

Angiogenèse et remodelage vasculaire au début du développement tumoral

Les relations entre angiogenèse et développement tumoral ont été particulièrement étudiées dans le modèle expérimental de la cornée de souris ou de lapin [1]. Quelques jours après l'implantation d'un fragment de tumeur dans ce tissu avasculaire, les capillaires, situés entre 2 et 4 mm du fragment tumoral, s'élargissent et projettent des bourgeonnements vasculaires vers celui-ci. Dès que ces nouveaux vaisseaux atteignent la tumeur, sa taille augmente exponentiellement, ce qui montre la relation étroite entre la formation de nouveaux vaisseaux sanguins et la croissance tumorale. On avait donc logiquement pensé que les cellules cancéreuses sécrétaient des facteurs diffusibles responsables de la prolifération et de la migration des cellules endothéliales. De fait, plusieurs facteurs angiogéniques ont été purifiés à partir du surnageant de cellules cancéreuses en culture [2, 3]. Parmi ceux-ci, le VEGF (*vascular endothelial growth factor*) est aussi un facteur de survie des cellules endothéliales des vaisseaux dits immatures, qui ne sont pas encore stabilisés par des interactions avec la lame basale et les péricytes. Plus récemment, les angiopoïétines 1 et 2 (Ang1 et -2) ont été identifiées. Ce sont les ligands du récepteur à tyrosine kinase, Tie2/Tek, spécifique des cellules endothéliales [3]. Ang1 est un agoniste de ce récepteur, et est impliqué dans le recrutement des péricytes par les cellules endothéliales ainsi que dans les interactions des cellules endothéliales avec la lame basale. Dans les cellules endothéliales, Ang2 bloque la phosphorylation de Tie2 induite par Ang1; elle se comporte donc comme un antagoniste de Ang1. *In vivo*, Ang2 empêcherait Ang1 de maintenir l'intégrité de l'endothélium. Cette déstabilisation de la structure des capillaires permettrait

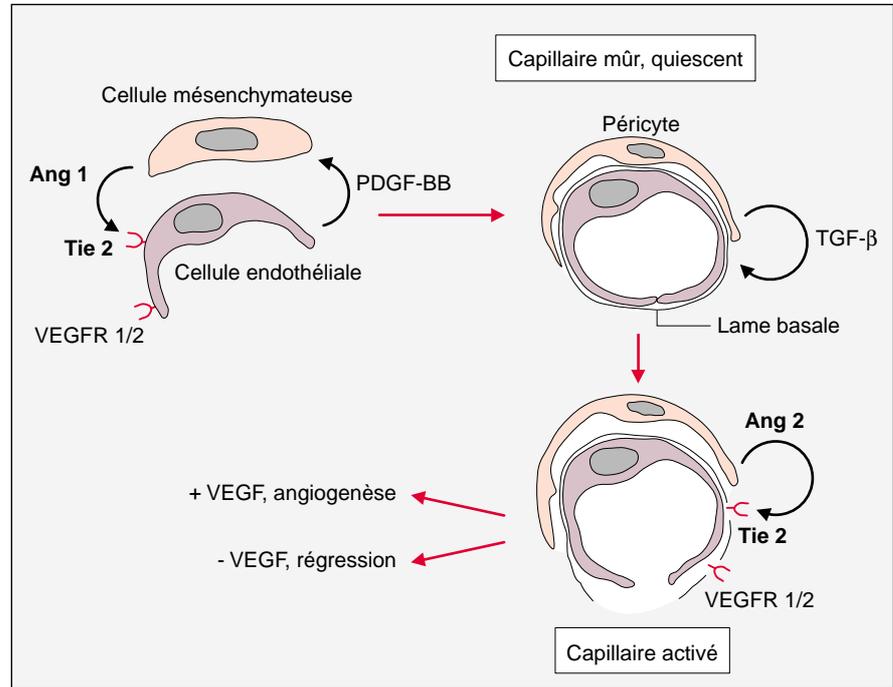


Figure 1. **Activités antagonistes des angiopoïétines 1 et 2.** L'angiopoïétine 1 est sécrétée par les cellules mésenchymateuses aux sites où se déroule la vasculogenèse. Elle se fixe sur son récepteur Tie2 à la surface des cellules endothéliales. Par l'intermédiaire du PDGF-BB, ces cellules endothéliales activées vont recruter les cellules mésenchymateuses voisines qui se différencient en péricytes. Les péricytes, via l'action du TGF- β , bloquent la prolifération des cellules endothéliales qui forment un capillaire mature. La structure de ce capillaire est stable en absence de VEGF et les cellules endothéliales quiescentes ne répondent pas au VEGF. L'angiopoïétine 2 induit la perte des contacts entre cellules endothéliales, péricytes et lame basale et active (déstabilise) le capillaire (d'après [10, 11]). En présence de stimulus angiogéniques, le bourgeonnement d'un nouveau vaisseau est induit. En l'absence de facteur de survie comme le VEGF, les cellules endothéliales ainsi détachées de la matrice extracellulaire meurent.

l'induction de l'angiogenèse, en présence de facteurs angiogéniques comme le VEGF. En revanche, en l'absence de facteur angiogénique, la déstabilisation de la structure conduirait à la régression des capillaires. Si la cornée offre un outil de choix pour visualiser, sur un animal vivant, la formation de ces nouveaux vais-

seaux, elle ne correspond toutefois pas à l'environnement dans lequel se développent normalement les tumeurs. L'hypothèse selon laquelle le processus tumoral débuterait par une petite masse avasculaire initiale, qui induirait la formation de nouveaux vaisseaux lorsque sa taille dépasse quelques millimètres, a été

récemment remise en cause par des études effectuées dans d'autres tissus. De fait, les cellules cancéreuses peuvent recruter les vaisseaux préexistants et proliférer autour d'eux. Ainsi, deux semaines après l'implantation de cellules C6 de gliome dans le cerveau de rats syngéniques, le diamètre de la tumeur atteint plus de 2 mm sans aucun signe d'angiogenèse [4]. A ce stade, localement, les cellules cancéreuses et les cellules endothéliales expriment une grande quantité d'Ang 2 mais peu de VEGF, ce qui favorise donc la déstabilisation des vaisseaux préexistants. On observe effectivement, au centre de la masse tumorale, une diminution de la densité vasculaire ce qui provoque la mort par anoxie d'un grand nombre de cellules cancéreuses. A la périphérie de la masse tumorale, la sécrétion de VEGF est stimulée par l'hypoxie (*m/s* 1997, n° 6-7, p. 891), et la coopération entre VEGF et Ang-2 induit la formation de nouveaux vaisseaux, et la croissance tumorale (*figure 2*). On observe cette même succession de recrutement de vaisseaux, de régression puis d'angiogenèse au cours de la colonisation du poumon par des cellules de carcinome de Lewis injectées dans la circulation sanguine. Chez l'homme, les cellules cancéreuses peuvent aussi, lorsque l'environnement est favorable, proliférer

en exploitant les vaisseaux présents, et une étude portant sur 500 carcinomes du poumon révèle que certaines de ces tumeurs agressives se développent en l'absence d'angiogenèse [5].

Les techniques d'imagerie par résonance magnétique (IRM) permettent aujourd'hui l'observation directe de la formation de nouveaux vaisseaux. La déoxy-hémoglobine présente dans les vaisseaux sanguins élargit le signal de résonance des protons de l'eau, ce qui permet la mesure des modifications de l'oxygénation du sang ou du volume sanguin. Quand l'air inhalé contient 5 % d'oxyde de carbone, l'observation de changements de signal témoigne d'une vasodilatation assurée par les cellules musculaires lisses qui entourent les vaisseaux mûrs. Cette épreuve fonctionnelle permet donc de caractériser les vaisseaux matures. La résolution spatiale des images obtenues est de l'ordre de 120 µm. Cette approche a été appliquée à l'étude de la croissance de cellules de carcinome ovarien, agrégées en sphéroïdes de 1 à 2 millimètres de diamètre, et implantées sous la peau de souris *nude*. On observe alors que des variations périodiques de la densité des vaisseaux situés à la périphérie du sphéroïde précèdent la croissance tumorale [6]. Cette alternance des processus de formation et de

régression de nouveaux vaisseaux dure plusieurs semaines, et s'arrête quand les vaisseaux deviennent fonctionnellement matures (*figure 3*). Ces résultats suggèrent donc que «l'assouplissement» des tumeurs est un phénomène dynamique expliqué par l'instabilité des nouveaux vaisseaux, et non pas par l'absence de stimulus angiogénique.

Deux facteurs contribueraient à l'instabilité des nouveaux vaisseaux: les variations d'expression du VEGF selon la concentration locale d'oxygène, et l'absence de péricytes autour de ces vaisseaux. L'expression du VEGF est en effet induite quand les cellules cancéreuses sont en hypoxie, et diminue dans ces cellules lorsque les nouveaux vaisseaux restaurent une concentration d'oxygène normale. Ainsi, dans les tumeurs du col de l'utérus, la densité vasculaire est grande dans les régions où l'expression du VEGF est la plus faible [7]. Il est donc vraisemblable que l'activité angiogénique des cellules cancéreuses soit modulable selon leurs besoins métaboliques. Quant à l'importance du recrutement des cellules musculaires lisses ou des péricytes pour stabiliser les parois des vaisseaux sanguins, elle avait été démontrée dans la rétine de rat nouveau né. Dans les tumeurs, les vaisseaux autour desquels il n'y a pas de péricytes (vaisseaux immatures) sont aussi déstabilisés lorsque la concentration de VEGF diminue [8]. Cette observation a été faite en utilisant des cellules cancéreuses dans lesquelles l'expression du VEGF est sous le contrôle d'un promoteur inducible sensible à la tétracycline (*système *tet-off**). L'addition de tétracycline dans l'eau de boisson des souris entraîne la diminution de l'activité du promoteur, et donc de la production du VEGF dans des cellules cancéreuses. Dans ces conditions, les vaisseaux immatures, dont les parois n'ont pas de péricytes, sont démantelés, et la tumeur devient nécrotique. Chez l'homme, environ 40 % des vaisseaux qui irriguent les tumeurs de la prostate sont matures, entourés de cellules qui expriment l' α -actine de muscle lisse. Le traitement par les médicaments anti-androgènes diminue l'expression du VEGF par l'épi-

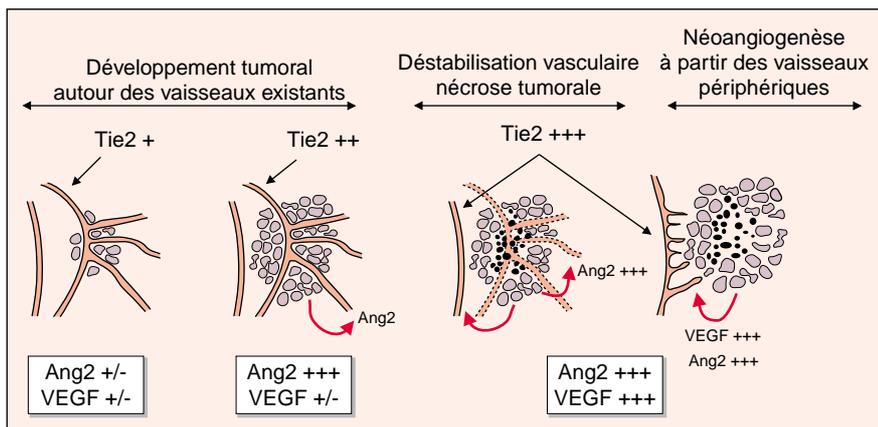


Figure 2. Formation et involution du réseau vasculaire au cours du développement d'une tumeur. Quatre stades précoces du développement tumoral sont ici représentés. Les cellules cancéreuses se développent initialement autour des vaisseaux préexistants. L'angiopoïétine sécrétée localement déstabilise ces vaisseaux préexistants et, en l'absence de VEGF, induit leur apoptose. L'expression du VEGF est stimulée, et Ang2 et VEGF coopèrent pour induire l'angiogenèse à la périphérie de la masse tumorale.

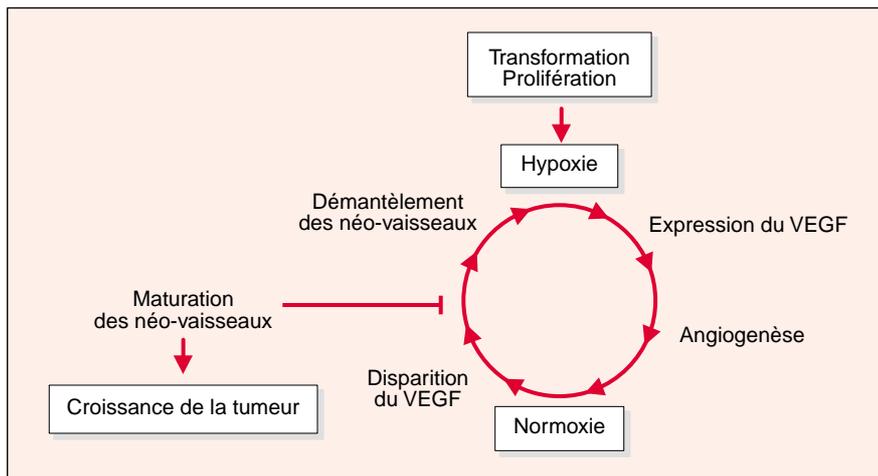


Figure 3. **Représentation dynamique du remodelage vasculaire dans les tumeurs.** Au centre de la sphéroïde implantée sous la peau de souris nude, les cellules cancéreuses sont dans un environnement hypoxique, ce qui stimule l'expression du VEGF et induit l'angiogenèse. La formation de nouveaux vaisseaux restaure l'oxygénation et supprime l'expression du VEGF. En l'absence de VEGF, les cellules endothéliales de ces nouveaux vaisseaux se détachent de la matrice extracellulaire et meurent par anoïkie. Il en résulte une hypoxie secondaire dans la tumeur, qui induit à nouveau l'expression du VEGF. Ce cycle peut piéger la tumeur dans un état quiescent, dont elle ne sort que lorsque les nouveaux vaisseaux deviennent insensibles à l'absence de VEGF, en raison du recrutement des péricytes. (D'après [6].)

thélium sécrétoire, et entraîne une perte des seuls vaisseaux immatures, dont la survie, en l'absence de péricytes, serait assurée par le VEGF.

Il est vraisemblable que la maturité de l'arbre vasculaire détermine aussi l'efficacité des inhibiteurs de l'angiogenèse (*m/s* 1999, n° 6-7, p. 892). La différence de maturité pourrait peut-être expliquer pourquoi l'angiostatine (*m/s* 1995, n° 2, p. 84) et l'endostatine, qui sont actives sur des tumeurs implantées sous la peau, n'ont pas d'effet sur la régression des

tumeurs établies dans le pancréas des souris Rip-Tag [9]. Dans ce dernier modèle, toutes les cellules β produisant de l'insuline expriment l'oncogène T de SV40 et le développement des tumeurs à partir des îlots hyperplasiques nécessite environ 12 semaines. On peut donc supposer que l'identification des patients susceptibles de bénéficier de thérapies anti-angiogéniques, nécessiterait de caractériser l'état fonctionnel des vaisseaux qui irriguent la tumeur, et en particulier leur maturité.

1. Muthukkaruppan V, Auerbach R. Angiogenesis in mouse cornea. *Science* 1979; 205: 1416-8.
2. Gingras D, Béliveau R. L'angiogenèse tumorale: une nouvelle cible thérapeutique anticancéreuse. *Med Sci* 1997; 13: 1428-35.
3. Mattot V, Pourtier A, Soncin F, Vandembunder B. La morphogenèse de l'arbre vasculaire; de la compréhension des mécanismes moléculaires aux perspectives thérapeutiques. *Med Sci* 1998; 14: 437-47.
4. Holash J, Maisonpierre PC, Compton D, et al. Vessel cooption, regression, and growth in tumors mediated by angiopeptins and VEGF. *Science* 1999; 284: 1994-8.
5. Pezzella F, Pastorino U, Tagliabue E, et al. Non-small-cell lung carcinoma tumor growth without morphological evidence of neo-angiogenesis. *Am J Pathol* 1997; 151: 1417-23.
6. Gilead A, Neeman M. Dynamic remodeling of the vascular bed precedes tumor growth: MLS ovarian carcinoma spheroids implanted in nude mice. *Neoplasia* 1999; 1: 226-30.
7. Hawighorst H, Knapstein PG, Knopp MV, et al. Uterine cervical carcinoma: comparison of standard and pharmacokinetic analysis of time-intensity curves for assessment of tumor angiogenesis and patient survival. *Cancer Res* 1998; 58: 3598-602.
8. Benjamin LE, Golijanin D, Itin A, et al. Selective ablation of immature blood vessels in established human tumors follows vascular endothelial growth factor withdrawal. *J Clin Invest* 1999; 103: 159-65.
9. Bergers G, Javaherian K, Lo KM, et al. Effects of angiogenesis inhibitors on multistage carcinogenesis in mice. *Science* 1999; 284: 808-12.
10. Hanahan D. Signaling vascular morphogenesis and maintenance. *Science* 1997; 277: 48-50.
11. Folkman J, D'Amore PA. Blood vessel formation: what is its molecular basis? *Cell* 1996; 87: 1153-5.

Bernard Vandembunder

EP560 Cnrs/Université de Lille 2/Institut Pasteur de Lille, Institut de biologie de Lille, 1, rue Calmette, BP 447, 59021 Lille Cedex, France.

A F M

Association Française
contre les Myopathies

Myologie 2000
congrès international de myologie
27 au 31 mars 2000 Nice, France

En mars 2000, l'AFM organise à Nice **son premier congrès international de myologie**. Son objectif : témoigner de la renaissance de la myologie en tant que discipline médicale et scientifique à part entière. Pendant 5 jours, elle réunira tous les meilleurs spécialistes internationaux de cette discipline : biologistes, physiologistes, médecins, scientifiques traiteront de tous les aspects du muscle.

Renseignements - Inscriptions : AFM - Myologie 2000

Secrétariat Permanent du Conseil Scientifique

13, place de Rungis - 75013 PARIS - Tél. : 01 44 16 27 00 - Fax : 01 45 80 37 36