-52.
26. Knievel J, Schulz WA, Greife A, et al. Multiple mechanisms mediate resistance to sorafenib in urothelial cancer. *Int J Mol Sci* 2014 ; 15 : 20500-17.
27. Moccia F, Lodola F, Dragoni S, et al. Ca²⁺ signalling in endothelial progenitor cells: a novel means to improve cell-based therapy and impair tumour vascularisation. *Curr Vasc Pharmacol* 2014 ; 12 : 87-105.
28. De Groot J, Liang J, Kong LY, et al. Modulating antiangiogenic resistance by inhibiting the signal transducer and activator of transcription 3 pathway in glioblastoma. *Oncotarget* 2012 ; 3 : 1036-48.
29. Sennino B, Ishiguro-Oonuma T, Wei Y, et al. Suppression of tumor invasion and metastasis by concurrent inhibition of c-Met and VEGF signaling in pancreatic neuroendocrine tumors. *Cancer Discov* 2012 ; 2 : 270-87.
30. Grepin R, Guyot M, Jacquin M, Durivault, et al. Acceleration of clear cell renal cell carcinoma growth in mice following bevacizumab/avastin treatment: the role of CXCL cytokines. *Oncogene* 2012 ; 31 : 1683-94.
31. Giuliano S, Pages G. Mechanisms of resistance to anti-angiogenesis therapies. *Biochimie* 2013 ; 95 : 1110-9.
32. Hu YL, Jahangiri A, De Lay M, Aghi MK. Hypoxia-induced tumor cell autophagy mediates resistance to anti-angiogenic therapy. *Autophagy* 2012 ; 8 : 979-81.
33. Gotink KJ, Broxterman HJ, Labots M, et al. Lysosomal sequestration of sunitinib: a novel mechanism of drug resistance. *Clin Cancer Res* 2011 ; 17 : 7337-46.
34. Kim HK, Song KS, Chung JH, Lee KR, et al. Platelet microparticles induce angiogenesis *in vitro*. *Br J Haematol* 2004 ; 124 : 376-84.
35. Rafii A, Mirshahi P, Poupot M, et al. Oncologic trogocytosis of an original stromal cells induces chemoresistance of ovarian tumours. *PLoS One* 2008 ; 3 : e3894.
36. Dong Y, Pan Q, Jiang L, et al. Tumor endothelial expression of P-glycoprotein upon microvesicular transfer of TrpC5 derived from adriamycin-resistant breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2014 : 446 : 85-90.
37. Giuliano S, Cormerais Y, Dufies M, et al. Resistance to sunitinib in renal clear cell carcinoma results from sequestration in lysosomes and inhibition of the autophagic flux. *Autophagy* 2015 ; 11 : 1891-904.
38. Huang L, Perrault C, Coelho-Martins J, et al. Induction of acquired drug resistance in endothelial cells and its involvement in anticancer therapy. *J Hematol Oncol* 2013 ; 6 : 49.
39. Huang L, Hu C, Di Benedetto M, et al. Cross-drug resistance to sunitinib induced by doxorubicin in endothelial cells. *Oncol Lett* 2015 ; 9 : 1287-92.
40. Huang L, Huang L, Hu C, et al. Induction of multiple drug resistance in HMEC-1 endothelial cells after long-term exposure to sunitinib. *Oncol Targets Ther* 2014 ; 7 : 2249-55.
41. Hida K, Akiyama K, Ohga N, et al. Tumour endothelial cells acquire drug resistance in a tumour microenvironment. *J Biochem* 2013 ; 153 : 243-9.
42. Cheng L, Huang Z, Zhou W, et al. Glioblastoma stem cells generate vascular pericytes to support vessel function and tumor growth. *Cell* 2013 ; 153 : 139-52.
43. Streubel B, Chott A, Huber D, et al. Lymphoma-specific genetic aberrations in microvascular endothelial cells in B-cell lymphomas. *N Engl J Med* 2004 ; 351 : 250-9.
44. Schneider BP, Wang M, Radovich M, et al. Association of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor-2 genetic polymorphisms with outcome in a trial of paclitaxel compared with paclitaxel plus bevacizumab in advanced breast cancer: ECOG 2100. *J Clin Oncol* 2008 ; 26 : 4672-8. Erratum in: *J Clin Oncol* 2009 ; 27 : 3070.
45. Bousquet G, El Bouchtaoui M, Leboeuf C, et al. Tracking sub-clonal TP53 mutated tumor cells in human metastatic renal cell carcinoma. *Oncotarget* 2015 ; 6 : 19279-89.
46. Mahoney KM, Rennett PD, Freeman GJ. Combination cancer immunotherapy and new immunomodulatory targets. *Nat Rev Drug Discov* 2015 ; 14 : 561-84.
47. Chen L, Han X. Anti-PD-1/PD-L1 therapy of human cancer: past, present, and future. *J Clin Invest* 2015 ; 125 : 3384-91.
48. Ozao-Choy J, Ma G, Kao J, et al. The novel role of tyrosine kinase inhibitor in the reversal of immune suppression and modulation of tumor microenvironment for immune-based cancer therapies. *Cancer Res* 2009 ; 69 : 2514-22.
49. Varma M, Bousquet G, Ferreira I, et al. Stability of preclinical models of aggressive renal cell carcinomas. *Int J Clin Exp Pathol* 2014 ; 7 : 2950-62.

TIRÉS À PART

M. Di Benedetto

Possédées du malin au Moyen-Âge, les sorcières hystériques sont vouées au bûcher. Enfermées au XVII^e siècle, maltraitées, elles rejoignent la Cour des Miracles de l'Hospice de la Vieillesse-Femmes à la Salpêtrière... Jusqu'à ce que le Dr Jean-Martin Charcot (1825-1893) mène le combat qui transforme l'ancien hospice en hôpital : l'École de la Salpêtrière de Paris est née, qui devient lieu de recherche, d'enseignement et de soins, de renommée internationale.



ISBN : 978-2-7598-1268-4

240 pages

20 €

BON DE COMMANDE

Jean Martin Charcot n'a pas bonne presse, et pourtant... Hystérie et folie traversent les siècles, prenant les formes de « l'air du temps ». De l'utérus migrateur d'Hippocrate aux recherches neurologiques de Charcot. Du désir inconscient avec Freud à la jouissance du parlêtre chez Lacan... C'est à cette traversée historique et conceptuelle que nous convie cet ouvrage.

À retourner à EDP Sciences, 109, avenue Aristide Briand, 92541 Montrouge Cedex, France
Tél. : 01 41 17 74 05 - Fax : 01 49 85 03 45 - E-mail : edk@edk.fr

NOM : Prénom :

Adresse :

Code postal : Ville :

Pays :

Fonction :

Je souhaite recevoir

Folies à la Salpêtrière : 20 € + 3 € de port = 23 € TTC

en exemplaire, soit un total de €

Par chèque, à l'ordre de EDP Sciences

Par carte bancaire :

Visa Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Date d'expiration : | | | | | | | | | | | | | | N° de contrôle au dos de la carte : | | | | | | | | | | | | | | Signature :