

VEGF : médiateur de l'angiogenèse hypoxique

De nombreux facteurs de croissance des cellules endothéliales vasculaires FGF (*fibroblast growth factor*), acide et basique, PDGF (*platelet-derived growth factor*), TGF (*transforming growth factor*), TNF α (*tumor necrosis factor*), IL1 (interleukine-1, IL-6...) ont été décrits, mais aucun n'est spécifique de ces cellules. Le premier facteur de croissance sélectif des cellules endothéliales, VEGF (*vascular endothelial growth factor*), a été identifié en 1989. Les études réalisées depuis ont montré l'importance du facteur VEGF dans des processus angiogéniques normaux et pathologiques. Elles ont révélé l'existence de toute une famille de peptides angiogéniques apparentés à VEGF et de récepteurs à activité tyrosine kinase produits sélectivement par les cellules endothéliales vasculaires. Elles ont, enfin, mis en évidence l'existence, à l'échelle cellulaire, de mécanismes d'adaptation à l'hypoxie qui ouvrent de nouvelles perspectives thérapeutiques.

La famille des peptides VEGF et leurs récepteurs

Le facteur VEGF a été isolé simultanément dans plusieurs laboratoires en 1989 [1-3]. C'est un facteur angiogénique puissant dans la cornée de lapin et la membrane chorio-allantoïdienne de poulet. L'ajout de VEGF à des cellules endothéliales vasculaires induit une réponse pléiotrope (prolifération, production de métalloprotéinases et de sérine protéases) qui contribue à la formation de néovaisseaux (*figure 1*). Le facteur VEGF est également connu comme facteur de perméabilité (VPF : *vascular permeability factor*) [3].

Le facteur VEGF est une glycoprotéine homodimérique de 34-36 kDa, liant l'héparine, dont la séquence

présente de faibles analogies avec les chaînes A et B du facteur de croissance plaquettaire (PDGF). La structure du VEGF comporte un peptide signal qui lui permet d'être sécrété. Le gène codant pour le VEGF est composé de huit exons. Quatre formes du peptide sont produites par épissage alternatif; elles comprennent respectivement 121, 165, 189 et 206 acides aminés chez l'homme. Les formes murines possèdent un acide aminé en moins. L'exon 6 code pour une séquence cationique de 24 acides aminés qui confère aux formes longues de VEGF la propriété de se lier à des structures polyanioniques de la matrice extracellulaire. Les formes liées de VEGF sont libérées sous une forme active par les héparinases et la plasmine. L'expression de VEGF206 est restreinte aux tissus embryonnaires.

L'inactivation de l'un des allèles du gène codant pour VEGF entraîne la formation anormale des vaisseaux sanguins à toutes les étapes du développement vasculaire précoce [4, 5]. Ce premier cas de létalité hétérozygote connu suggère que le développement vasculaire chez l'embryon serait réglé par VEGF, de façon dépendante de la dose (*m/s n° 10, vol. 12, p. 1136*). Chez l'adulte, VEGF est produit dans de nombreux tissus normaux, en particulier les reins, le cœur et les poumons. Sa synthèse n'est pas forcément associée à une angiogenèse importante.

Les différentes formes de VEGF reconnaissent deux récepteurs à activité tyrosine kinase de la famille Fms (*figure 2*). La protéine Flt-1 est un récepteur de forte affinité (10 pM), la protéine KDR (ou son analogue murin Flk-1) est un récepteur de

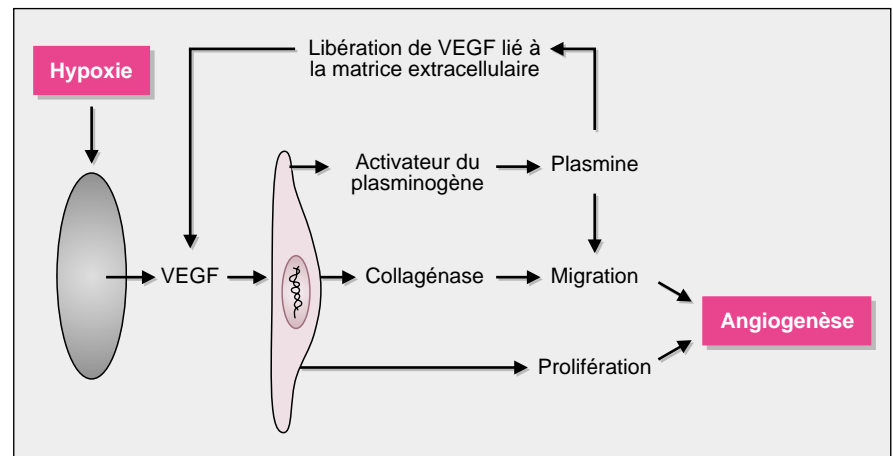


Figure 1. **Angiogenèse dépendante de VEGF.** L'action angiogénique de VEGF est en partie liée à son action mitogène modérée mais spécifique des cellules endothéliales vasculaires. Le facteur VEGF induit l'expression de l'activateur du plasminogène par les cellules endothéliales. La plasmine activée libère les formes longues de VEGF de la matrice extracellulaire. La production de collagénase interstitielle permet une digestion de la matrice et une migration des cellules endothéliales vers le stimulus hypoxique.

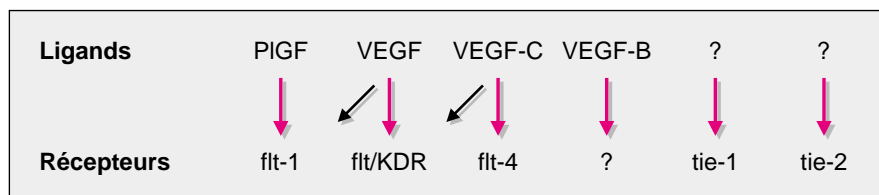


Figure 2. **Les différentes formes de VEGF et les récepteurs à activité tyrosine kinase spécifiques des cellules endothéliales vasculaires.** PlGF : placenta growth factor ; VEGF: vascular endothelial growth factor.

basse affinité (750 pM) qui serait responsable des effets mitogènes du peptide [6]. Il existe également une forme soluble du récepteur Flt-1 (sFlt-1) ne comprenant que la partie extracellulaire des récepteurs Flt-1. L'inactivation du gène *Flk-1* entraîne la mort *in utero* des souris à un stade correspondant à la formation des hémangioblastes, cellules souches des lignées endothéliales et hématopoïétiques [7]. La protéine Flt-1 n'est pas nécessaire au développement précoce des vaisseaux. Son inactivation chez la souris entraîne une désorganisation du réseau vasculaire dès les premiers stades du développement embryonnaire [8]. Deux autres récepteurs à activité tyrosine kinase (Tie-1 et Tie-2) sont produits sélectivement par les cellules endothéliales vasculaires, mais leurs ligands ne sont pas encore connus*. L'inactivation du gène codant pour Tie-2, chez la souris, empêche la formation des troncs artériels et veineux. En revanche, Tie-1 ne jouerait pas de rôle direct dans la vasculogénèse, mais il serait important pour maintenir la fonction des cellules endothéliales [9].

L'ADNc du facteur PlGF (*placenta growth factor*), le premier analogue de VEGF, a été cloné à partir de placenta humain en 1991 [10]. Le gène codant pour PlGF comporte sept exons et peut produire deux formes de PlGF par épissage alternatif (PlGF131 et PlGF152) [11]. Le facteur PlGF présente 53 % d'identité avec VEGF, et se lie, sous une forme homodimérique, aux récepteurs Flt-1 qu'il partage avec VEGF [12]. Il peut former des complexes hétérodimé-

riques avec VEGF165 [13]. La présence de VEGF165 pourrait favoriser la liaison des hétérodimères aux récepteurs KDR [14].

L'ADNc du facteur VEGF-B a été cloné à partir d'une banque d'ADNc préparée à partir de cœur de souris [15]. La protéine possède une séquence de 167 acides aminés après clivage de la séquence signal. Elle présente 30 % à 43 % d'identité avec VEGF et PlGF. Le facteur VEGF-B est produit dans de nombreux tissus adultes, en particulier le cœur, le muscle squelettique et le pancréas. Il s'associe à VEGF165 pour former des hétérodimères fonctionnels. La régulation de son expression n'est pas encore connue. C'est un facteur de croissance pour les cellules endothéliales de veine ombilicale humaine; le récepteur de VEGF-B n'est pas identifié.

L'ADNc du facteur VEGF-C a été cloné à partir d'une banque d'ADNc préparée à partir d'un carcinome prostatique humain [16]. Sa séquence amino-terminale est analogue à celle des autres formes de VEGF et sa partie carboxy-terminale est analogue à une protéine sécrétée par les glandes salivaires du ver à soie. Le facteur VEGF-C reconnaît deux récepteurs à activité tyrosine-kinase: Flk-1/KDR qu'il partage avec VEGF et Flt-4, un récepteur orphelin à activité tyrosine-kinase, dont la production est limitée à l'endothélium lymphatique et veineux [17].

Un gène analogue au gène codant pour VEGF (*orf*) a été identifié dans le génome d'un parapoxvirus qui affecte le mouton, la chèvre et, occasionnellement, l'homme [18]. La transcription du gène *orf* est importante au début de l'infection et conduit à la formation de polypeptides de 14,7 ou 16 kDa selon la

souche virale considérée. Ces polypeptides sont mitogènes pour les cellules endothéliales. Les lésions dues aux parapoxvirus sont caractérisées par une prolifération capillaire importante et la formation d'œdèmes dermiques. Le(s) récepteur(s) reconnu(s) par les formes virales de VEGF ne sont pas identifiés.

Stress hypoxique**

Un des aspects les plus remarquables de la régulation de l'expression de VEGF est sa sensibilité aux conditions d'hypoxie [18]. L'induction hypoxique de VEGF, n'est pas consécutive à une altération du métabolisme énergétique des cellules et ne fait pas intervenir les éléments de réponse au sérum identifiés au niveau du promoteur du gène *VEGF* [20]. Elle est rapidement réversible.

En fait, *VEGF* fait partie d'une large famille de gènes (*Tableau I*) dont l'expression est induite dans des conditions hypoxiques. Une période d'hypoxie est considérée aujourd'hui comme une forme de *stress*, au même titre qu'un *stress* thermique, oxydatif, osmotique, ou mécanique. Elle produit, à la fois, une cascade de signaux intracellulaires analogue à la transmission du signal mitogénique (récepteur, amplification du signal, activation de facteurs de transcrip-

Tableau I PRODUITS DES GÈNES SENSIBLES À L'HYPOXIE
Érythropoïétine
VEGF
Tyrosine hydroxylase
Chaîne β de PDGF
Endothéline-1
Enzyme de conversion de l'angiotensine
Enzymes de la glycolyse
Interleukine 1α
Ornithine décarboxylase
Hème-oxygénase-1
Cyclo-oxygénase-1
Activateur du plasminogène
c-Fos, c-Jun
...

* Depuis que cette mini-synthèse a été écrite, le ligand de Tie-2 a été identifié: il s'agit de l'angiopoïétine [43].

** Voir aussi la brève: HIF et la réponse à l'hypoxie, p. 891 de ce numéro.

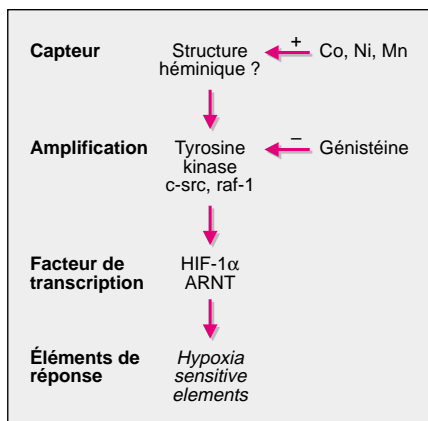


Figure 3. Transmission intracellulaire du signal d'un stress hypoxique. Elle n'est pas très différente de celle induite par d'autres formes de stress (stress oxydatif, mécanisme osmotique ou mitogénique). L'oxygène tissulaire est mesuré par un récepteur non encore identifié, probablement une structure héminique. Le signal hypoxique, amplifié par le jeu d'activités tyrosine kinase, conduit à l'activation transcriptionnelle de HIF-1 α (hypoxia induced factor) et d'ARNT et leur liaison aux éléments de réponse à l'hypoxie identifiés dans les régions promotrices des gènes codant pour l'érythropoïétine et le VEGF. Ce mécanisme rend compte de l'effet stimulant des métaux lourds (Co²⁺, Ni²⁺, Mn²⁺) dans des conditions normoxiques et de l'inhibition de la réponse hypoxique par des inhibiteurs de tyrosine-kinases.

tion spécifiques) (figure 3), et une réponse coordonnée à l'échelle cellulaire et de l'organisme (optimisation de la fonction glycolytique, production de facteurs vasoactifs, érythropoïèse, angiogenèse).

L'induction hypoxique de l'érythropoïétine est bien documentée. Le capteur de l'hypoxie (*oxygen sensor*) serait une structure héminique [21], et ce mécanisme, non démontré, pourrait rendre compte de l'action inductrice des métaux lourds (Co²⁺, Ni²⁺, Mn²⁺) sur la synthèse de l'érythropoïétine dans des conditions normoxiques.

Des éléments de réponse à l'hypoxie ont été identifiés au niveau du promoteur du gène de l'érythropoïétine

[22]. Ces éléments lient un facteur de transcription spécifique (*hypoxia induced factor*, HIF) qui a été purifié, séquencé et dont l'ADNc a été cloné. Le facteur HIF est un hétérodimère constitué d'une protéine homologue du récepteur de la dioxine (AHR) et du translocateur nucléaire du récepteur de la dioxine (ARNT) (*m/s n° 9, vol. 11, p. 1355*) [23]. La synthèse de ces deux protéines est stimulée en condition hypoxique.

L'induction hypoxique de VEGF fait intervenir des mécanismes très voisins. Des éléments de réponse fonctionnels à l'hypoxie ont été identifiés au niveau du promoteur du gène VEGF [24]. Ils présentent de fortes analogies de séquence avec les éléments de réponse à l'hypoxie du gène de l'érythropoïétine. La synthèse de VEGF, comme celle de l'érythropoïétine est stimulée par des métaux lourds dans des conditions normoxiques [25]. L'induction hypoxique de VEGF est bloquée par des inhibiteurs de tyrosine kinase (génistéine) et semble faire intervenir le proto-oncogène *c-Src* et *Raf-1* [26]. Cette action serait inhibée par le gène suppresseur de tumeurs, *P53*, [27].

Angiogenèse hypoxique

L'hypoxie tissulaire (et la production associée de VEGF) joue un rôle morphogène, par exemple au cours de la vascularisation de la rétine [29], et contribue à certains états pathologiques. Des preuves claires en ont été rapportées dans la rétinopathie diabétique, la polyarthrite rhumatoïde, le psoriasis et le développement des tumeurs solides.

La vascularisation des tumeurs solides, en particulier les gliomes, est probablement due à une hypoxie tissulaire et à la production de VEGF [30]. Elle est favorisée par l'expression de formes mutées de *P53*, le gène suppresseur des tumeurs, qui confère aux cellules tumorales une meilleure résistance à l'hypoxie et les protège de l'apoptose [31] (figure 4).

Adaptation myocardique à l'hypoxie

L'adaptation des cellules myocardiques à un *stress* hypoxique est bien

connue. On sait qu'une période d'ischémie protège le myocarde contre une ischémie ultérieure [32]. Ce phénomène de « préconditionnement » s'observe, par exemple, au cours des procédures d'angioplastie. A court terme, l'activation de la protéine kinase C (consécutivement à la libération d'adénosine) induit l'ouverture de canaux K⁺ dépendants de l'ATP et réduit la consommation énergétique du myocarde [33]. Il existe également des effets de préconditionnement à plus long terme (deuxième fenêtre de protection) dont le mécanisme n'est pas connu. Il est séduisant de penser que l'activation des éléments de réponse à l'hypoxie pourrait conférer une protection myocardique en induisant la synthèse de protéines d'adaptation (enzymes de la glycolyse, cyclo-oxygénase, VEGF). Le myocarde est une source importante de VEGF dans l'organisme; la synthèse de VEGF par des myocytes cardiaques est fortement stimulée par l'hypoxie *in vivo* [34] et *in vitro* [19]. Les cardiomyopathies ischémiques chroniques ne sont cependant pas le siège d'une néovascularisation importante pour des raisons qui ne sont pas comprises actuellement.

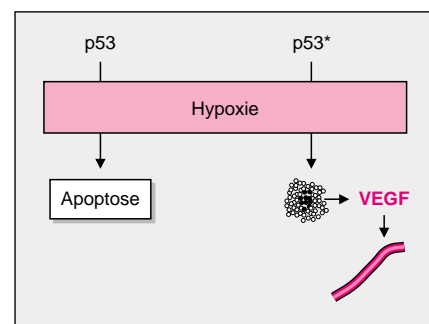


Figure 4. Angiogenèse tumorale. L'accroissement de la masse tumorale est limité par l'apport de nutriments et d'oxygène. Une hypoxie tissulaire entraîne une production de VEGF et déclenche un processus angiogénique. Cette réponse est amplifiée par la production de formes mutées de la protéine p53 (p53*). Ces formes confèrent aux cellules tumorales une meilleure résistance aux conditions hypoxiques et préviennent l'apoptose hypoxique.

Perspectives thérapeutiques

Les perspectives pharmacologiques et thérapeutiques ouvertes sont importantes. Il est maintenant envisageable d'inhiber l'angiogenèse dépendante de VEGF en utilisant des stratégies antisens, des anticorps ou des récepteurs solubles neutralisants. Des résultats prometteurs ont été obtenus pour limiter la croissance de gliomes [35] et prévenir une néovascularisation dans un modèle murin de rétinopathie ischémique [36]. Une autre stratégie consiste à faire synthétiser par les cellules des récepteurs KDR déficients en activité tyrosine kinase. Ces mutants se comportent comme dominants négatifs et abolissent la croissance de tumeurs transplantables chez la souris [37].

A l'inverse, on peut penser stimuler un processus angiogénique dans des tissus ischémiés par l'utilisation de VEGF recombinant. Des résultats spectaculaires ont été obtenus dans un modèle d'artériopathie oblitérante des membres inférieurs chez le lapin [38-41]. Des résultats également prometteurs ont été obtenus pour favoriser la réendothélialisation de carotides de rat dénudées: l'injection de VEGF accélère la ré-endothélialisation de la paroi vasculaire et réduit la prolifération néo-intimale des cellules musculaires lisses [42].

Christian Frelin
Annie Ladoux

Institut de pharmacologie moléculaire et cellulaire du Cnrs, 660, route des Lucioles, Sophia Antipolis, 06560 Valbonne, France.

Christophe Bauters

Service de cardiologie B, Hôpital cardiologique, 59037 Lille Cedex, France.

RÉFÉRENCES

1. Plouet J, Schilling J, Gospodarowicz D. Isolation and characterization of a newly identified endothelial cell mitogen produced by AtT-20 cells. *EMBO J* 1989; 8: 3801-6.
2. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 1989; 246: 1306-9.
3. Connolly DT, Olander JV, Heuvelman D, Nelson R, Monsell R, Siegel N, Haymore BL, Leimgruber R, Feder J. Human vascular permeability factor. Isolation from U937 cells. *J Biol Chem* 1989; 264: 20017-24.
4. Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, Polteff S, Kieckens L, Gertsenstein M, Fahrig M, Vandenhoeck A, Harpal K, Eberhardt C, Declercq C, Pawling J, Moons L, Collen D, Risau W, Nagy A. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature* 1996; 380: 435-9.
5. Ferrara N, Carver-Moore K, Chen H, Dowd M, Lu L, O'Shea KS, Powell-Braxton L, Hillan KJ, Moore MW. Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature* 1996; 380: 439-42.
6. Waltenberger J, Claesson-Welsh L, Siegbahn A, Shibuya M, Heldin CH. Differential signal transduction properties of KDR and Flt-1, two receptors for vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem* 1994; 269: 26988-95.
7. Shalaby F, Rossant J, Yamaguchi TP, Gertsenstein M, Wu XK, Breitman ML, Schuh AC. Failure of blood island formation and vasculogenesis in Flk-1 deficient mice. *Nature* 1993; 376: 62-6.
8. Fong GH, Rossant J, Gertsenstein M, Breitman ML. Role of the Flt-1 receptor tyrosine kinase in regulating the assembly of vascular endothelium. *Nature* 1995; 376: 66-70.
9. Sato TN, Tozawa Y, Deutsch U, Wolburg-Buchholz K, Fujiwara Y, Gendron-Maguire M, Gridley T, Wolburg H, Risau W, Qin Y. Distinct roles of the receptor tyrosine kinases Tie-1 and Tie-2 in blood vessel formation. *Nature* 1993; 376: 70-4.
10. Maglione D, Guerriero V, Viglietto G, Delli-Bovi P, Persico MG. Isolation of a human placenta cDNA coding for a protein related to vascular endothelial growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 9267-71.
11. Maglione D, Guerriero V, Viglietto G, Ferraro MG, Aprelikova O, Alitalo K, Del Vecchio S, Lei KJ, Chou JY, Persico MG. Two alternative mRNAs coding for the angiogenic factor, placenta growth factor (PlGF) are transcribed from a single gene of chromosome 14. *Oncogene* 1993; 8: 925-31.
12. Park JE, Chen HH, Winer J, Houck KA, Ferrara N. Placental growth factor. *J Biol Chem* 1994; 269: 25646-54.
13. DiSalvo J, Bayne ML, Conn G, Kwok PW, Trivedi PG, Soderman PD, Palisi TM, Sullivan KA, Thomas KA. Purification and characterization of a naturally occurring vascular endothelial growth factor-placental growth factor heterodimer. *J Biol Chem* 1995; 270: 7717-23.
14. Cao Y, Chen H, Zhou L, Chiang MK, Anand-Apte B, Weatherbee JA, Wang Y, Fang F, Flanagan JG, Tsang MLS. Heterodimers of placental growth factor/vascular endothelial growth factor. Endothelial activity, tumor cell expression and high affinity binding to flk-1/KDR. *J Biol Chem* 1996; 271: 3154-62.
15. Olofsson B, Pajusola K, Kaipainen A, Von Euler G, Joukov V, Saksela O, Orpana A, Pettersson RF, Alitalo K, Ericksson U. Vascular endothelial growth factor B, a novel growth factor for endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 2576-81.
16. Joukov V, Pajusola K, Kaipainen A, Chilov D, Lahtinen I, Kukk E, Saksela O, Kalkkinen N, Alitalo K. A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt-4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosine kinase. *EMBO J* 1996; 15: 290-8.
17. Kaipainen A, Korhonen J, Mustonen T, Van Hinsbergh VWM, Fang GH, Dumont D, Breitman M, Alitalo K. Expression of the fms-like tyrosine kinase 4 gene becomes restricted to lymphatic endothelium during development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 3566-70.
18. Lyttle DJ, Fraser KM, Fleming SB, Mercer AA, Robinson AJ. Homologs of vascular endothelial growth factor are encoded by the poxvirus orf virus. *J Virol* 1994; 68: 84-92.
19. Ladoux A, Frelin C. Hypoxia is a strong inducer of vascular endothelial growth factor mRNA expression in the heart. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 195: 1005-10.
20. Tischer E, Mitchell R, Hartman T, Silva M, Gospodarowicz D, Fiddes JC, Abraham J. The human gene for vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem* 1991; 266: 11947-55.
21. Goldberg MA, Schneider TJ. Similarities between the oxygen sensing mechanisms regulating the expression of vascular endothelial growth factor and erythropoietin. *J Biol Chem* 1994; 269: 4355-9.
22. Semenza GL, Nejfelt MK, Chi SM, Antonarakis SE. Hypoxia inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3' to the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 86: 2301-5.
23. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia induced factor-1 is a basic helix loop helix PAS heterodimer regulated by O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 5510-4.
24. Levy AP, Levy NS, Wegner S, Goldberg MA. Transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor by hypoxia. *J Biol Chem* 1995; 270: 13333-40.
25. Ladoux A, Frelin C. Cobalt stimulates the expression of vascular endothelial growth factor mRNA in rat cardiac cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 204: 794-8.
26. Mukhopadhyay D, Tsiokas L, Zhou XM, Foster D, Brugge JS, Sukhatme VP. Hypoxic induction of human vascular endothelial growth factor expression through c-Src activation. *Nature* 1995; 375: 577-81.

27. Mukhopadhyay D, Tsiokas L, Sukhatme VP. Wild-type p53 and v-Src exert opposing influences on human vascular endothelial growth factor gene expression. *Cancer Res* 1995; 55: 6161-5.
28. Levy AP, Levy NS, Goldberg MA. Post-transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor by hypoxia. *J Biol Chem* 1995; 271: 2746-53.
29. Stone J, Itin A, Alon T, Pe'er J, Gnessin H, Chan-Ling T, Keshet E. Development of retinal vasculature is mediated by hypoxia-induced vascular endothelial growth factor (VEGF) expression by neuroglia. *J Neurosci* 1995; 15: 4738-47.
30. Schweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia initiated angiogenesis. *Nature* 1992; 359: 843-5.
31. Graber TG, Osmanian C, Jacks T, Housman DE, Koch CJ, Lowe SW, Giaccia AJ. Hypoxia mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumours. *Nature* 1996; 379: 88-91.
32. Kloner S, Shook RA, Przyklenk K, Davis VG, Junio L, Matthews RV, Burnstein S, Gibson M, Poole K, Cannon CP, McCabe CH, Braunwald E. Previous angina alters in-hospital outcome in TIMI-4. *Circulation* 1995; 91: 37-47.
33. Speechly-Dick ME, Grower GS, Yellon DM. Does ischemic preconditioning in the human involve protein kinase C and ATP dependent K channels. *Circ Res* 1995; 77: 1030-5.
34. Hashimoto E, Ogita T, Nakaoka T, Mat-suoka R, Takao A, Kira Y. Rapid expression of vascular endothelial growth factor by transient ischemia in rat heart. *Am J Physiol* 1994; 267: H1948-4.
35. Kim KJ, Li B, Winer J, Armanini M, Gillett N, Phillips HS, Ferrara N. Inhibition of vascular endothelial growth factor induced angiogenesis suppresses tumor growth *in vivo*. *Nature* 1993; 362: 841-4.
36. Aiello LP, Pierce EA, Foley ED, Takagi H, Chen H, Riddle L, Ferrara N, King GL, Smith LEH. Suppression of retinal neovascularization *in vivo* by inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) using soluble VEGF-receptor chimeric proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 10457-61.
37. Millauer B, Shawver LK, Plate KH, Risau W, Ullrich A. Glioblastoma growth inhibited *in vivo* by a dominant negative Flk-1 mutant. *Nature* 1994; 367: 576-9.
38. Takeshita S, Zheng LP, Brogi E, Kearney M, Pu LQ, Bunting S, Ferrara N, Symes JF, Isner JM. Therapeutic angiogenesis. A single intraarterial bolus of vascular endothelial growth factor augments revascularization in a rabbit ischemic hind limb model. *J Clin Invest* 1994; 93: 662-70.
39. Takeshita S, Pu LQ, Stein LA, Sniderman AD, Bunting S, Ferrara N, Isner JM, Symes JF. Intramuscular administration of vascular endothelial growth factor induces dose dependent collateral artery augmentation in a rabbit model of chronic limb ischemia. *Circulation* 1994; 90: II 228-34.
40. Bauters C, Asahara T, Sheng LP, Takeshita S, Bunting S, Ferrara N, Symes JF, Isner JM. Physiological assessment of augmented vascularity induced by VEGF in ischemic rabbit hindlimb. *Am J Physiol* 1994; 267: H1263-71.
41. Bauters C, Asahara T, Zheng LP, Takeshita S, Bunting S, Ferrara N, Symes JF, Isner JM. Recovery of disturbed endothelium dependent flow in the collateral perfused rabbit ischemic hindlimb after administration of vascular endothelial growth factor. *Circulation* 1995; 91: 2699-702.
42. Asahara T, Bauters C, Pastore C, Kearney M, Rossow S, Bunting S, Ferrara N, Symes J, Isner JM. Local delivery of vascular endothelial growth factor accelerates reendothelialization and attenuates intimal hyperplasia in balloon injured rat carotid artery. *Circulation* 1995; 91: 2793-801.
43. Davis S, Aldrich TH, Jones PF, Acheson A, Compton DL, Jain V, Ryan TE, Bruno J, Radziejewski C, Maisonpierre PC, Yankopoulos GD. Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the Tie2 receptor by secretion-trap expression cloning. *Cell* 1996; 87: 1161-9.

TIRÉS À PART

C. Frelin.