



**HAL**  
open science

## Interactions entre les cellules tumorales et le microenvironnement tissulaire: “ Quand le dialogue remplace le monologue ”

P.-M. Martin, L'h. Ouafik

### ► To cite this version:

P.-M. Martin, L'h. Ouafik. Interactions entre les cellules tumorales et le microenvironnement tissulaire: “ Quand le dialogue remplace le monologue ”. 29<sup>e</sup> journées de la Société Française de Sénologie et de Pathologie Mammaire (SFSPM), Avignon, 2007. Cancer du sein avancé, Nov 2007, Avignon, France. pp.97. hal-03575117

**HAL Id: hal-03575117**

**<https://hal.science/hal-03575117>**

Submitted on 15 Feb 2022

**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.

# Interactions entre les cellules tumorales et le microenvironnement tissulaire : « Quand le dialogue remplace le monologue »

P.-M. Martin et L'H. Ouafik

Dès 1970, le cancer du sein a été une des premières pathologies tumorales à bénéficier d'une approche analytique biologique à application clinique promue par le groupe du Pr W.L. McGuire. Le plan cancer décidé par le Président R. Nixon a permis le développement de programmes de recherche qui se sont concrétisés par des progrès rapides dans la compréhension des processus de cancérogenèse et tumorigenèse.

Nous développons un second aspect de la pathologie tumorale, montrant l'importance à ce stade de la pathologie des interactions entre les cellules tumorales et leur microenvironnement tissulaire. Ces interactions présentent deux phases caractéristiques :

- une où le microenvironnement est non permissif, les cellules tumorales sont contenues et contraintes dans leur développement à une prolifération minimale *in situ*;

- la seconde est une phase de bascule où le microenvironnement devient permissif et coopérateur. Le développement tumoral devient rapide, invasif, métastatique.

Cet aspect fondamental d'interaction tumeur/microenvironnement a été résumé par R.A. Weinberg « *Quand le dialogue remplace le monologue* ».

## Généralités

Depuis 1970, nos connaissances sur la biologie du cancer ont progressé de façon extrêmement importante grâce à une approche analytique moléculaire

de plus en plus performante et le développement des techniques permettant des analyses à haute densité multiparamétriques, avec, dans un premier temps, la mise en évidence des gènes appelés oncogènes, gènes suppresseurs, puis le décryptage progressif des voies associées aux réceptivités cellulaires activées, voies transmettant en cascade un signal à l'intérieur de la cellule pour déclencher au niveau du noyau une réponse spécifique aux stimulus extérieurs. Mais ceci s'est accompagné d'une vue réductionniste du phénomène cancéreux, validée sur des modèles cellulaires *in vitro*, à savoir qu'une dérégulation de gènes spécifiques (en perte de gain de fonction) se traduit dans une composante cellulaire épithéliale proliférative et invasive. Cependant, depuis 1970 en parallèle, s'est développé un concept plus complexe d'interaction hétérotypique épithélium/stroma environnant sur le plan physiologique, puis sur le plan pathologique. Moins mis en exergue, ce concept a débuté dans quelques équipes, celle de Cunha en 1971-72 (1), puis le groupe de Bissell en 1981-82 (2). Il a été repris et développé progressivement dans d'autres groupes. Dans le même temps, parmi les interactions spécifiques tumeur-microenvironnement émergeait le concept de néo-angiogenèse comme élément fondamental et indispensable au développement tumoral. Le champ de l'angiogenèse tumorale a été ouvert à l'étude expérimentale dans les années 1970 par les travaux de Gullino au NCI à Frederick puis Folkman au Harvard Medical School (3-4).

Dès 1973, Cunha montre que la composante cellulaire embryonnaire pluripotente est, en fin de migration, différenciée et spécialisée en fonction du stroma du site de colonisation et de localisation définitive (5, 6). Ainsi, la composante embryonnaire migrante de la crête neurale s'immobilisant dans un stroma de la chaîne mammaire va donner naissance au bourgeon embryonnaire épithélial mammaire puis à la glande mammaire. Cette même composante épithéliale expérimentale mise en contact avec un stroma de localisation urogénital prostatique ou un stroma de localisation vésicale donnera soit un bourgeon embryonnaire et le développement d'une glande prostatique, soit un bourgeon embryonnaire et le développement d'un épithélium vésical. Le groupe de Cunha, étudiant avec des modèles *in vitro*, *in vivo* le développement et la fonction de la glande prostatique met en évidence le rôle fondamental de la matrice extracellulaire et du stroma dans la différenciation fonctionnelle tissulaire et la réponse à la stimulation androgénique (7). Un travail identique sur la glande mammaire a été fait par le groupe de Bissell (8, 9). Ce groupe montre le rôle de la matrice extracellulaire dans la polarisation et la fonction différenciée de l'épithélium. Dans des modèles de cultures tridimensionnelles par ailleurs, ils mettent en évidence la possibilité

de modulation de la différenciation induite par la modification des composants de la matrice extracellulaire. Ces travaux ont été confirmés indépendamment par d'autres groupes, sur des modèles de cellules tumorales humaines hormonosensibles (10), avec la mise en évidence que les facteurs régulant la différenciation des cellules épithéliales (activine/inhibine) sont modulés par les interactions stroma épithélium (11). L'étude des modèles expérimentaux *in vivo* démontre que les interactions hétérotypiques sont à double sens (12), soit une molécule informative sécrétée par l'épithélium normal ou pathologique (tel le PDGF) a pour cible dans le compartiment stromal, les cellules fibroblastiques, myofibroblastiques, macrophages qui expriment le récepteur spécifique à ce facteur (PDGF) ; soit en sens inverse les cellules stromales peuvent émettre des facteurs dont les cibles sont les cellules épithéliales. Ainsi, les facteurs IGF-1 et -2, sécrétés par les cellules stromales ciblent les cellules épithéliales qui seules expriment les récepteurs spécifiques de ces facteurs. Les facteurs IGF-1 et -2 jouent un rôle extrêmement important de survie et trophicité, dans les zones et les périodes d'hypoxie cellulaire et tissulaire. Dans ces interactions intervient le rôle de la matrice extracellulaire (EMC), celle-ci est un réseau complexe formé de différents composants de type collagénique (I, IV...), macromoléculaire (laminine, fibronectine, vitronectine), mais également heparanglycanes/protéoglycanes (13). Ces différentes macromolécules jouent un rôle dans l'attachement, la polarisation des cellules épithéliales et leur différenciation. De plus, les heparanglycanes/protéoglycanes jouent un rôle de compartiment de stockage grâce à leur forte polarité. Cette caractéristique leur permet de trapper des molécules de charge complémentaire. De ce fait, les facteurs de croissance sécrétés par la composante épithéliale ou stromale sont séquestrés sous forme de promolécules ou de molécules actives. Les facteurs séquestrés peuvent jouer secondairement un rôle avec une biodisponibilité rapide en cas de lésion tissulaire, leur libération étant consécutive à la destruction ou remodelages des constituants de la matrice extracellulaire par des protéases/héparinase. Ces facteurs de croissance jouent un rôle extrêmement important dans la réparation physiologique tissulaire post-traumatique, qui se déroule selon trois processus et une durée limitée dans le temps, 10 à 21 jours :

- le premier processus est le phénomène physiologique de réparation tissulaire post-traumatique ;
- le second est le processus de cicatrisation qui intervient au terme de la réparation tissulaire avec la reconstruction de la continuité épithéliale ;
- le troisième processus est la réparation de capillaires lésés par le développement de la néo-angiogenèse et rétablissement d'une vascularisation fonctionnelle.

Ainsi, les cellules stromales, tels les fibroblastes, macrophages, cellules endothéliales quiescentes, dans les tissus normaux différenciés, sont activées et jouent un rôle capital dans ces trois processus physiologiques.

Si, dans un premier temps, les interactions hétérotypiques, épithélium/microenvironnement, ont été étudiées par les groupes de Cuhna et Bissell, dans le développement physiologique et la fonction différenciée tissulaire, ces mêmes groupes ont démontré secondairement que ces mêmes interactions hétérotypiques sont, certes, modifiées, réduites mais restent présentes dans le développement tumoral. Ils démontrent que quand bien même la cellule cancéreuse acquiert des caractéristiques d'indépendance à la signalisation de régulation externe, une indépendance à l'ancrage cellulaire et perte de polarisation, la cellule épithéliale tumorale reste cependant dépendante de ses interactions avec le stroma (14-25). Les processus physiologiques complexes associés à ces interactions hétérotypiques ne sont pas éliminés mais détournés de leur finalité physiologique au profit de la croissance tumorale.

La complexité des interactions hétérotypiques, épithélium/stroma mise en évidence dans les processus pathologiques tumoraux posent deux questions :

– est-ce que cette signalisation complexe hétérotypique se construit ou émerge petit à petit « *de novo* » durant la tumorigénèse avec une complexité progressive lors du passage du statut de cellule normale à cellule transformée, de cellule transformée à cellule en prolifération autonome *in situ* puis en prolifération invasive et métastatique ?

– ou est-ce que la cellule tumorale exploite des programmes biologiques physiologiques normaux préexistants en les détournant à son avantage ?

Il semble que ce soit cette hypothèse qui soit la plus vraisemblable (26-28).

## **Réparation tissulaire : fibroblastes/myofibroblastes**

En 1986, Dvorak montre que le processus de réparation tissulaire pouvait être similaire à certaines interactions observées entre tumeurs et microenvironnement. Si le processus physiologique de réparation tissulaire est limité dans le temps, le processus pathologique peut perdurer plusieurs années avec le développement tumoral. Dvorak le résume en ces termes : « la tumeur est un processus de réparation tissulaire qui ne cicatrise pas... » (29).

## Réparation tissulaire physiologique

Pour mieux comprendre la similitude entre interactions hétérotypiques présentes dans le développement d'un processus tumoral *in situ* puis invasif et le processus de réparation tissulaire post-traumatique, deux aspects sont à prendre en compte :

1. le rôle de la composante stromale ;
2. le rôle de la composante épithéliale comme acteur et cible.

Au niveau du stroma, le traumatisme tissulaire entraîne une lésion avec discontinuité des capillaires, et une réaction instantanée physiologique d'agrégation plaquettaire, suivie d'une dégranulation des plaquettes avec relargage de facteurs tels : PDGF, TGF- $\beta$ 1, associé à un phénomène vasoactif important avec une perméabilité capillaire accrue entraînant une exudation et une séquestration locale du fibrinogène.

Le PDGF relargué des plaquettes est un facteur attractant et d'activation des fibroblastes du stroma les transformant en cellules activées ou myofibroblastes. Le TGF- $\beta$ 1 stimule la synthèse et la sécrétion de facteurs par les myofibroblastes, amplifiant par ailleurs le phénomène d'activation induit par le PDGF. L'activation du fibroblaste en myofibroblaste se traduit par un changement du phénotype cellulaire avec sécrétion de collagène de type III, de fibronectine, de protéoglycane, de glycoaminoglycane (30). Ces marqueurs peuvent être mis en évidence à l'examen anatomopathologique, on recouvre ce processus sous le terme de desmoplasie du stroma. Le phénomène physiologique de réparation tissulaire post-traumatique dure quelques jours (environ 10 à 21 jours), par contre, une réaction similaire desmoplasique est présente dans le stroma tumoral plusieurs mois voire plusieurs années dans la lente progression du phénomène tumoral (31).

L'activation des myofibroblastes induit la sécrétion de pro-activateur du plasminogène type urokinase, (pro uPA) qui, activé en uPA, transforme le plasminogène (proenzyme à diffusion ubiquitaire dans le stroma), en enzyme protéolytique active, la plasmine (32). En cascade, la plasmine est capable d'activer par clivage toutes les autres proprotéases, entre autres métalloprotéases sécrétées et/ou séquestrées dans la matrice extracellulaire (EMC). Cette activation en cascade permet lors de la destruction et remodelage de la matrice extracellulaire une libération et une biodisponibilité rapide de facteurs attractants et de croissance, nécessaire à la réparation tissulaire et cicatrifications. Ainsi les myofibroblastes sécrètent en plus de la pro-uPA des métalloprotéases (MMP9, MMP5) mises en jeu dans la fibrinolyse, le remodelage de la matrice extracellulaire. Un des premiers impacts des MMP5 sécrétées et activées est de libérer à partir du fibrinogène

transsudé et séquestré dans le stroma des fibrinopeptides, ceux-ci possèdent un pouvoir attractant pour les fibroblastes, mais également pour les monocytes macrophages, cellules immunitaires, éosinophiles, lymphocytes.

## Réaction stroma associé au cancer/similitude avec la réparation tissulaire

Ce phénomène détourné dans l'interaction des cellules tumorales avec leur microenvironnement permet la croissance tumorale avec l'induction d'une néo-angiogenèse tumorale et l'invasivité tumorale (33-34). Dans les modèles expérimentaux *in vivo* de xéno greffes, le recrutement des fibroblastes de l'animal hôte leur activation en myofibroblaste est essentiellement sous la dépendance du PDGF et TGF $\beta$ 1 relargués par la composante épithéliale tumorale.

Le recrutement de cellules stromales, dans la réparation tissulaire physiologique, peut être régulé par le TGF- $\beta$ 2. Par contre, dans le stroma tumoral les cellules stromales activées ne répondent plus à cette régulation par le TGF- $\beta$ 2. Il en est de même dans le stroma associé aux foyers d'hyperplasie épithéliale, qui vont évoluer à terme dans les modèles expérimentaux vers un carcinome.

Les fibroblastes associés au cancer sont une population mixte de fibroblastes et de myofibroblastes. Les analyses globales du transcriptome de cette population cellulaire mixte isolée par microdissection/capture laser, montrent une similitude étroite entre les fibroblastes/myofibroblastes associés au cancer, et les fibroblastes/myofibroblastes présents dans le phénomène de réparation tissulaire post-traumatique (35). L'étude du transcriptome des myofibroblastes de réparation tissulaire met en évidence deux types d'expressions, à savoir : un ensemble de gènes associés au cycle cellulaire et un autre ensemble de gènes ne variant pas avec le cycle cellulaire (gènes soit activés, soit réprimés). L'analyse des myofibroblastes/fibroblastes du stroma tumoral met en évidence l'expression de ces gènes invariant avec le cycle cellulaire, au sein desquels l'activateur du plasminogène type urokinase joue un rôle extrêmement important, confronté à l'évolution clinique, ils se révèlent être des facteurs cliniques pronostiques. Utilisant ces mêmes techniques de microdissection/laser capture, le groupe de Eng (36), analysant les tissus humains après dissociation des composantes épithéliales et stromales, a développé l'analyse combinée des pertes d'hétérozygotie sur la totalité du génome, soit dans la composante épithéliale isolée, soit dans la composante stromale isolée, ces analyses mettent en évidence de multiples pertes d'hétérozygotie dans la composante stromale, ainsi que la présence de mutations du gène codant pour P53 ou la phosphatase PTEN dans la composante stromale.

Les modèles expérimentaux *in vivo* permettent de mettre en évidence une autre particularité des fibroblastes activés, à savoir leur rôle capital pour une forte promotion des cellules épithéliales humaines immortalisées mais en elle-même faiblement tumorigènes. Ainsi, l'implantation en xénogreffes de cellules épithéliales humaines immortalisées par le SV40 induit chez 50 % des animaux des tumeurs avec un délai long de plus de deux mois environ. Si l'on implante ces mêmes cellules épithéliales associées à une matrice artificielle (type Matrigel), il se fait alors un recrutement lent des fibroblastes de l'hôte avec une croissance tumorale toujours lente et progressive, mais une prise dans 100 % des animaux. Si en revanche on implante ces mêmes cellules humaines immortalisées avec des myofibroblastes isolés du stroma de tumeurs humaines, on observe un développement de tumeurs dans 100 % des animaux associé à une croissance tumorale deux fois plus rapide (37).

Ces expériences qui montrent la participation importante de la composante stromale activée dans la promotion de tumeurs épithéliales sont à rapprocher des travaux d'expérimentation du groupe de Sonnenschein (38). Ce groupe démontre, dans la carcinogenèse chimique induite, que la cible première est le stroma, celui-ci est indispensable à la transformation secondaire de l'épithélium. Ainsi, dans leur modèle de xénogreffes, un stroma normal différencié ne permet qu'une transformation faible d'un épithélium normal par un carcinogène chimique, soit un contrôle négatif de la prolifération de cellules épithéliales déjà transformées par un carcinogène chimique. En revanche, dans ces mêmes modèles, un stroma anormal soit extrait de tumeur, soit modifié au préalable par irradiation ou mise en contact avec un carcinogène, permet une plus haute fréquence d'induction de la cancérogenèse chimio-induite dans la composante épithéliale normale. Enfin, un stroma anormal ou modifié œuvre en synergie avec un épithélium déjà transformé pour le développement tumoral.

## **Processus de cicatrisation : macrophages et phénomène de transition phénotypique épithélium mésenchyme (EMT)**

### **Second processus physiologique**

Un second processus physiologique, la cicatrisation tissulaire, intervient en fin de réparation tissulaire avec la reconstitution de la continuité épithéliale.



Ce processus est associé au recrutement et à l'activation d'une composante cellulaire stromale : les macrophages (38-40, 58).

Les macrophages recrutés par la première phase de réparation tissulaire sont capables de répondre dans un contexte hypoxique, par la sécrétion de trois types de facteurs : des facteurs type hereguline (HER1/EGF), protéases (MMP5-MMP9), et des facteurs angiogéniques (VEGF-interleukine 8). La première boucle d'interaction mettant en jeu HER1/EGF a pour cible la cellule épithéliale qui exprime le récepteur spécifique à HER1 (REGF) en augmentant sa prolifération. La sécrétion de MMP5-MMP9 peut avoir plusieurs impacts : le clivage de la protéine sérique de transfert IGFBP2, la destruction des matrices extracellulaires. Le clivage de la protéine IGFBP2 libère les facteurs IGF-1 et -2 qui ont également pour cible la cellule épithéliale tumorale qui exprime les récepteurs spécifiques à ces facteurs de survie et prolifération. Les métalloprotéases MMP5-MMP9 sont associées à uPA et à la boucle plasminogène/plasmine, déjà présentée, qui intervient dans la destruction des différentes composantes de la matrice extracellulaire, la libération et l'activation des pro-facteurs de croissance. Parmi ceux-ci, sont activés des facteurs de croissance dont la cible est la cellule tumorale mais également d'autres facteurs de croissance à potentialité angiogénique dont la cible est la cellule endothéliale. Dans le stroma tumoral, on retrouve des facteurs directement sécrétés par les macrophages en réponse à l'hypoxie (type VEGF-interleukine 8...), facteurs sous dépendance du facteur de transcription spécifiquement activé (stabilisé) sous hypoxie, le facteur HIF $\alpha$  (41).

L'impact des facteurs sécrétés et activés par les macrophages actifs associés à la réparation et la cicatrisation tissulaire permet la modification de la cellule épithéliale en cellule de transition épithéliale/mésenchymateuse. Ce processus physiologique (EMT) indispensable à la cicatrisation permet à la cellule épithéliale de redevenir mobilisable avec perte du phénotype épithélial différencié et polarisé (42). L'acquisition de ce phénotype particulier « mésenchyme-like » EMT exprimé par les cellules épithéliales situées dans les berges des sites de réparation tissulaire permet la restauration de la continuité épithéliale. Le phénotype EMT se traduit par une modification de la relation de la cellule activée avec les constituants de la membrane extracellulaire : perte de la polarisation, modification d'expression de molécule membranaire. Ainsi, les molécules d'adhésion cellulaire, la N-cadhérine est exprimée par la cellule EMT alors que l'expression de la E-cadhérine est réprimée dans son expression. La cellule épithéliale EMT exprime également de nouveaux récepteurs membranaires dont HGF récepteur, et le récepteur à l'urokinase. Le récepteur à HGF rend la cellule sensible à la stimulation par HGF/SF facteur sécrété par les myofibroblastes et macrophages

activés, facteur induisant la migration cellulaire et le récepteur de l'urokinase, ce dernier récepteur participe également au phénomène de migration cellulaire, par un mécanisme que nous détaillerons ultérieurement.

## Macrophages associés aux tumeurs

Depuis longtemps observés par les anatomo-pathologistes, ils sont l'objet d'un paradoxe apparent. Théoriquement, les macrophages, éléments du système immunitaire, devraient être adaptés pour contrôler ou détruire des cellules anormales de type tumoral. Or, les macrophages associés aux tumeurs sont corrélés à une évolution tumorale péjorative sur le plan expérimental et clinique. Dans les modèles expérimentaux, plusieurs interactions hétérotypiques macrophage-tumeur ont pu être démontrées. La cellule tumorale sécrète des facteurs : PDGF, CSF1 et MCP1 (40), qui sont des facteurs attractants des monocytes circulants, qui deviennent associés et activés en macrophages dans l'environnement tumoral. Les phénomènes physiologiques mis en jeu pour la cicatrisation dans le processus de réparation tissulaire sont détournés par la cellule tumorale dans le phénomène de prolifération et d'invasivité tissulaire qui se déroule en plusieurs temps (43, 44).

Les structures épithéliales conservent dans un premier temps leur matrice extracellulaire, présentent une phase d'hyperplasie/prolifération *in situ*, mais la composante cellulaire épithéliale basale (cellule myoépithéliale) disparaît progressivement, traduisant entre autre la perte de réponse au TGF $\beta$ 2 (43, 44). La cellule myoépithéliale est indispensable pour la synthèse et la structuration normale des matrices extracellulaires différenciées, elle est aussi la composante cellulaire épithéliale à partir duquel se fait le renouvellement lent du comportement épithélial. Sur le plan morphologique, la disparition sans apoptose traduit un changement phénotypique cellulaire, la cellule myoépithéliale perd sa différenciation spécifique et participe au phénomène de transition phénotypique EMT. Cette phase amorce la dégradation de la matrice extracellulaire permettant des zones micro-invasives puis invasives de la composante cellulaire tumorale (45-47).

## Phénomène inflammatoire associé au processus d'activation, réparation, cicatrisation

Durant les étapes d'activation des cellules stromales (myofibroblastes, macrophage, cellule endothéliale) mais également durant le processus EMT des cel-

lules épithéliales, on met en évidence un changement majeur dans les voies métaboliques de l'acide arachidonique et linoléique membranaires avec répression de la voie des lipoxygénases (Lox 1/2) et induction de la voie des cyclo-oxygénases (Cox 1,2).

La répression des voies lipoxygénases Lox 1/2 entraîne une disparition des produits métaboliques 15HETE de l'acide arachidonique 13HODE de l'acide linoléique qui sont associés à la différenciation cellulaire et sensibilité à l'induction de l'apoptose. L'induction de la voie des cyclo-oxygénases (Cox 1,2) entraîne en cascade l'activation des enzymes peroxydases et prostaglandines synthétases aboutissant à une surproduction de prostaglandine PGE<sub>2</sub>. Ce changement métabolique majeur démontré dans les cancers du sein dès 1980 (48) est observable dans toutes les pathologies. La surproduction de prostaglandines PGE<sub>2</sub> se traduit par un phénomène global de type inflammatoire et sur le plan cellulaire par une perte de l'inhibition de contact, prolifération cellulaire indépendante de l'attachement, répression de l'expression de la E-cadhérine et stimulation de la prolifération par induction synthèse  $\beta$ FGF/amphirégulline/EGF/protéases (49, 50). Ce changement métabolique est observable dans toutes les pathologies dans le comportement stromal activé, puis épithélial (51). Cependant dans certaines pathologies, tel le cancer du sein, ce changement métabolique intervient très précocement et de façon prévalente dans le comportement épithélial (48-52).

## Hypoxie, P53, switch angiogénique

La croissance épithéliale « *in situ* » est limitée à l'hypoxie centrale des foyers d'hyperplasie lorsque le diamètre est supérieur à 0,4 mm, distance au-delà de laquelle la diffusion passive à partir des capillaires préexistants de l'oxygène n'est plus efficace. Une fois cette limite atteinte et dépassée, l'hypoxie entraîne un arrêt de la prolifération avec zone d'apoptose et de nécrose centrale en cas de non-établissement d'une néo-angiogenèse fonctionnelle.

Le groupe de Folkman a développé un modèle d'évolution spontanée de foyers d'hyperplasie, tumeurs pancréatiques à partir d'îlots langerhansiens de cellules  $\beta$  (53-54) (modèle Rip tag modèle). Ce modèle est spontanément évolutif en fonction de l'âge de la souris. En dessous de 5 semaines, les îlots de Langerhans sont morphologiquement normaux. Entre 5 à 7 semaines, 50 % des îlots deviennent hyperplasiques avec un diamètre de 0,1 à 0,2 mm. De 7 à 12 semaines, 10 % des îlots hyperplasiques deviennent angiogéniques, ce que Folkman décrit comme le « switch angiogénique ». Enfin, entre 12

et 14 semaines, 2 % des îlots hyperplasiques et angiogéniques deviennent des tumeurs invasives.

Ce modèle met en évidence l'importance de la réponse à l'hypoxie avec la possibilité de tumeurs latentes, d'un diamètre maximum de 0,4 mm, contrôlées dans leur prolifération par l'hypoxie en cas de non-réduction de celle-ci par le développement du processus de néo-angiogenèse.

L'hypoxie cellulaire consécutive à un apport inadéquat en oxygène et nutriments entraîne un taux élevé en dioxyde de carbone, des dérivés métaboliques dont une accumulation d'acide lactique qui acidifie le pH cellulaire et péricellulaire. Cette hypoxie non contrôlée enclenche le processus d'apoptose p53 dépendant stimulé par TSP1.

En 1996, Kinzler et Vogelstein (55), étudiant les événements moléculaires intervenant dans la croissance tumorale, démontrent une haute fréquence d'induction de mutation de P53 dans les zones hypoxiques. Les mutations de p53 permettent aux cellules de résister à l'arrêt du cycle et à l'induction de l'apoptose p53 dépendante. Les cellules ayant muté et acquis un avantage de croissance et de résistance à l'hypoxie deviennent peu à peu prédominantes dans la tumeur. L'autre alternative à la reprise de la croissance tumorale est le déclenchement d'un processus de néo-angiogenèse tumorale fonctionnelle ou « switch angiogénique ».

Ceci est possible par induction d'une interaction entre foyer épithélial hyperplasique et les cellules du stroma qui sont attirées et activées dans l'environnement immédiat du foyer épithélial, prolifératif.

1. Les cellules monocytaires/macrophages sont recrutées *via* la sécrétion par les cellules épithéliales prolifératives du CSF1 (40, 56). Les macrophages activés sécrètent, entre autres, les protéases MMP5, MMP9 (57, 58), participent à la destruction de la matrice extracellulaire avec libération de facteur angiogénique séquestré type VEGF (58-60) avec l'activation de la plasmine par uPA, l'activation en cascade de nombreuses protéases, que nous avons décrite avec la destruction de la matrice extracellulaire, la libération et activation de facteurs à potentialité angiogénique tels FGF basique, TGF $\beta$ 1, PDGF herégulines dont EGFs, *heparin binding EGF*, IFN $\gamma$ .

2. Les fibroblastes activés en myofibroblastes jouent un rôle important également en sécrétant MMP5, MMP9 mais également un facteur attractant pour la cellule endothéliale la chémokine SDF1/CXCL12 (61).

L'étude morphologique microscopique met en évidence ces phénomènes d'attraction et activation cellulaire dans le stroma péri-tumoral. En 2005, une étude intéressante (62) montre l'étroite corrélation entre recrutement et acti-

vation des cellules stromales (dont les macrophages) et le développement de microvaisseaux péritumoraux.

## **Néo-angiogenèse/ cellules endothéliales/péricytes**

Le troisième processus mettant en jeu des interactions entre la tumeur et son microenvironnement est la néo-angiogenèse tumorale. Ceci a été mis en évidence par Folkman dès 1970 (3, 4, 63, 64). Une publication de synthèse de Folkman pointait dès 1990 ce processus comme étant une clef du développement tumoral et une cible thérapeutique majeure (65). Le ciblage thérapeutique devenait possible par la découverte en 1989 par quatre groupes, ce de façon indépendante du facteur majeur de la vasculogénèse et angiogénèse le VEGF (66-70). Deux notions importantes sont à rappeler.

## **Vasculogénèse**

La vasculogénèse recouvre le développement de l'arbre vasculaire dans les étapes précoces de l'embryogénèse à partir d'îlots (71) cellulaires spécifiques pluripotents composés de cellules précurseurs du système endothélial et hématopoïétique. Ces précurseurs peuvent être identifiés par des antigènes de membrane CD spécifique et communs. Durant toute l'embryogénèse, le développement de la vascularisation à partir d'îlots cellulaires précurseurs peut être observé. Ce phénomène est sous la totale dépendance du VEGF. Ainsi, dans les modèles « knock-out », l'absence d'expression des gènes VEGF A et B ou de ces récepteurs VEGFR1/VEGFR2 est létale et ne peut être remplacée par aucun autre substrat pour le développement princeps de la vascularisation embryonnaire organisée (72-75).

L'absence de VEGF et de toute expression du récepteur VEGFR2/flk1/KDR ne permet pas la première étape indispensable avec le développement des îlots primaires de cellules précurseurs pluripotentes endothéliales (74). En revanche, l'absence du second récepteur VEGFR1/flt-1 permet cette première étape mais non le développement secondaire, à partir de ces îlots de cellules différenciés, précurseurs endothéliaux, d'une vascularisation organisée (75).

Le développement, à partir d'îlots de cellules précurseurs, d'une vascularisation tissulaire s'observe durant l'embryogenèse mais jamais dans les tissus différenciés adultes. Dans l'analyse du développement du processus tumoral, des arguments de plus en plus nombreux, expérimentaux et cliniques, démontrent la reprise possible de ce processus de recrutement de cellules précurseurs pluripotents d'origine médullaire comme complément ou alternative au développement de la néo-angiogenèse tumorale à partir des capillaires préexistants.

## Angiogenèse physiologique

L'angiogenèse physiologique, quant à elle, recouvre le développement de nouveaux capillaires sanguins à partir des capillaires pré-existants. Ce processus physiologique existe durant l'embryogenèse en complément de la vasculogenèse ou indépendamment selon les tissus (76) mais c'est par contre le processus de développement et renouvellement qui s'observe seul dans l'organisme adulte :

- un marqueur spécifique de l'angiogenèse est l'expression par les cellules endothéliales des intégrines  $\alpha v \beta 3$  (77) ;

- la non-expression de  $\alpha v \beta 3$  (knock-out) bloque tout développement de l'angiogenèse ;

- chez l'adulte, l'angiogenèse est un processus physiologique qui fait partie de la réparation tissulaire post-traumatique mais joue également un rôle important dans la reproduction. L'angiogenèse physiologique vasculaire fait appel aux différents isoformes du VEGF A/B, leur récepteur spécifique VEGFR1R2, mais également à de nombreux facteurs angiogéniques FGFB, PDGF, hérogulines, amphiréguline entre autre, et leurs récepteurs cellulaires spécifiques. L'angiogenèse est contrôlée par des facteurs inhibiteurs physiologiques dont les premiers ont été mis en évidence par Folkman. La vascularisation capillaire stable à partir de laquelle va se développer la néo-angiogenèse est caractérisée par des structures capillaires où les cellules endothéliales interagissent avec les péricytes pour la synthèse des éléments de la matrice extracellulaire et le maintien d'une structure fonctionnelle. Les cellules endothéliales expriment à la surface de leur membrane externe le récepteur Tie2 récepteur spécifique des angiopoïétines. Le facteur stabilisant, l'angiopoïétine 1, est sécrété par les cellules endothéliales différenciées et agit en boucle autocrine. La liaison angiopoïétine 1/Tie2 se traduit par l'expression de molécule d'adhésion cellulaire permettant l'association cellule endothéliale-péricytes, par ailleurs, les cellules endothéliales, différenciées et stables n'expriment pas le récepteur au VEGF (78).

## Néo-angiogenèse tumorale

### *Aspect morphologique*

Sur le plan morphologique, celle-ci aboutit à une angiogenèse différente de l'angiogenèse physiologique. Les néo-capillaires tumoraux ont un diamètre trois fois plus important que ceux observés dans les tissus différenciés. Ils ont de plus une perméabilité à la fibrine dix fois plus importante que celle observée dans les capillaires physiologiques. Ces néo-capillaires tumoraux comportent par ailleurs des espaces intercellulaires fréquents et la participation des cellules tumorales à cette fraction des parois de pseudo-capillaires (vasculomimicrie) (23).

La discontinuité des néo-capillaires et la perméabilité accrue se traduisent sur le plan macroscopique par des dépôts de fibrine péricapillaire et intratumoral. Une organisation chaotique s'observe également au niveau des néo-lymphatiques tumoraux et péri-tumoraux, leur développement met en jeu les VEGF, C et D et le récepteur VEGFR3 exprimé sur les cellules constitutives des capillaires lymphatiques. La structure de ces néocapillaires non associée à une membrane basale est faiblement efficace car facilement écrasée par la pression intratumorale élevée qui augmente régulièrement. L'augmentation de pression intratumorale est consécutive au non-drainage lymphatique efficace associé à une forte perméabilité des néo-capillaires sanguins qui, eux, résistent mieux à la pression intra- et péri-tumorale, du fait de leur structuration plus complexe avec cellules endothéliales péricytes, matrice extracellulaire.

### *Développement dynamique de la néo-angiogenèse*

Le développement de la néo-angiogenèse tumorale se fait schématiquement en trois phases.

– Une phase de déstabilisation et activation des cellules endothéliales quiescentes stables induite par l'hypoxie tumorale. Les protéases et les facteurs de croissance libérés par les cellules stromales activées et les cellules tumorales hypoxiques induisent la sécrétion d'angiopoïétine 2. L'angiopoïétine 2 entre en compétition avec l'angiopoïétine 1 sur le récepteur Tie2 des cellules endothéliales. La liaison angiopoïétine 2/Tie2 a pour conséquence de déstabiliser les structures capillaires avec perte des interactions fortes cellulaires (cellule endothéliale/péricytes) et expression des récepteurs VEGF de type R1 par les cellules endothéliales activées.

– Les phases ultérieures sont les phases de prolifération et migration.

– La troisième phase est la croissance, migration, stabilisation transitoire des cellules endothéliales déstabilisées. La prolifération des cellules endothéliales est secondaire à la stimulation par les facteurs de croissance angiogénique dont le VEGF (si ceux-ci sont absents, les cellules endothéliales activées déstabilisées entrent en apoptose). *Les facteurs de croissance angiogénique (FCA)* sont sécrétés par les cellules tumorales mises en hypoxie du fait de la croissance de la masse tumorale rapide autonome. Comme nous l'avons vu, les cellules tumorales sécrètent également des facteurs activant les macrophages péri-tumoraux, ceux-ci, en réponse, produisent d'autres facteurs angiogéniques et attractants pour les cellules endothéliales activées déstabilisées. Enfin, les protéases et héparinases sécrétées par les cellules tumorales et stromales participent à la dégradation des constituants des membranes basales, permettant la libération et l'activation par d'autres protéases des facteurs de croissance angiogéniques séquestrés.

La migration cellulaire est un phénomène complexe avec projection de lamellipodes en expansion frontale de la cellule endothéliale, d'attachement-détachement de la cellule migrante sous stimulation de facteurs attractants. Les intégrines  $\alpha v \beta 3$  jouent un rôle important que nous décrivons plus loin. Au terme de cette migration, les cellules endothéliales s'associent en néotubule, se stabilisent par interactions avec des cellules présentant une différenciation en péricyte. L'ensemble cellules endothéliales/péricytes sécrète les différents constituants de la matrice extracellulaire et permet aux néocapillaires transitoirement stabilisés, d'être fonctionnels.

La néoangiogenèse tumorale est un phénomène dynamique en perpétuel remaniement déstabilisation/stabilisation dans un environnement riche en protéases. La sécrétion d'inhibiteurs PAI1-TIMP et d'angiopoïétine 1 permet une stabilisation temporaire des cellules endothéliales et péricyaires stromales. L'adrénomédulline, peptide amidé dont l'expression est régulée par l'hypoxie, joue un rôle majeur dans la stabilisation des complexes cellules endothéliales/péricytes et la fonctionnalité de la néo-angiogenèse.

La prise en compte de la néo-angiogenèse est sa quantification, ou celle de facteurs spécifiques intervenant dans son développement (protéases, facteurs angiogéniques...). Ce sont des *facteurs pronostiques majeurs* pour les tumeurs invasives non cliniquement métastatiques (79).



## Points communs dans la réponse à l'hypoxie cellulaire post-traumatique ou hypoxie tissulaire tumorale

Ils recouvrent deux choses : la stabilisation de HIF1 $\alpha$  et les protéases activées par uPA.

### HIF1 $\alpha$

HIF1 $\alpha$  est un facteur fondamental mis en jeu dans la réponse à l'hypoxie et régulation de la transcription de gènes nécessaires au développement d'une néo-angiogenèse, à un apport accru d'oxygène et la mise en route de voies et processus métaboliques nécessaires à la survie cellulaire dans une phase d'hypoxie transitoire (80). HIF $\alpha/\beta$  est une molécule agissant comme facteur de transcription après dimérisation et fixation sur l'élément de réponse HRE, il existe deux isoformes isolées HIF1, HIF2 avec deux sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$ . HIF est en fait synthétisé de façon continue par les cellules mais *en cas de normoxie* cette molécule cytoplasmique est instable car hydroxylée sur les résidus proline p402 et p564 par la prolylhydroxylase (PMD 1.23). HIF hydroxylé se couple à la protéine de van Hippel Lindau qui joue le rôle de protéine de transport et d'adressage, de ce fait HIF1 $\alpha$  hydroxylé est dégradé dans le protéasome. En cas d'hypoxie, HIF non hydroxylé est stabilisé, après une translocation dans le noyau, dimérisation, il s'associe à l'élément de réponse HRE. Certains facteurs induisent une augmentation de la transcription de base de HIF, à savoir les facteurs de croissance mettant en jeu des récepteurs membranaires à activité tyrosine kinase. Tels IGFR, HER1, HER2, CCR-abl, les voies de transmission du signal AKT mTOR, les prostaglandines PGE<sub>2</sub>, ces dernières facilitent par ailleurs la translocation des HIF non hydroxylés/stabilisés dans le compartiment nucléaire.

La dimérisation HIF $\alpha/\beta$  et la liaison au HRE induisent la transcription de plusieurs dizaines de facteurs (80-82). Globalement, HIF1 $\alpha$  induit la transcription :

- de facteurs mis en jeu dans l'angiogenèse tels les facteurs angiogéniques, (VEGF, ANG1, PDGF $\beta$ , adrénomédulline, endothéline 1), et les protéases uPA, Cat D, MMP2, UPAR PAI1 ;
- de facteurs mis en jeu dans le transport d'oxygène telle l'érythropoïétine (EPO) ;

– de facteurs permettant la survie dans un contexte de stress hypoxique telles IGF2/EPO qui inhibent l'apoptose induite par le stress hypoxique ;

– de facteurs impliqués dans le métabolisme du glucose en condition d'acidose hypoxique, avec entre autre l'induction des enzymes GLUT1 et GLUT3, la répression de GLUT2 et augmentation des transporteurs du glucose.

De nombreux facteurs mis en jeu dans les processus physiologiques de réparation/cicatrisation et néo-angiogenèse de réparation sont sous dépendance de HIF et agissent en synergie (80).

## Protéases activées par uPA

La néo-angiogenèse et l'invasivité tumorale locale mettent en jeu une coopération entre tumeur et microenvironnement dans laquelle de multiples protéases jouent un rôle important. Trois classes de protéases prédominent : les *sérines protéases* avec l'activateur du plasminogène type urokinase uPA, les *métalloprotéases* MMP2, MMP5, MMP9 (collagénases) ou MMP10, MMP7 (stromélysines) et les cathepsines (BDL).

Toutes ces protéases sont en fait sécrétées par les cellules tumorales ou les cellules de l'environnement tumoral sous forme de proenzyme inactive.

Différents systèmes interagissent dans un but d'activation en cascade de proenzymes en enzymes actives. Chaque protéase cible des séquences spécifiques présentes dans les macromolécules constitutives des MEC et stroma fibrillaire (14-18) mais également des macromolécules tels les facteurs de croissance. Le système d'activation du plasminogène est un système protéolytique complexe capable de produire de grandes quantités de plasmine (enzymes actives à partir de son précurseur le plasminogène). Le plasminogène est une prosérine protéase de 90 kDa produite par le foie et sécrétée dans le système vasculaire à très haute concentration (1,5 à 2 mM). Le plasminogène peut également être trappé dans les compartiments extravasculaires (83, 84). De ce fait, cette proenzyme plasmatique et tissulaire est disponible de façon importante et ubiquitaire pour une activation par des systèmes spécifiques. L'activation du plasminogène est catalysée par deux types d'activateurs différents, les activateurs de type urokinase (uPA) et de type tissulaire (tPA). Récemment, il a également été montré que le facteur XIIa était également un activateur physiologique du plasminogène (85). L'activation du plasminogène par uPA libère la plasmine, protéase relativement polyvalente et peu spécifique. La plasmine peut, directement ou en

cascade à travers sa capacité d'activer des prometalloprotéases, dégrader la plupart des constituants de la matrice extracellulaire (86-89). De plus, la plasmine active diverses macromolécules tels que les profacteurs de croissance (à titre d'exemple, le TGF $\beta$ ) (90-91) qui, comme nous l'avons vu, modulent les interactions intervenant entre tumeur et environnement (92-95). Parmi les produits de la protéolyse il a été mis en évidence que la néo-angiogenèse pouvait être inhibée par un fragment du plasminogène (l'angiotensine) (96-97).

De très nombreux arguments suggèrent un rôle majeur de l'activation du plasminogène par uPA durant l'invasivité tumorale et l'établissement de la néo-angiogenèse tumorale. Les études par immunohistochimie et hybridation *in situ* des modèles expérimentaux ou des tumeurs humaines ont montré que l'uPA et uPAR et PAI1 sont exprimés dans le compartiment épithélial tumoral mais également dans le compartiment stromal, dans et autour des foyers tumoraux invasifs associés à une forte angiogenèse (98, 99). Plusieurs modèles expérimentaux ont montré un retard à la croissance, que ce soit des tumeurs primitives ou des métastases, lorsque l'activité uPA est inhibée (100-103). Enfin, dans un modèle de souris transgénique uPA $-/-$ , il a été montré que la transformation cellulaire maligne et la croissance des tumeurs chimiquement induites étaient fortement réduites (104).

### **Rôle de uPA**

Le rôle de uPA dans la croissance tumorale et l'invasivité couvre deux aspects différents :

- *l'un, protéolytique*, est décrit ci-dessus ;
- *l'autre est la migration cellulaire*. uPA *via* sa liaison à son récepteur membranaire uPAR présent sur les cellules tumorales, et endothéliales activées, participe à la migration cellulaire. Le récepteur uPAR étant externalisé à l'extrémité des lamellipodes au pôle cellulaire antérieur, uPA associé à son récepteur spécifique se lie sans protéolyse à la vitronectine/fibronectine. Cette liaison en association avec les intégrines  $\alpha v \beta 3$  et le cytosquelette déclenche un *capping* postérieur. Au pôle cellulaire postérieur, il y a dissociation du complexe vitronectine uPA/uPAR et internalisation d'uPAR. Après trafic intracellulaire, une réexternalisation de uPAR se fait au nouveau pôle antérieur des lamellipodes cellulaires rendant possible une nouvelle interaction avec la vitronectine et le déplacement cellulaire.

### **Rôle de PAI1**

Le rôle de PAI1 dans le développement tumoral est complexe. Il joue probablement des rôles différents. Plusieurs voies d'action peuvent être proposées quant au rôle de PAI1 dans la progression tumorale.

1. PAI1 est lié à la néo-angiogenèse. Exprimé dans les capillaires borgnes, il est de ce fait un marqueur de l'intensité de la pénétration de la néo-vascularisation dans la tumeur.

2. PAI1 joue un rôle dans l'établissement de l'invasivité et la dissémination des cellules tumorales et endothéliales, en réduisant l'adhésion cellulaire par une dissociation par compétition d'UPA/UPAR de son interaction avec la vitronectine, PAI1 ayant une affinité plus grande pour la séquence de vitronectine que UPA.

3. PAI1 protège l'ensemble du stroma tumoral de l'autodégradation secondaire à la plasmine activée par l'uPA, ce qui est important dans la réparation tissulaire, mais outrepassé dans la croissance et l'invasivité tumorale.

4. PAI1II joue un rôle important dans la stabilisation définitive de la néovascularisation de la réparation tissulaire. Mais il joue un rôle temporaire dans la stabilisation de la néo-angiogenèse tumorale permettant sa fonctionnalité transitoire après établissement d'une interaction cellules endothéliales/péricytes et formation d'une matrice extracellulaire élémentaire. Cette stabilisation est temporaire dans un contexte stromal péri-tumoral riche en protéases et modulé par l'hypoxie cellulaire qui entraîne un phénomène dynamique perpétuel de remodelage de la vascularisation tumorale.

## **Cibles du stroma et du système angiogénique**

Indispensable à la croissance tumorale, la néo-angiogenèse tumorale est un processus dynamique en remodelage constant alternant phase de déstabilisation, expansion et stabilisation transitoire. Dans ce processus, le VEGF joue un rôle important dans la phase d'initiation mais peu à peu un nombre de plus en plus important de facteurs angiogéniques accompagne le développement tumoral, particulièrement lors des phases d'échappement thérapeutique (60).

Parmi cette mixture angiogénique de plus en plus complexe, un facteur, l'adrénomédulline (AM) fait l'objet depuis 1998 d'une attention croissante et de nombreux travaux (110, 111).

## Adrénomédulline

Depuis les premières publications (111), plusieurs travaux (112-115) ont démontré et confirmé le rôle de l'AM dans la croissance tumorale par l'induction d'une néovascularisation fonctionnelle consécutive au recrutement de toutes les cellules du stroma et leur activation ainsi qu'un recrutement de précurseurs.

Les modèles murins « knock-out » du gène de l'AM démontrent le rôle essentiel de l'AM dans la vasculogenèse embryonnaire et la revascularisation post-ischémique. L'expression de l'AM est stimulée par l'hypoxie (*via* HIF1 $\alpha$ /HRE) dans les tumeurs solides humaines et joue un rôle dans le recrutement et l'activation des différents partenaires cellulaires du stroma mis en jeu dans les différents processus que nous avons décrits dans le développement de la tumorigenèse et l'angiogenèse.

Les mécanismes moléculaires identifiés mis en jeu dans les interactions hétérotypiques entre la tumeur et son micro-environnement ayant pour conséquence le recrutement et l'activation dans le stroma péri-tumoral des fibroblastes-macrophages, la cellule endothéliale et les précurseurs participant au développement dynamique d'une néo-angiogenèse sont proposés comme étant les cibles à privilégier dans le développement des « thérapies ciblées » (115, 116).

## Remerciements

Les auteurs remercient Véronique Gagna pour sa compétence et pour son aide efficace dans l'établissement du manuscrit.

## Références

1. Cunha GR (1972) Epithelio-mesenchymal interactions in primordial gland structures which become responsive to androgenic stimulation. *Anat Rec* 172: 179-95
2. Bissell MJ, Hall HG, Parry G (1982) How does the extracellular matrix direct gene expression? *J Theor Biol* 99: 31-68
3. Gimbrone MA, Jr., Leapman SB, Cotran RS, Folkman J (1972) Tumor dormancy in vivo by prevention of neovascularization. *J Exp Med* 136: 261-76
4. Folkman J (1972) Anti-angiogenesis: new concept for therapy of solid tumors. *Ann Surg* 175: 409-16

5. Cunha GR (1976) Epithelial-stromal interactions in development of the urogenital tract. *Int Rev Cytol* 47: 137-94
6. Cunha GR, Shannon JM, Neubauer BL *et al.* (1981) Mesenchymal-epithelial interactions in sex differentiation. *Hum Genet* 58: 68-77
7. Donjacour AA, Cunha GR (1991) Stromal regulation of epithelial function. *Cancer Treat Res* 53: 335-64
8. Bissell MJ, Aggeler J (1987) Dynamic reciprocity: how do extracellular matrix and hormones direct gene expression? *Prog Clin Biol Res* 249: 251-62
9. Bissell MJ, Ram TG (1989) Regulation of functional cytodifferentiation and histogenesis in mammary epithelial cells: role of the extracellular matrix. *Environ Health Perspect* 80: 61-70
10. Pourreau-Schneider N, Martin PM, Charpin C *et al.* (1984) How culture conditions modulate the morphofunctional differentiation of the human estradiol-sensitive mammary cell line (MCF-7). *J Steroid Biochem* 20: 407-15
11. Robinson GW, Hennighausen L (1997) Inhibins and activins regulate mammary epithelial cell differentiation through mesenchymal-epithelial interactions. *Development* 124: 2701-8
12. Bhowmick NA, Moses HL (2005) Tumor-stroma interactions. *Curr Opin Genet Dev* 15: 97-101
13. Colognato H, Yurchenco PD (2000) Form and function: the laminin family of heterotrimers. *Dev Dyn* 218: 213-34
14. Matrisian LM, Cunha GR, Mohla S (2001) Epithelial-stromal interactions and tumor progression: meeting summary and future directions. *Cancer Res* 61: 3844-6
15. Cunha GR, Hayward SW, Wang YZ (2002) Role of stroma in carcinogenesis of the prostate. *Differentiation* 70: 473-85
16. Cunha GR, Matrisian LM (2002) It's not my fault, blame it on my microenvironment. *Differentiation* 70: 469-72
17. Cunha GR, Cooke PS, Kurita T (2004) Role of stromal-epithelial interactions in hormonal responses. *Arch Histol Cytol* 67: 417-34
18. Cunha GR (1994) Role of mesenchymal-epithelial interactions in normal and abnormal development of the mammary gland and prostate. *Cancer* 74: 1030-44
19. Martins-Green M, Boudreau N, Bissell MJ (1994) Inflammation is responsible for the development of wound-induced tumors in chickens infected with Rous sarcoma virus. *Cancer Res* 54: 4334-41
20. Schmidhauser C, Casperson GF, Bissell MJ (1994) Transcriptional activation by viral enhancers: critical dependence on extracellular matrix-cell interactions in mammary epithelial cells. *Mol Carcinog* 10: 66-71
21. Sieweke MH, Bissell MJ (1994) The tumor-promoting effect of wounding: a possible role for TGF-beta-induced stromal alterations. *Crit Rev Oncog* 5: 297-311
22. Ronnov-Jessen L, Petersen OW, Kotliansky VE, Bissell MJ (1995) The origin of the myofibroblasts in breast cancer. Recapitulation of tumor environment in culture unravels diversity and implicates converted fibroblasts and recruited smooth muscle cells. *J Clin Invest* 95: 859-73
23. Bissell MJ (1999) Tumor plasticity allows vasculogenic mimicry, a novel form of angiogenic switch. A rose by any other name? *Am J Pathol* 155: 675-9
24. Radisky DC, Bissell MJ (2004) Cancer. Respect thy neighbor! *Science* 303: 775-7

25. Ronnov-Jessen L, Petersen OW, Bissell MJ (1996) Cellular changes involved in conversion of normal to malignant breast: importance of the stromal reaction. *Physiol Rev* 76: 69-125
26. Mueller MM, Fusenig NE (2004) Friends or foes - bipolar effects of the tumour stroma in cancer. *Nat Rev Cancer* 4: 839-49
27. Littlepage LE, Egeblad M, Werb Z (2005) Coevolution of cancer and stromal cellular responses. *Cancer Cell* 7: 499-500
28. Barclay WW, Woodruff RD, Hall MC, Cramer SD (2005) A system for studying epithelial-stromal interactions reveals distinct inductive abilities of stromal cells from benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Endocrinology* 146: 13-8
29. Dvorak HF (1986) Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Engl J Med* 315: 1650-9
30. Serini G, Gabbiani G (1999) Mechanisms of myofibroblast activity and phenotypic modulation. *Exp Cell Res* 250: 273-83
31. Colpaert CG, Vermeulen PB, Van Beest P *et al.* (2003) Cutaneous breast cancer deposits show distinct growth patterns with different degrees of angiogenesis, hypoxia and fibrin deposition. *Histopathology* 42: 530-40
32. Kalluri R, Zeisberg M (2006) Fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer* 6: 392-401
33. Elenbaas B, Weinberg RA (2001) Heterotypic signaling between epithelial tumor cells and fibroblasts in carcinoma formation. *Exp Cell Res* 264: 169-84
34. Bhowmick NA, Neilson EG, Moses HL (2004) Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression. *Nature* 432: 332-7
35. Chang HY, Sneddon JB, Alizadeh AA *et al.* (2004) Gene expression signature of fibroblast serum response predicts human cancer progression: similarities between tumors and wounds. *PLoS Biol* 2:E7
36. Fukino K, Shen L, Matsumoto S *et al.* (2004) Combined total genome loss of heterozygosity scan of breast cancer stroma and epithelium reveals multiplicity of stromal targets. *Cancer Res* 64: 7231-6
37. Olumi AF, Grossfeld GD, Hayward SW *et al.* (1999) Carcinoma-associated fibroblasts direct tumor progression of initiated human prostatic epithelium. *Cancer Res* 59: 5002-11
38. Maffini MV, Soto AM, Calabro JM *et al.* (2004) The stroma as a crucial target in rat mammary gland carcinogenesis. *J Cell Sci* 117: 1495-502
39. Bingle L, Brown NJ, Lewis CE (2002) The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J Pathol* 196: 254-65
40. Lin EY, Nguyen AV, Russell RG, Pollard JW (2001) Colony-stimulating factor 1 promotes progression of mammary tumors to malignancy. *J Exp Med* 193: 727-40
41. Bingle L, Lewis CE, Corke KP *et al.* (2006) Macrophages promote angiogenesis in human breast tumour spheroids *in vivo*. *Br J Cancer* 94: 101-7
42. Thiery JP (2002) Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2: 442-54
43. Dunnington DJ, Kim U, Hughes CM *et al.* (1984) Loss of myoepithelial cell characteristics in metastasizing rat mammary tumors relative to their nonmetastasizing counterparts. *J Natl Cancer Inst* 72: 455-66
44. Gusterson BA, Warburton MJ, Mitchell D *et al.* (1982) Distribution of myoepithelial cells and basement membrane proteins in the normal breast and in benign and malignant breast diseases. *Cancer Res* 42: 4763-70

45. Jacquemier J, Torrente M, Martin PM *et al.* (1989) La cellule myoépithéliale. In : Dépistage du cancer du sein et conséquences thérapeutiques Lansac J, LeFloch O, Bournoux P. Paris : Masson: 83-9046
46. Charpin C, Lissitzky JC, Kopp F *et al.* (1985) Immunocytochemical detection of laminin by light and electron microscopy: study of changes in the basement membrane in tumor pathology. *Ann Pathol* 5: 77-84
47. Charpin C, Lissitzky JC, Jacquemier J *et al.* (1986) Immunohistochemical detection of laminin in 98 human breast carcinomas: a light and electron microscopic study. *Hum Pathol* 17: 355-65
48. Rolland PH, Martin PM, Jacquemier J *et al.* (1980) Prostaglandin in human breast cancer: Evidence suggesting that an elevated prostaglandin production is a marker of high metastatic potential for neoplastic cells. *J Natl Cancer Inst* 64: 1061-70
49. Basu GD, Pathangey LB, Tinder TL *et al.* (2004) Cyclooxygenase-2 inhibitor induces apoptosis in breast cancer cells in an *in vivo* model of spontaneous metastatic breast cancer. *Mol Cancer Res* 2: 632-42
50. Wang D, Wang H, Shi Q *et al.* (2004) Prostaglandin E(2) promotes colorectal adenoma growth via transactivation of the nuclear peroxisome proliferator-activated receptor delta. *Cancer Cell* 6: 285-95
51. Adegboyega PA, Ololade O, Saada J *et al.* (2004) Subepithelial myofibroblasts express cyclooxygenase-2 in colorectal tubular adenomas. *Clin Cancer Res* 10: 5870-9
52. Crawford YG, Gauthier ML, Joubel A *et al.* (2004) Histologically normal human mammary epithelia with silenced p16(INK4a) overexpress COX-2, promoting a pre-malignant program. *Cancer Cell* 5: 263-73
53. Hlatky L, Hahnfeldt P, Folkman J (2002) Clinical application of antiangiogenic therapy: microvessel density, what it does and doesn't tell us. *J Natl Cancer Inst* 94: 883-93
54. Hanahan D, Folkman J (1996) Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 86: 353-64
55. Kinzler KW, Vogelstein B (1996) Life (and death) in a malignant tumour. *Nature* 379: 19-20
56. Lin EY, Nguyen AV, Russell RG *et al.* (2001) Colony-stimulating factor 1 promotes progression of mammary tumors to malignancy. *J Exp Med* 193: 727-40
57. Nielsen BS, Timshel S, Kjeldsen L *et al.* (1996) 92 kDa type IV collagenase (MMP-9) is expressed in neutrophils and macrophages but not in malignant epithelial cells in human colon cancer. *Int J Cancer* 65: 57-62
58. Leek RD, Harris AL (2002) Tumor-associated macrophages in breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 7: 177-89
59. Leek RD, Hunt NC, Landers RJ *et al.* (2000) Macrophage infiltration is associated with VEGF and EGFR expression in breast cancer. *J Pathol* 190: 430-6
60. Ferrara N (2004) Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev* 25: 581-611
61. Orimo A, Gupta PB, Sgroi DC *et al.* (2005) Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. *Cell* 121: 335-48
62. Chen JJ, Lin YC, Yao PL *et al.* (2005) Tumor-associated macrophages: the double-edged sword in cancer progression. *J Clin Oncol* 23: 953-64
63. Folkman J, Long DM, Becker FF (1963) Growth and metastasis of tumours in organ culture. *Cancer* 16: 453-67



64. Gimbrone MA, Jr., Leapman SB, Cotran RS, Folkman J (1973) Tumor angiogenesis: iris neovascularization at a distance from experimental intraocular tumors. *J Natl Cancer Inst* 50: 219-28
65. Folkman J (1990) What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst* 82: 4-6
66. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ *et al.* (1989) Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 246: 1306-9
67. Cajot JF, Barnat J, Bergonzelli GE, *et al.* (1990) Plasminogen-activator inhibitor type 1 is a potent natural inhibitor of extracellular matrix degradation by fibrosarcoma and colon carcinomal cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 6939-43
68. Keck PJ, Hauser SD, Krivi G *et al.* (1989) Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. *Science* 246: 1309-12
69. Gospodarowicz D, Abraham JA, Schilling J (1989) Isolation and characterization of a vascular endothelial cell mitogen produced by pituitary-derived folliculo stellate cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 7311-5
70. Conn G, Soderman DD, Schaeffer MT *et al.* (1990) Purification of a glycoprotein vascular endothelial cell mitogen from a rat glioma-derived cell line. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 1323-7
71. Noden DM (1989) Embryonic origins and assembly of blood vessels. *Am Rev Respir Dis* 140: 1097-103
72. Carmeliet P, Ferreira V, Breier G *et al.* (1996) Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature* 380: 435-9
73. Ferrara N, Carver-Moore K, Chen H *et al.* (1996) Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature* 380: 439-42
74. Shalaby F, Rossant J, Yamaguchi TP *et al.* (1995) Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice. *Nature* 376: 62-6
75. Fong GH, Rossant J, Gertsenstein M, Breitman ML (1995) Role of the Flt-1 receptor tyrosine kinase in regulating the assembly of vascular endothelium. *Nature* 376: 66-70
76. Stewart PA, Wiley MJ (1981) Developing nervous tissue induces formation of blood-brain barrier characteristics in invading endothelial cells: a study using quail-chick transplantation chimeras. *Dev Biol* 84: 183-92
77. Brooks PC, Montgomery AM, Rosenfeld M *et al.* (1994) Integrin alpha v beta 3 antagonists promote tumor regression by inducing apoptosis of angiogenic blood vessels. *Cell* 79: 1157-64
78. Cheresh DA (1987) Human endothelial cells synthesize and express an Arg-Gly-Asp-directed adhesion receptor involved in attachment to fibrinogen and von Willebrand factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 6471-5
79. Look MP, van Putten WL, Duffy MJ *et al.* (2002) Pooled analysis of prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in 8377 breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 94: 116-28
80. Semenza GL (2003) Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 3: 721-32
81. Shweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E (1992) Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature* 359: 843-5
82. Shweiki D, Neeman M, Itin A, Keshet E (1995) Induction of vascular endothelial growth factor expression by hypoxia and by glucose deficiency in multicell spheroids: implications for tumor angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 768-72
83. Dano K, Andreasen PA, Grondahl Hansen J *et al.* (1985) Plasminogen activators, tissue degradation and cancer. *Adv Cancer Res* 44: 139-266

84. Collen D (1980) On the regulation and control of fibrinolysis. Edward Kowalski Memorial Lecture. *Thromb Haemost* 43: 77-89
85. Schousboe I, Feddersen K, Rojksjaer R (1999) Factor XIIa is a kinetically favorable plasminogen activator (in process citation). *Thromb. Haemost* 82: 1041-6
86. Murphy G, Atkinson S, Ward R *et al.* (1992) The role of plasminogen activators in the regulation of connective tissue metalloproteinases. *Ann NY Acad Sci* 667: 1-12
87. Ellis V, Pyke C, Eriksen J *et al.* (1992) The urokinase receptor: involvement in cell surface proteolysis and cancer invasion. *Ann NY Acad Sci* 667: 13-31
88. HE CS, Wilhelm SM, Pentland AP *et al.* (1989) Tissue cooperation in a proteolytic cascade activating human interstitial collagenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2632-6
89. Baramova EN, Bajou K, Remacle A *et al.* (1997) Involvement of pa/plasmin system in the processing of pro-mmp-9 and the second step of pro-mmp-2 activation. *FEBS Letters* 405: 157-62
90. Lyons RM, Gentry LE, Purchio AF *et al.* (1990) Mechanism of activation of latent recombinant transforming growth factor beta 1 by plasmin. *J Cell Biol* 110: 1361-7
91. Sato Y, Rifkin DB (1989) Inhibition of endothelial cell movement by pericytes and smooth muscle cells: activation of a latent transforming growth factor-beta1-like molecule by plasmin during co-culture. *J Cell Biol* 109: 309-15
92. Ossowski L, Quigley JP, Kellerman GM *et al.* (1973) Fibrinolysis associated with oncogenic transformation. Requirement of plasminogen for correlated changes in cellular morphology, colony formation in agar and cell migration. *J Exp Med* 138: 1056-64
93. Vavani J, Orr W, Ward PA (1979) Cell-associated proteases affect tumour cell migration in vitro. *J Cell Sci* 26: 241-52
94. Mawatari M, Okamura K, Matsuda T *et al.* (1991) Tumor necrosis factor and epidermal growth factor modulate migration of human microvascular endothelial cells and production of tissue-type plasminogen activator and its inhibitor. *Exp Cell Res* 192: 574-80
95. Morimoto K, Mishima H, Nishida T *et al.* (1993) Role of urokinase type plasminogen activator (u-PA) in corneal epithelial migration. *Thromb Haemost* 69: 387-91
96. O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y *et al.* (1994) Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma (see comments). *Cell* 79: 315-28
97. O'Reilly MS, Holmgren L, Chen C *et al.* (1996) Angiostatin induces and sustains dormancy of human primary tumors in mice. *Nat Med* 2: 689-92
98. Grondahl-Hansen J, Ralkiaer E, Kirkeby LT *et al.* (1991) Localization of urokinase-type plasminogen activator in stromal cells in adenocarcinomas of the colon in humans. *Am J Pathol* 138: 111-7
99. Pyke C, Kristensen P, Ralkiaer E *et al.* (1991) Urokinase-type plasminogen activator is expressed in stromal cells and its receptor in cancer cells at invasive foci in human colon adenocarcinomas. *Am J Pathol* 138: 1059-67
100. Ossowski L, Reich E (1983) Antibodies to plasminogen activator inhibit human tumor metastasis. *Cell* 35: 611-9
101. Konkle BA, Ginsburg D (1988) The addition of endothelial cell growth factor and heparin to human umbilical vein endothelial cell cultures decreases plasminogen activator inhibitor-1 expression. *J Clin Invest* 82: 579-85
102. Mignatti P, Robbins E, Rifkin D. (1986) Tumor invasion through the human amniotic membrane I requirement for a proteinase cascade. *Cell* 47: 487-98

103. Axelrod JH, Reich R, Miskin R (1989) Expression of human recombinant plasminogen activators enhances invasion and experimental metastasis of H-ras-transformed NIH 3T3 cells. *Mol Cell Biol* 9: 2133-41
104. Cajot JF, Barnat J, Bergonzelli GE *et al.* (1990) Plasminogen-activator inhibitor type 1 is a potent natural inhibitor of extracellular matrix degradation by fibrosarcoma and colon carcinomal cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 6939-43
105. Hollas W, Blasi F, Boyd D (1991) Role of the urokinase receptor in facilitating extracellular matrix invasion by cultured colon cancer. *Cancer Res* 51: 3690-5
106. Kobayashi H, Ohi H, Sugimura M *et al.* (1992) Inhibition of in vitro ovarian cancer cell invasion by modulation of urokinase-type plasminogen activator and cathepsin B. *Cancer* 52: 3610-4
107. Wilhelm O, Schmitt M, Hohl S *et al.* (1995) Antisens inhibition of urokinase reduces spread of human ovarian cancer in mice. *Clin Exp Metastasis* 13: 296-302
108. Holst-Hansen C, Johannessen B, Hoyer-Hansen G *et al.* (1996) Urokinase-type plasminogen activation in three human breast cancer cell lines correlates with their in vitro invasiveness. *Clin Exp Metastasis* 14: 297-307
109. Shapiro RL, Duquette JG, Roses DF *et al.* (1996) Induction of primary cutaneous melanocytic neoplasms in urokinase-type plasminogen activator (upa)-deficient and wild - type mice - cellular blue nevi invade but do not progress to malignant melanoma in upa-deficient animals. *Cancer Res* 56: 3597-604
110. Nikitenko LL, Fox SB, Kehoe S *et al.* (2006) Adrenomedullin and tumour angiogenesis. *Br J Cancer* 94: 1-7
111. Bruick RK, McKnight SL (2002) Transcription. Oxygen sensing gets a second wind. *Science* 295: 807-8
112. Ouafik L, Sauze S, Boudouresque F *et al.* (2002) Neutralization of adrenomedullin inhibits the growth of human glioblastoma. Cell lines in vitro and suppresses tumor xenograft growth in vivo. *Am J Pathol* 160: 1279-92
113. Sauze-Fernandez S, Delfino C, Mabrouk K *et al.* (2004) Effects of Adrenomedullin on Endothelial Cells in the multistep process of angiogenesis: involvement of CRLR/RAMP2 and CRLR/RAMP3 receptors. *Int J Cancer* 108: 797-804
114. Berenguer C, Boudouresque F, Dussert C *et al.* (2007) Adrenomedullin, an Autocrine/Paracrine Factor Induced by Androgen Withdrawal, Stimulates « Neuroendocrine Phenotype » in LNCaP Prostate Tumor Cells. *Oncogene (in press)*
115. Albin A, Sporn MB (2007) The tumour microenvironment as a target for chemoprevention. *Nat Rev Cancer* 7: 139-47
116. Cairns R, Papatreou I, Denko N (2006) Overcoming physiologic barriers to cancer treatment by molecularly targeting the tumor microenvironment. *Mol Cancer Res* 4: 61-70

**Annexe.** Abréviations communes usitées dans ce chapitre.

AM	Adrenomedullin
CSF1	Colony Stimulating Factor 1
ECM	Extra Cellular Matrix
EGF	Epidermal Growth Factor (HER1 = Hereguline 1)
EGFR	Epidermal Growth Factor (HER1) Receptor
EMT	Epithelial Mesenchyme Transition
FGF	Fibroblast Growth Factor (Type 1-2)
HGF/SF	Hepatocytes Growth Factor/Scattering Factor
HIF1/2 $\alpha$	Hypoxia Induced Factor $\alpha$ (Type 1-2 $\alpha$ $\beta$ )
HRE	Hypoxia Responsive Element
IGF	Insuline « like » Growth Factor (type 1-2)
IGFBP	Insuline Growth Factor Binding Protein
MCP1	Monocytes Chemo attractive Proteins 1
MEC	Matrice extracellulaire
MMP	Metalloproteases
PAI	Plasminogen Inhibitor (type 1)
PDGF	Plaquette Derived Growth Factor
TAM	Tumor Associated Macrophage
TGF $\alpha$	Tumor Growth Factor Type $\alpha$
TGF $\beta$ 1	Tumor Growth Factor (type 1-2)
TP/PDEC GF	Thymidine Phosphatase/Plaquette Derived Endothelium Cell Growth Factors.
UPA	Urokinase Plasminogen Activator
UPAR	Urokinase Plasminogen Activator Receptor
VEGF	Vascular Endothelium Growth Factor (4 types : A, B, C, D)
VEGFR	Vascular Endothelium Growth Factor Receptor (3 types : R1, R2, R3)

### ***Déclaration de conflits d'intérêts***

Auteur	Aucune situation d'intérêt particulière	Participation financière dans le capital d'une entreprise	Contrat consultant, interventions ponctuelles, expertises, conférences, formation	Activité donnant lieu à versement au budget d'une structure	Autres liens Sans rémunération	Sans réponse
Pierre-Marie Martin	<b>X</b>					