



Françoise Farace

Laboratoire de recherche translationnelle,
Institut Gustave Roussy, Villejuif
<francoise.farace@igr.fr>

Les cellules endothéliales circulantes

Interview réalisée par David Malka

Que sait-on actuellement des cellules endothéliales circulantes (CEC) ?

Les CEC sont des cellules matures, complètement différenciées, qui sont détachées des vaisseaux sanguins. On les détecte chez le sujet sain, mais en faible nombre, moins de 10 cellules/mL. Le taux de CEC augmente notamment en présence de lésions vasculaires et reflète directement l'importance de la lésion. Les CEC sont donc considérées comme des marqueurs de l'intégrité vasculaire. Ainsi, des taux plus élevés de CEC, comparativement aux taux des sujets sains, ont été trouvés chez des patients atteints de différentes formes de cancer (mais aussi dans toute situation de lésion vasculaire, notamment multifocale : infarctus myocardique ou cérébral, maladies auto-immunes, infections...). Il est donc possible que les CEC participent à l'angiogenèse tumorale. Cependant, ceci n'a à ce jour pas été démontré de façon formelle chez l'homme.

On peut penser également que les progéniteurs endothéliaux (CEP), qui sont issus de la moelle osseuse et sont immatures, contribuent à l'angiogenèse tumorale. Le mécanisme général consiste schématiquement en une mobi-

lisation des CEP à partir de la moelle osseuse en réponse à des facteurs de croissance sécrétés par les cellules tumorales, principalement le VEGF, puis en leur recrutement au site tumoral où elles s'intègrent aux vaisseaux en formation. Les cellules « domiciliées » dans les néovaisseaux tumoraux arborent un phénotype de cellule endothéliale fonctionnelle, assistant les cellules déjà en place dans l'angiogenèse tumorale. Les données s'accumulent dans divers modèles expérimentaux, montrant que les CEP jouent un rôle capital dans l'angiogenèse tumorale au stade métastatique, notamment dans le « switch » entre les stades micro- et macro-métastatique. L'importance de ces cellules chez l'homme est en cours d'évaluation, en particulier en fonction du stade tumoral et du génie évolutif. Nous avons récemment observé des taux de CEP significativement plus élevés chez des enfants atteints de tumeurs solides au stade métastatique comparativement aux enfants avec tumeurs au stade localisé. De fait, dans ce dernier groupe, seuls deux enfants avaient des taux particulièrement élevés, comparables à ceux observés dans le groupe métastatique, et tous deux présentaient des tumeurs certes locales mais particuliè-

rement « agressives » (observations personnelles).

Il n'existe pas, à l'heure actuelle, de biomarqueur validé pour la prédiction de l'efficacité des traitements anti-angiogéniques, comme le bevacizumab. Pouvez-vous nous expliquer pourquoi les CEC et les CEP pourraient être de bonnes candidates ?

Les biomarqueurs proposés pour les traitements anticancéreux conventionnels (chimiothérapie, hormonothérapie, radiothérapie) ne sont pas appropriés pour les anti-angiogéniques, le mécanisme d'action de ces derniers étant différent. Il existe un besoin évident à disposer de biomarqueurs pour ces nouveaux traitements. Les CEC et/ou les CEP sont de bonnes candidates. Un certain nombre de données vont dans ce sens. Par exemple, les résultats préliminaires d'une étude que nous réalisons actuellement chez des patients atteints d'un cancer du rein montrent que les patients chez lesquels les CEC augmentent sous traitement anti-angiogénique sont ceux qui ne répondent pas à ce dernier. Concernant les CEP – qui sont probablement des cibles « judicieuses » des anti-angiogéniques –, une étude hollan-

daïse récente chez 42 patients atteints de cancer du poumon ou de cancer du rein rapporte une augmentation du taux des CEP sous traitement anti-angiogénique et une corrélation significative avec le bénéfice clinique et/ou la survie sans progression.

Comment mesure-t-on les CEC et les CEP ?

Les CEC et CEP sont extrêmement rares parmi les cellules mononucléées circulantes : de l'ordre de une à dix sur un million chez le sujet sain ! Il est donc assez ardu de les mesurer. Il n'existe pas encore de consensus sur les méthodes de mesure les plus adéquates. Les méthodes que nous avons développées pour les mesures des CEC et des CEP reposent sur la cytométrie de flux. Du fait de leur rareté, nous mesurons les CEC dans 1 mL de sang total (au lieu de 100 µL pour les phénotypes de routine en cytométrie de flux). En cytométrie de flux, les CEC sont négatives pour CD45 (marqueur des cellules hématopoïétiques) et positives pour les marqueurs CD31 (marqueur des cellules hématopoïétiques et des cellules endothéliales) et CD146 (marqueur des cellules endothéliales et d'une fraction des lympho-

cytes T). Il est important de signaler qu'il n'existe pas à ce jour de marqueur ou de combinaison de marqueurs parfaitement consensuels. Nous avons aussi mis au point des procédures spécifiques de la détection des événements rares, tels un ensemble de contrôles rigoureux ou l'utilisation d'un marqueur de viabilité cellulaire (7-AAD). Quatre marqueurs étant analysés simultanément, nous utilisons une cytométrie « quatre couleurs ». Nous mesurons les CEP à partir d'un échantillon de 10 mL de sang total, après méthode d'enrichissement en cellules progénitrices (élimination « par capture anticorps » des cellules différenciées). Le phénotype recherché est CD45 négatif ou faible, CD34 (marqueur des progéniteurs hématopoïétiques et endothéliaux) positif, VEGF-R2 (ou KDR, marqueur principalement endothélial, à la différence du VEGF-R1, assez souvent exprimé par les cellules hématopoïétiques) positif, et 7-AAD négatif (cellules viables). Ces méthodes sont relativement complexes, nécessitant une expertise technique, et ne sont donc pas facilement exportables. Toutefois, pour les CEC, un automate est commercialisé, mais peu de centres en disposent à l'heure actuelle.

Quels autres biomarqueurs sont envisageables ?

Les principaux candidats sont les taux plasmatiques des facteurs de croissance impliqués dans l'angiogenèse ou de leurs récepteurs (VEGF, bFGF, VEGF-R2 soluble...), ainsi que les protéines solubles produites par les cellules endothéliales ou d'autres cellules impliquées dans l'angiogenèse (V-CAM-1 soluble, E- et P-sélectine...). Il émerge des études cliniques qu'une augmentation du VEGF plasmatique, et une diminution concomitante de la forme soluble du VEGF-R2, sont habituellement observées chez les patients traités par anti-angiogéniques. Cependant, ces modifications ne semblent pas être prédictives de l'efficacité thérapeutique. Des travaux récents sur des modèles murins suggèrent que les variations observées seraient peut-être plus prédictives de la dose biologique optimale, dont on sait pour les anti-angiogéniques qu'elle peut être difficile à déterminer, et non corrélée à la dose maximale tolérable. On s'orienterait ainsi vers des outils de monitoring pharmacologique plutôt que vers des biomarqueurs prédictifs proprement dits.



À l'occasion de sa création, la **Société Française d'Angiogenèse (SFA)**, réunira l'ensemble des acteurs – chercheurs, cliniciens, étudiants et industriels – les **28 et 29 novembre 2008** à Chantilly pour son tout **premier congrès national**.

Deux jours pour partager nos découvertes et multiplier les échanges autour de l'angiogenèse de la recherche fondamentale jusqu'aux traitements des malades.

Nous comptons sur votre présence.

Renseignements et inscriptions
Vanessa Boyer au 01 41 10 08 08 ou
à congresangiogenese@lesroismages.fr