

Outre le VEGF, un autre acteur de l'angiogenèse pathologique : le *placental growth factor* et son récepteur le VEGF-R1

Evelyne Dupuy

Institut des Vaisseaux et du Sang ; Angiogenèse Recherche et Translationnelle Inserm U965 « Equipe labellisée Ligue 2009 » ; Hôpital Lariboisière, Université Paris7-Denis Diderot <evelyne.dupuy@lrp.aphp.fr>

Une trentaine d'années après la première publication de Folkman [1] sur l'angiogenèse tumorale et quinze ans après la découverte du « *vascular endothelial growth factor* » (VEGF) [2], un anticorps monoclonal humanisé ciblant le VEGF, le bevacizumab, a pour la première fois fait la preuve de l'efficacité d'un traitement anti-angiogénique dans le cancer [3].

La famille du VEGF s'est depuis largement agrandie. Elle se compose de plusieurs ligands : des VEGF-A,-B,-C,-D, des « *placental growth factor* » (PlGF-1,-2) chez l'homme, du VEGF-E codé par le paraxovirus Orf, et du VEGF-F isolé du venin de serpent [4, 5]. Trois récepteurs (VEGF-R1,-2,-3) et 2 corécepteurs (neuropiline-1,-2) ont été identifiés [4, 5].

Le VEGF-A se lie au VEGF-R1 et au VEGF-R2 et les VEGF-E et VEGF-F se lient spécifiquement au VEGF-R2 avec une forte affinité. Les VEGF-C,-D se lient au VEGF-R2 et sont des ligands spécifiques du VEGF-R3. Ils sont impliqués majoritairement dans la lymphangiogenèse car le VEGF-R3 est exprimé par les cellules endothéliales (CE) lymphatiques. Les VEGF-A,-B,-E et le PlGF-2 fixent la neuropiline-1 [4, 5].

Le VEGF-A,-B et les PlGF sont des ligands du VEGF-R1. Le VEGF-B est un ligand spécifique du VEGF-R1 dont il existe deux isoformes [6]. Le VEGF-B_{186'} est sécrété alors que le VEGF-B_{167'} isoforme prédominante, est lié à la membrane cellulaire par son domaine de liaison aux héparane-sulfates [5, 6].

Les 3 récepteurs possèdent un domaine extracellulaire constitué de sept domaines IgG-like, un domaine transmembranaire, un domaine juxtamembranaire et un domaine intracellulaire portant l'activité tyrosine-kinase. La région en aval du 4^e au 7^e domaine jouerait un rôle important dans la dimérisation et l'activation de ces récepteurs. Les VEGF-R1 et VEGF-R2 forment des hétérodimères avec les NRP et ces interactions pourraient réguler l'activité du VEGF-A (figure 1) [4, 5].

VEGF-R1 (Flt1)

Le VEGF-A se lie aux VEGF-R1 et VEGF-R2 avec des caractéristiques de liaison différentes qui déterminent probablement leurs rôles spécifiques dans la mise en place de l'arbre vasculaire au cours du développement et dans l'angiogenèse postnatale. L'inactivation du gène de VEGF-R2 entraîne un blocage de l'hématopoïèse, du développement vasculaire et la mort des embryons.

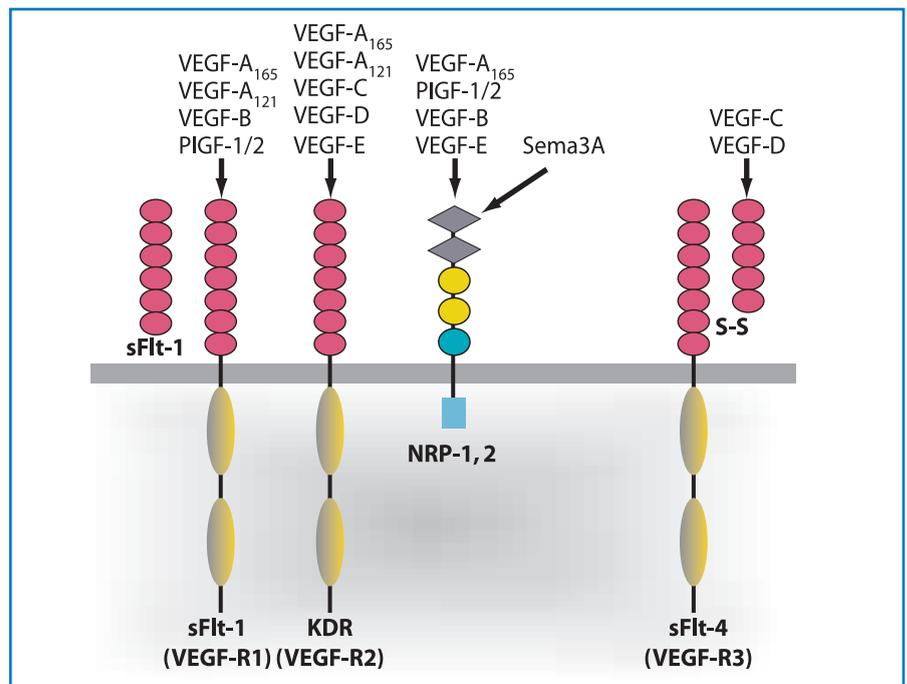


Figure 1. La famille du VEGF.

Le gène du VEGF-R1 contient 30 exons dont l'épissage alternatif aboutit à une forme soluble de la protéine (sVEGF-R). La délétion de VEGF-R1 est létale avec surproduction et désorganisation du réseau vasculaire, alors que les souris exprimant un VEGF-R1 variant, n'exprimant pas le domaine tyrosine kinase (*Flt^{TK-/-}*) mais capable de séquestrer le VEGF-A, sont viables et sans anomalie vasculaire. La forte affinité du VEGF-R1 pour le VEGF-A et sa faible activité tyrosine kinase ont conduit au concept que le VEGF-R1, en servant de piège au VEGF-A, contrôlerait l'angiogenèse chez l'embryon [6-8].

Si le VEGF-R2 joue un rôle principal dans la prolifération des CE, le VEGF-R1 serait plus impliqué dans les mécanismes de migration et de différenciation des CE en réseau vasculaire en impliquant la voie de signalisation NF- κ B [6, 7]. Une transactivation entre VEGF-R1 et VEGF-R2 est décrite après activation du VEGF-R1 par le PlGF et ces deux récepteurs peuvent former des hétérodimères [6].

Régulateur négatif de la vasculogenèse chez l'embryon, le VEGF-R1 est un régulateur positif de l'angiogenèse pathologique chez l'adulte [6, 8]. Chez

l'adulte, en conditions physiologiques et pathologiques, les fonctions du VEGF-A sont principalement liées à la signalisation du VEGF-R2, récepteur exprimé majoritairement par les CE qu'elles soient quiescentes ou « angiogéniques ». A la différence du VEGF-R2, le VEGF-R1 est exprimé par les CE engagées dans un processus angiogénique et peu par les CE quiescentes. Il est également exprimé par les macrophages, les cellules dendritiques, les précurseurs médullaires myéloïdes, les cellules murales (péricytes et cellules musculaires lisses), les progéniteurs endothéliaux et de nombreuses cellules tumorales [6-8]. La signalisation du VEGF-R1 permet le recrutement des progéniteurs endothéliaux au site d'une angiogenèse pathologique (post-ischémique ou tumorale), des macrophages au site tumoral, des cellules murales et des cellules dendritiques [6]. La niche pré-métastatique est déterminée par les précurseurs médullaires mononucléés exprimant le VEGF-R1 (*figure 2*) [9]. Une diminution de la réponse inflammatoire, de la néovascularisation choroïdienne et de la croissance de tumeurs surexprimant le PlGF sont décrites chez les souris *Flt^{TK-/-}* [6, 8]. Peu exprimé

par les vaisseaux normaux, le VEGF-R1 est fortement exprimé par les vaisseaux tumoraux et sa synthèse est augmentée par l'hypoxie [6, 8]. Son degré d'expression est corrélé aux récurrences et aux métastases dans le cancer du sein et le cancer du poumon non à petites cellules [6]. Des anticorps anti-VEGF-R1 ou des peptides neutralisants diminuent l'inflammation et l'angiogenèse dans des modèles de cancer, d'athérosclérose et d'arthrite en partie par l'inhibant du recrutement des précurseurs myéloïdes médullaires [6]. Le sVEGF-R1, composé du domaine extracellulaire du VEGF-R1, fixe le VEGF avec une forte affinité et inhibe la prolifération des cellules endothéliales en réponse au VEGF-A [6]. La transfection de cellules tumorales par le sFlt-1 bloque la croissance tumorale et retarde l'apparition des métastases *in vivo*. Le sVEGF-R1, exprimé par les trophoblastes et les CE du placenta, pourrait jouer un rôle régulateur dans la vascularisation placentaire. Des taux sériques élevés de sVEGF-R1 sont observés au cours de prééclampsie et dans différents cancers [6].

PlGF

Le PlGF possède 42 % d'homologie dans sa composition en acides aminés avec le VEGF-A. Le gène du PlGF contient 7 exons et code pour 4 isoformes (PlGF-131, -152, -203 et 224) par épissage alternatif de l'ARN. L'inactivation du gène du PlGF n'entraîne pas de modifications phénotypiques majeures et n'est pas létale. Toutefois, les souris invalidées pour le gène du PlGF présentent une diminution de la revascularisation après ischémie du membre inférieur et une diminution de la croissance tumorale. À l'inverse, les souris surexprimant le gène du PlGF ont un phénotype hypervasculaire avec une augmentation de l'inflammation et de la perméabilité vasculaire [6].

Le PlGF est faiblement exprimé dans la plupart des tissus sains en dehors du placenta, alors qu'il est, comme son récepteur, fortement exprimé en situations pathologiques [6]. De nombreuses cellules expriment le PlGF dont les CE, les précurseurs médullaires, les fibroblastes, les kératinocytes, les leuco-

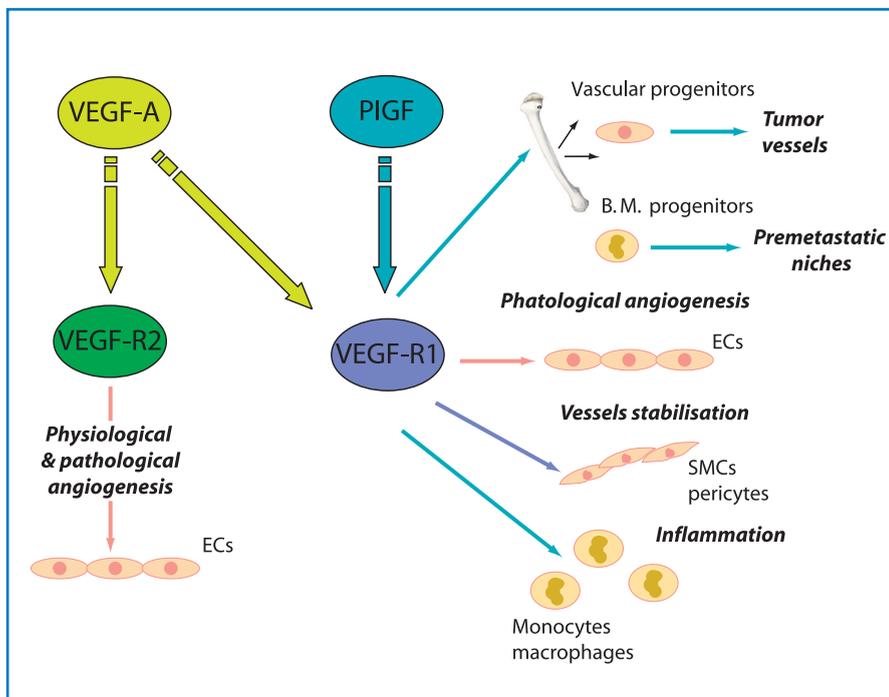


Figure 2. Le couple PlGF/VEGF-R1.

cytes, les cellules neuronales, les cardiomyocytes et les cellules tumorales. Sa synthèse est stimulée par l'hypoxie, l'oxyde nitrique (NO), les cytokines pro-inflammatoires (IL-1, TNF α) et les facteurs de croissance (VEGF-A et TGF β).

Les réponses cellulaires multiples du PlGF sont liées à la signalisation du VEGF-R1. Le PlGF induit une phosphorylation du VEGF-R1 beaucoup plus importante que celle induite par le VEGF-A sur des résidus tyrosine différents [6-8]. Le PlGF joue un rôle dans la réaction inflammatoire et angiogénique au cours de diverses pathologies (ischémiques, tumorales, polyarthrite). Il participe à la réparation osseuse et tissulaire. Le PlGF, en recrutant les cellules souches hématopoïétiques exprimant VEGF-R1, induit la différenciation, la mobilisation et la reconstitution de l'hématopoïèse [6]. Le PlGF est surexprimé dans la plupart des tumeurs hypervascularisées et son taux est corrélé à la récurrence, aux métastases et au mauvais pronostic [6]. Toute-

fois, cet effet pro-angiogénique a été discuté. Quand le PlGF et le VEGF-A sont produits par une même tumeur, la formation d'hétérodimères VEGF-A/PlGF aurait une activité anti-angiogénique en piégeant le VEGF-A et en diminuant la formation des homodimères VEGF-A/VEGF-A.

Une étude récente a démontré qu'un anticorps monoclonal anti-PlGF diminuait la croissance tumorale et les métastases dans plus de 12 modèles de xénogreffes en diminuant la réponse inflammatoire, l'angiogenèse et la lymphangiogenèse péri-tumorale sans affecter la vascularisation normale. Le couple PlGF/VEGF-R1 exerce essentiellement son activité pro-angiogénique en situation pathologique.

Une avancée considérable a été apportée par le bevacizumab et les inhibiteurs de tyrosine-kinase. Mais comme lors de tout traitement innovant, de nombreuses questions ont été soulevées, qu'elles soient relatives aux effets

secondaires, aux résistances, au phénomène de rebond à l'arrêt du traitement, à l'augmentation du potentiel métastatique et invasif. Le PlGF pourrait représenter une autre cible thérapeutique potentielle.

Références

1. Folkman J. *N Engl J Med* 1971 ; 285 : 1182-6.
2. Ferrara N, Henzel WJ. *Biochem Biophys Res Commun* 1989 ; 161 : 851-8.
3. Hurwitz H, et al. *N Engl J Med* 2004 ; 350 : 2335-42.
4. Ferrara N, et al. *Nat Med* 2003 ; 9 : 669-76.
5. Roskoski R Jr. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007 ; 62 : 179-213.
6. Fischer C, et al. *Nat Rev Cancer* 2008 ; 8 : 942-65.
7. Shibuya M. *J Biochem Mol Biol* 2006 ; 39 : 469-78.
8. Shibuya M. *Angiogenesis* 2006 ; 9 : 225-30.
9. Kaplan RN, et al. *Nature* 2005 ; 438 : 820-7.
10. Fischer C, et al. *Cell* 2008 ; 131 : 463-75.

