

NFκB et angiogenèse

Jacques Robert

Inserm U916, Institut Bergonié et Université de Bordeaux Segalen, France

<j.robert@bordeaux.unicancer.fr>

Mots clefs : NFκB, récepteurs toll-like (TLR), tumor necrosis factor (TNF)

Le NFκB est un facteur de transcription activé par de nombreuses voies de signalisation et activant un ensemble de gènes impliqués dans la survie, la prolifération, l'angiogenèse, l'inflammation, etc. Son ciblage présente un intérêt potentiel en oncologie, comme le suggère un article récemment paru qui montre les liens entre activation du NFκB et expression du VEGFA.

Petit rappel sur le NFκB

Le NFκB (*Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells*) est un facteur de transcription situé à un carrefour important : il est activé en aval de plusieurs voies de signalisation dont il est l'aboutissement principal ou accessoire : voie des *Toll-like receptors* (TLR), et de l'interleukine-1 (IL-1), voie du *Tumor necrosis factor* (TNF), voie de la PI3 kinase, via l'activation d'AKT, voie des récepteurs lymphocytaires (figure 1). En réponse à cette activation, NFκB permet à son tour la transcription d'un grand nombre de gènes, impliqués dans les voies de l'apoptose (codant les protéines anti-apoptotiques BCL2, BCL_{X_L}, CIAP1 et CIAP2, XIAP, survivine) ; dans les voies de la prolifération cellulaire (cycline D, MYC) ; dans les voies de l'adhésion et de la motilité cellulaires (ICAM, VCAM, fibronectine, métallo-protéinases) ; dans les voies de l'inflammation (IL-6) ; dans les voies de l'angiogenèse (VEGF, COX2). Il exerce donc essentiellement des effets positifs sur la survie cellulaire et la prolifération. Le NFκB est un hétérodimère associant un facteur NFκB proprement dit, NFκB1 (p50) ou NFκB2 (p52), et un facteur REL (*Reticulo-endotheliosis viral oncogene homolog*), RELA (p65), RELB ou REL. Ces deux types de protéines sont caractérisés par un domaine de dimérisation et de liaison à l'ADN, les facteurs REL possédant

en outre un domaine d'activation de la transcription. Après association dans le cytoplasme, ces hétérodimères migrent dans le noyau et induisent la transcription de leurs gènes cibles. Leur activation est assurée par rupture de leur liaison avec une protéine inhibitrice, IκB (*Inhibitor of*

NFκB). Leur libération est obtenue par phosphorylation d'IκB par une kinase, ce qui la conduit vers le protéasome, et par clivage protéolytique des précurseurs des facteurs NFκB, qui démasque des sites de localisation nucléaire.

En amont, la phosphorylation d'IκB est réalisée par un complexe trimérique de trois protéines, les IκB kinases ou IKK (α, β et γ), la troisième, régulatrice, portant le nom de NEMO (*NFκB essential modulator*). L'activation des IKK peut être réalisée par diverses kinases, surtout des MAP3 kinases comme MEKK7 (TAK1, *TGFβ-activated kinase 1*) en

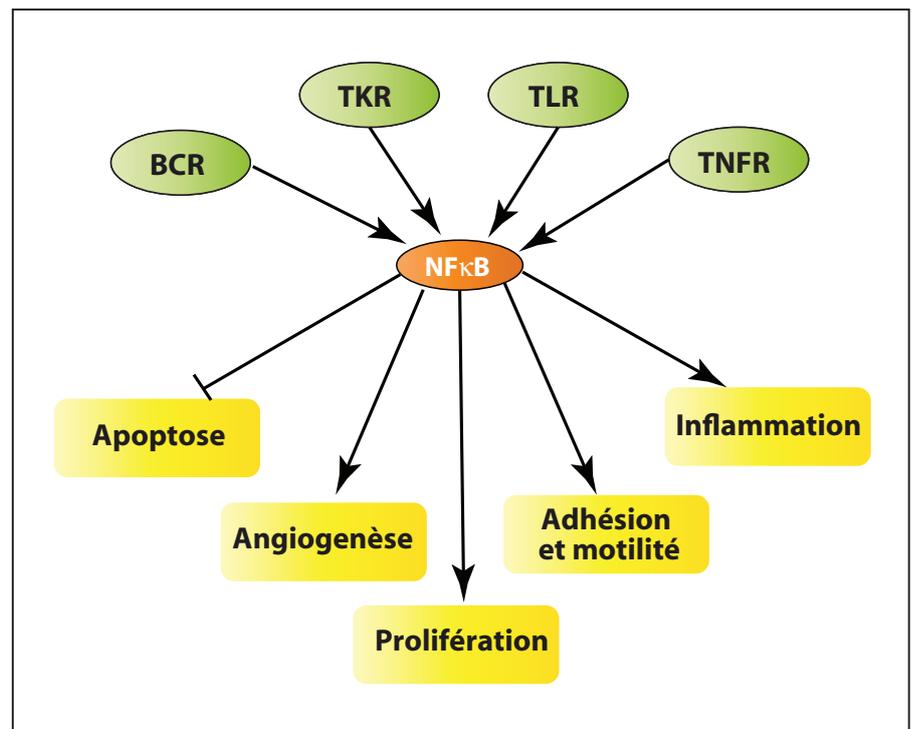


Figure 1. Les facteurs NFκB, activés par de nombreux systèmes de réception de signaux, sont à l'origine de multiples effets, qui tous favorisent le développement des tumeurs. BCR : récepteurs des cellules B ; TKR : récepteurs à activité tyrosine kinase ; TLR : récepteurs *Toll-like* ; TNFR : famille des récepteurs du *tumor necrosis factor*.

Les voies de signalisation

aval du récepteur de l'IL-1 et des *Toll-like receptors*, ou NIK (*NFκB-inducing kinase*) et RIPK1, en aval des récepteurs de la super-famille du récepteur du TNF (TNFRSF), guidées par des protéines adaptatrices TRAF (*TNF receptor associated factor*), formant avec les kinases des complexes transitoires variables (figure 2). Signalons enfin le rôle, immédiatement en aval des *Toll-like* récepteurs et du récepteur de l'IL-1, de la protéine adaptatrice MYD88 (*Myeloid*

differentiation primary response gene 88) et de la kinase IRAK1 (*IL-1 receptor-associated kinase*), responsable de la phosphorylation de la MAP3 kinase TAK1.

NFκB apparaît comme le modulateur des effets pro-oncogéniques de ces voies de signalisation, en raison de son action favorisant la survie et la prolifération. Plusieurs mécanismes d'activation de NFκB dans des tumeurs humaines ou dans des lignées cellulaires tumorales ont été décrits :

- Surexpression ou hyperactivité des différents récepteurs dont l'activation induit, entre autres, celle de NFκB (EGFR, ERBB2, MET, TNFR, intégrines, récepteurs des cytokines) ;
- Surexpression ou hyperactivité des ligands de ces récepteurs (IL-1β, IL-6, TNF, HGF, etc.) ;
- Hyperactivité de kinases cytoplasmiques comme JAK, ABL (en liaison avec la translocation BCR-ABL), AKT (en liai-

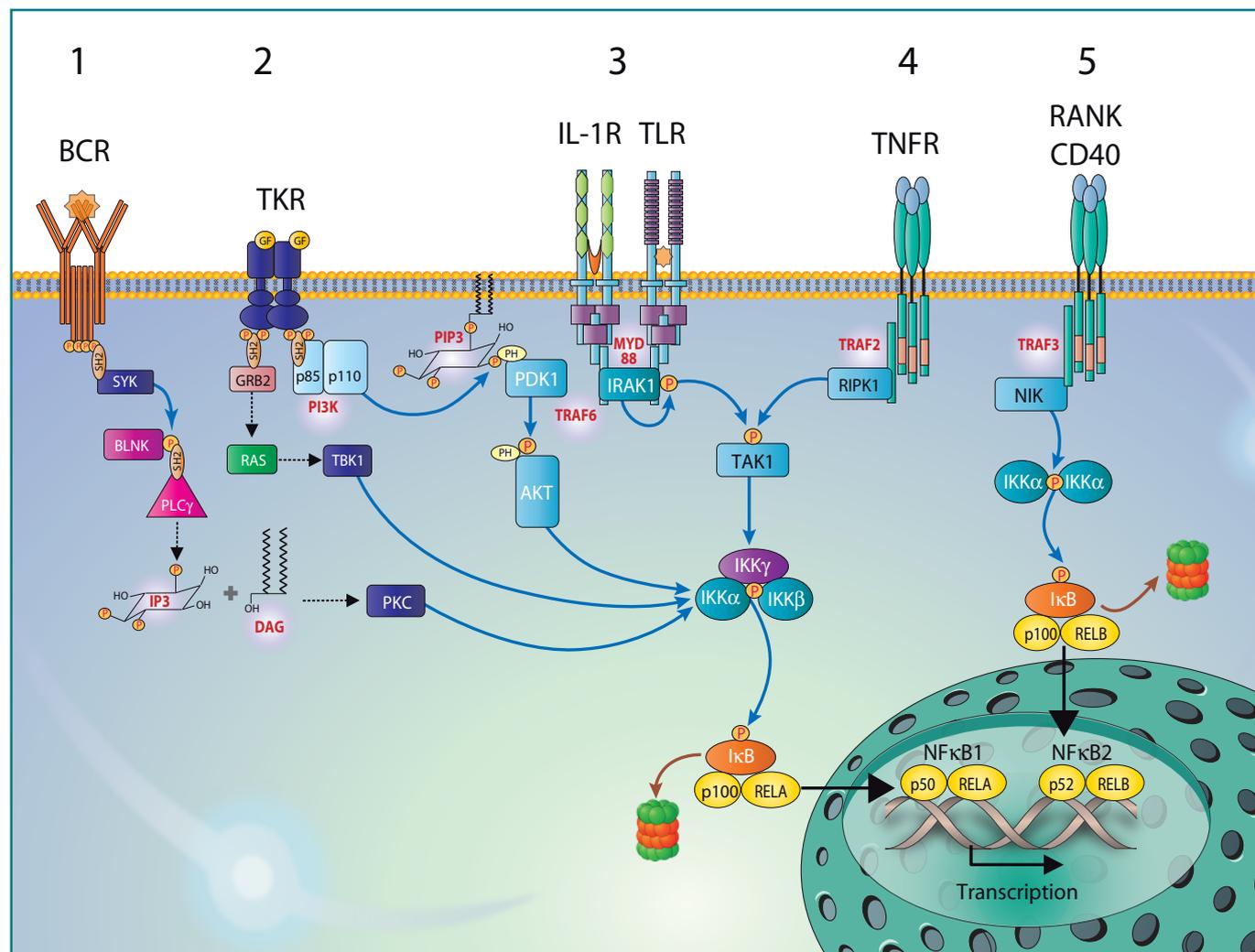


Figure 2. Voies d'activation de NFκB. De nombreux types de récepteurs sont capables d'entraîner l'activation de NFκB, de gauche à droite : (1) les récepteurs lymphocytaires (BCR, TCR), via l'activation de la phospholipase C et ensuite de la protéine kinase C ; (2) certains récepteurs à activité tyrosine kinase (TKR), soit via l'activation de RAS et la phosphorylation de la kinase TBK1, soit par l'activation de la PI3 kinase et, en aval, d'AKT ; (3) le récepteur de l'IL-1 (IL-1R) et des interleukines apparentées (IL-18, IL-33) et les *toll-like* récepteurs (TLR), par activation de la MAP3K TAK1 ; (4) les récepteurs de la superfamille des récepteurs du TNF (TNFR), par activation de la kinase RIPK1. Toutes les voies activées aboutissent à la phosphorylation du complexe IKKα – IKKβ – IKKγ, qui phosphoryle IκB, ce qui la dirige vers le protéasome et libère et permet la protéolyse activatrice du précurseur de NFκB1 (p50) qui, associé à REL-A, peut être transloqué dans le noyau et exercer sa fonction de facteur de transcription. Un cas particulier (5) concerne certains récepteurs de la superfamille du TNF (CD40, RANK) qui activent un complexe homodimérique d'IKKα via une kinase NIK et permettent ensuite l'activation de NFκB2 (p52) associé à REL-B. De nombreuses protéines adaptatrices intermédiaires ne figurent pas dans ce schéma simplifié.



son avec le caractère oncogénique de la voie de la PI3 kinase) ;

- Mutations activatrices de la protéine MYD88 ;
- Mutations des protéines I κ B, accompagnées de la perte de l'allèle non muté, selon les processus classiques d'activation des gènes suppresseurs de tumeurs ;
- Mutations et réarrangements des gènes codant les protéines constitutives des complexes NF κ B, en particulier du gène *REL*, dont des amplifications, délétions et mutations ont été décrites dans les lymphomes B.

Ciblage du facteur de transcription NF κ B

Le ciblage de NF κ B fait l'objet de recherches importantes, avec des applications thérapeutiques envisagées en rhumatologie et en oncologie. D'abord, le blocage des récepteurs de l'IL-1, des TLR ou du TNF, exerce un effet majeur sur la formation du NF κ B. Ensuite, le grand nombre de voies de signalisation activant NF κ B explique que de multiples agents aient un effet sur ce facteur de transcription : inhibiteurs de PI3K, d'AKT, de MAP kinases, etc. Indirectement, l'inhibition du protéasome ralentit la destruction d'I κ B en réponse à sa phosphorylation et diminue l'activation de NF κ B ; ce pourrait être un des mécanismes principaux de l'activité du bortezomib. Les inhibiteurs des histone désacétylases pourraient empêcher, de façon aspécifique, l'exécution des programmes transcriptionnels de NF κ B. Par ailleurs, les antioxydants, les corticostéroïdes, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, etc., peuvent interagir avec les fonctions de transcription du NF κ B au niveau de ses cibles sur l'ADN.

On peut envisager le ciblage de l'activité sérine/thréonine kinase des IKK, en amont de NF κ B ; ces kinases entraînent en effet la destruction d'un inhibiteur de NF κ B. Plusieurs molécules ont été développées dans ce sens, seule la première d'entre elles ayant fait d'objet d'un essai clinique : CHS-828, SC-514, BMS-345541, PS-1145, MLN-120B, BAY-117085.

Au niveau de NF κ B, en revanche, des

approches plus complexes doivent être envisagées : il est toujours très difficile de cibler un facteur de transcription. Dans tous les cas, spécifiques ou aspécifiques, c'est sans doute par potentialisation de la chimiothérapie cytotoxique plus que par leur action isolée que ces approches pourront trouver des applications en clinique.

- Des petites molécules issues de produits naturels, comme la curcumine, le resvératrol, la guggulstérone, la plumbagine, la gossypine, la withanolide ou la génistéine, agiraient au niveau de l'assemblage de NF κ B ou de sa translocation nucléaire ; cependant, le mécanisme d'action exact de ces composés à l'action pléiotrope reste à démontrer.

- Des peptides perméants mimant la structure de NF κ B ou des IKK, NEMO en particulier, ont fait preuve d'une activité potentielle ; ils agissent en particulier à l'interface entre les différentes IKK, ou entre IKK et I κ B, ou encore au niveau de la translocation nucléaire de NF κ B. La difficulté de formuler des peptides thérapeutiques efficaces n'a pas permis, à l'heure actuelle, de tenter des applications cliniques.

- L'interférence ARN et les oligonucléotides antisens dirigés contre les messagers de NF κ B, des IKK ou de TAK1 (MEKK7) sont capables expérimentalement d'inhiber la formation de ces protéines et d'induire un effet antiprolifératif.

- La thérapie génique à l'aide de constructions codant des formes non phosphorylables ou non ubiquitylables d'I κ B, par mutations de ses résidus sérine 32 et 36 ou de ses résidus lysine 21 et 22, a été expérimentée avec succès dans des modèles animaux.

NF κ B et angiogenèse

L'action de la voie du NF κ B sur l'angiogenèse passe vraisemblablement par la stimulation de la transcription du gène *VEGFA* par les facteurs NF κ B une fois activés, comme l'ont montré des travaux déjà anciens [1, 2]. Un travail récent revient sur ce problème, en se focalisant sur les cancers de l'ovaire et en montrant l'efficacité potentielle d'un inhibiteur d'IKK β

dans ces cancers, via une diminution de l'expression du *VEGFA* [3].

Plusieurs essais ont montré l'intérêt d'ajouter le bévacizumab à la chimiothérapie classique des cancers de l'ovaire, et nous nous en sommes fait l'écho à plusieurs reprises dans *VEGF Actu*. La question posée par les auteurs est de savoir si un lien existe entre l'inhibition de la voie du NF κ B et l'expression du *VEGFA*, et surtout si l'inhibition de cette voie peut contribuer au ciblage thérapeutique des cancers de l'ovaire. Ils montrent dans un premier temps, dans une série de 94 patientes, que la présence d'IKK α/β phosphorylé dans le tissu tumoral est un facteur indépendant de mauvais pronostic. De même, l'expression élevée de *VEGFA* dans le tissu tumoral est associée à un mauvais pronostic, et il existe une corrélation entre phosphorylation d'IKK et expression du *VEGFA*.

Une petite molécule, l'IMD-0354 [N-(3,5-bistrifluorométhyl-phényl)-5-chloro-2-hydroxy-benzamide], s'est révélée *in vitro* être un inhibiteur spécifique d'IKK β , inhibant la formation de son substrat I κ B α et, par voie de conséquence, la translocation nucléaire du facteur RELA. Ce composé n'a pas d'action cytotoxique directe sur les lignées de cancer ovarien comme SKOV3, mais il inhibe l'adhésion cellulaire sur la fibronectine et le collagène de type I, ainsi que les propriétés invasives des cellules. Toujours dans ce modèle, les auteurs montrent que l'IMD-0354 entraîne une diminution de l'expression de *VEGFA* en inhibant la transcription du gène *VEGFA* : la délétion des séquences promotrices annule l'effet sur l'expression.

Enfin, dans une série d'expériences *in vivo*, les auteurs montrent que l'IMD-0354 inhibe la dissémination péritonéale des cellules SKOV3 xénotreffées chez la souris *nude*. Il est intéressant de noter que les effets de cette molécule sont indépendants de la prolifération et de la survie cellulaires (le marqueur KI-67 et le clivage de la caspase 3 ne sont pas modifiés par le traitement). Cependant, le nombre de vaisseaux intratumoraux détectés en immunohistochimie par le marqueur CD31 est fortement diminué : l'activité de l'IMD-0354 passe bien par une inhibition de l'angiogenèse.



Ce travail intéressant porte sur une molécule actuellement en phase I ; il aura ou n'aura pas d'avenir, mais il est à mon sens exemplaire de la démarche de recherche translationnelle : à partir d'une observation clinique rétrospective (immunohistochimie de tumeurs de patientes traitées dont le devenir clinique est connu), les aspects mécanistiques explicatifs sont étudiés *in vitro* sur un modèle cellulaire adéquat, puis validés *in vivo* chez la souris *nude* ; le retour vers la clinique est alors envisageable

avec des arguments pertinents pour le choix des patientes qui peuvent bénéficier de la molécule et l'identification de biomarqueurs d'activité de la molécule.

Liens d'intérêts : L'auteur déclare ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Kiriakidis S, Andreakos E, Monaco C, et al. VEGF expression in human macrophages is NF-kappaB-dependent : studies using adenoviruses expressing the endogenous NF-kappaB inhibitor I-kappaB-alpha and a kinase-defective form of the I-kappaB kinase 2. *J Cell Sci* 2003 ; 116 : 665-74.
2. Bancroft CC, Chen Z, Dong G, et al. Coexpression of proangiogenic factors IL-8 and VEGF by human head and neck squamous cell carcinoma involves coactivation by MEK-MAPK and IKKNF-kappaB signal pathways. *Clin Cancer Res* 2001 ; 7 : 435-42.
3. Kinose Y, Sawada K, Makino H, et al. IKK β regulates VEGF expression and is a potential therapeutic target for ovarian cancer as an antiangiogenic treatment. *Mol Cancer Ther* 2015 ; 14 : 909-19.