

Le thalidomide stimule la maturation vasculaire : implications thérapeutiques potentielles

Christopher Hutton, Franck Lebrin

Unité mixte de recherche CNRS 7241/Inserm U1050,

Center for Interdisciplinary Research in Biology (CIRB), Collège de France, Paris

<franck.lebrin@college-de-France.fr>

Prescrit dans les années 1950-1960 comme sédatif et anti-émétique à des femmes enceintes, le thalidomide est à l'origine du plus grand scandale de sécurité sanitaire de ces cinquante dernières années. Responsable de très graves malformations chez le fœtus, ce médicament fut retiré du marché en 1961. On estime que près de 12 000 enfants ont été victimes du thalidomide dans une quarantaine de pays ; 4 000 n'ont pas survécu [1-8]. Malgré cette action tératogène, le thalidomide est apparu dès cette époque comme ayant un potentiel anti-tumoral. Il a par la suite été réintroduit pour traiter des maladies graves en l'absence d'autres options thérapeutiques, notamment les myélomes multiples, certaines maladies auto-immunes ou inflammatoires comme le lupus érythémateux disséminé ou la maladie de Crohn, les complications de la lèpre et certains cancers [3]. En 2008, une autorisation européenne de mise sur le marché a été accordée. En France, la commercialisation a débuté en 2009 mais uniquement en milieu hospitalier, sous surveillance stricte et avec la mise en place d'un plan de gestion des risques.

Le thalidomide est un dérivé synthétique de l'acide glutamique qui possède des propriétés immuno-modulatrices, anti-inflammatoires et anti-angiogéniques. En plus de son action inhibitrice sur l'expression du *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α), le thalidomide affecte les voies de signalisation des cytokines pro-inflammatoires qui conduisent à l'activation des lymphocytes T cytotoxiques [3]. En 1994, Folkman a mis en évidence que le thalidomide était un inhibiteur de l'angiogenèse et que les propriétés anti-angiogéniques de ce composé étaient responsables du développement des malformations congénitales [9]. Cependant le mécanisme d'action sur les vaisseaux sanguins reste mal compris. Nous avons récemment rapporté que le thalidomide était efficace dans le traite-

ment d'une maladie génétique rare entraînant des saignements abondants, la maladie de Rendu-Osler (MRO). Nous avons mis en évidence que le mécanisme d'action du thalidomide repose sur une stimulation de la maturation du réseau vasculaire et non pas sur une simple inhibition de la croissance des vaisseaux sanguins [10]. Cette revue synthétise les dernières découvertes concernant les mécanismes d'action de cette molécule sur l'angiogenèse.

Propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques du thalidomide

Le thalidomide est constitué d'un mélange racémique d'énantiomères S(-) et R(+) interconvertibles dans les conditions physiologiques. Ces formes possèdent des activités biologiques différentes, l'isomère S(-) étant responsable de l'effet tératogène alors que l'isomère R(+) est associé aux effets sédatifs du thalidomide. L'absorption orale est rapide avec un pic plasmatique à 4 heures. Le thalidomide est métabolisé au niveau du foie probablement par une hydrolyse non enzymatique, aboutissant à la production d'au moins douze métabolites dont certains pourraient avoir une activité pharmacologique propre. Des composés hydroxylés sont également détectés dans le plasma et les urines. La détermination des mécanismes d'action du thalidomide est donc rendue difficile par sa complexité pharmacocinétique et de par le nombre des métabolites [3, 8].

Mécanismes d'action du thalidomide sur l'angiogenèse

Une avancée majeure dans la compréhension des mécanismes qui régulent l'angiogenèse par bourgeonnement est certainement la reconnaissance du rôle essentiel dans ce processus de l'hétérogénéité des cellules endothéliales, sur le plan

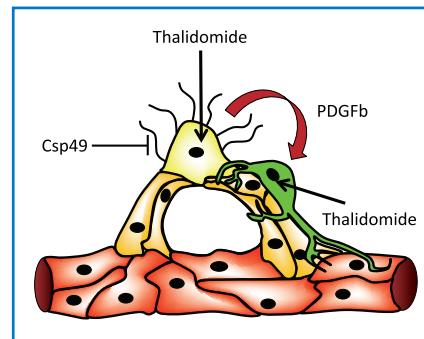


Figure 1. Mécanismes par lesquels le thalidomide régule l'angiogenèse. Csp49 est un analogue du thalidomide qui cible spécifiquement les cellules endothéliales spécialisées « Tip » et inhibe la formation des filopodes. Le thalidomide régule la maturation vasculaire par deux mécanismes distincts. Il stimule l'expression du PDGF-B produit par la cellule Tip, favorisant ainsi le recrutement des péricytes, et contrôle directement la prolifération et la maturation des péricytes par des mécanismes inconnus. Cellules endothéliales spécialisées « Tip » (jaune), « Stalk » (orange) et « Phallanx » (rouge). Les péricytes sont en vert.

fonctionnel et au niveau des profils d'expression des gènes. Schématiquement, une cellule particulière appelée cellule « Tip » initie la formation du tube vasculaire et induit un bourgeonnement en détruisant la membrane basale du vaisseau ; elle progresse dans le tissu conjonctif sous-jacent grâce à des filopodes. Le bourgeon croît par la prolifération de cellules endothéliales appelées cellules « Stalk » guidées par la cellule « Tip » qui contrôle également la spécificité de ces dernières. La formation de la lumière vasculaire permet la circulation du flux sanguin et l'oxygénation des tissus d'où la réduction de la sécrétion locale de *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF). Il s'ensuit alors une reconstitution de la membrane basale et la stabilisation du réseau vasculaire par le recrutement des cellules murales (péricytes et cellules musculaires lisses vasculaires) qui est dépendante de l'expression de *Platelet Derived Growth Factor-B* (PDGF-B) [11-14].

Le thalidomide cible la cellule endothéliale spécialisée « Tip »

Récemment, des métabolites et analogues du thalidomide ayant conservé soit une activité anti-inflammatoire, soit une activité anti-angiogénique, ont été isolés, afin de disséquer *in vivo* la relation existante entre la structure et la fonction de cette molécule. Ainsi CSP49, un analogue du thalidomide, cible spécifiquement les cellules endothéliales spécialisées « Tip » et inhibe la formation et l'extension des filopodes bloquant la migration des cellules (figure 1). Il en résulte une inhibition de l'angiogenèse responsable des malformations congénitales observées chez l'embryon de poulet et le poisson zèbre [15]. Cependant, les mécanismes par lesquels CSP49 cible spécifiquement les cellules « Tip » et contrôle la formation des filopodes restent à déterminer. CSP49 régule l'activation de p38α SAPK (*Stress Activated Protein Kinase*) qui peut induire l'apoptose des cellules en culture [16]. L'expression de nombreuses molécules impliquées dans la régulation de l'angiogenèse est également modifiée en réponse à un traitement par le thalidomide. Ces molécules incluent les intégrines, le VEGF, les angiopoïétines, la céramide/sphingosine 1-phosphate, l'*Hepatocyte Growth Factor* (HGF) et l'*Insulin Growth Factor-1* (IGF-1) [5]. Leur fonction respective dans le développement des malformations congénitales reste inconnue. Enfin, d'autres hypothèses sont avancées pour expliquer les effets tératogènes du thalidomide ; elles impliquent le stress oxydatif et l'interaction directe entre le thalidomide et la protéine *Cereblon* (CRBN) (figure 2) [8, 17].

Le thalidomide stimule la maturation vasculaire

Récemment, nous avons constaté que l'administration de thalidomide stimule fortement l'interaction entre les cellules endothéliales et les cellules murales dans différents modèles d'angiogenèse *in vitro* et *in vivo*. Le thalidomide n'agit donc pas comme simple bloqueur des vaisseaux sanguins mais contrôle la maturation de ces derniers. Le mécanisme d'action est double : d'une part, le thalidomide stimule la production d'un facteur de croissance essentiel au recrutement des cellules murales, le PDGF-B et, d'autre part, il stimule directement la prolifération et la maturation des cellules murales par des mécanismes qui restent à identifier (figure 1). Sous thalidomide, l'interaction entre les

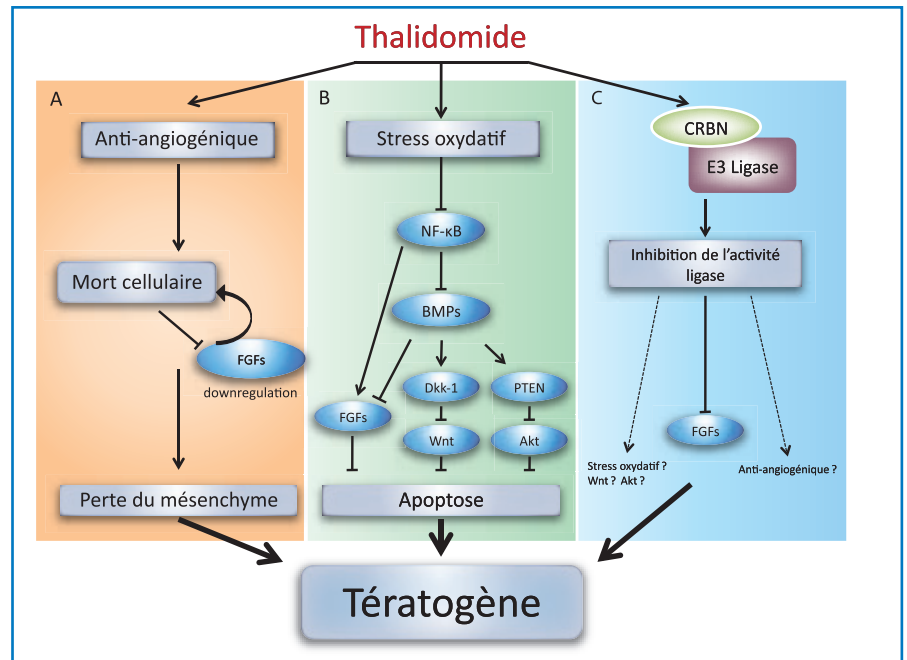


Figure 2. Différents modèles proposés pour expliquer les effets tératogènes induits par le thalidomide. (A) Les propriétés anti-angiogéniques du thalidomide sont responsables du développement des malformations congénitales. L'inhibition de la formation des néovaisseaux au cours du développement s'accompagne d'une mort cellulaire importante et d'une diminution de l'expression de FGFS/FGF10 qui sont des facteurs de croissance importants pour la formation des membres. (B) L'administration de thalidomide induit la formation de radicaux libres (ROS). Ce stress oxydatif stimule l'expression des BMPs (*Bone Morphogenetic Proteins*) en raison d'une activation aberrante de la voie NFκB. Il en résulte une dérégulation des voies FGFS/FGF10, AKT et WNT qui sont importantes pour la survie et la prolifération des cellules au cours de l'embryogenèse. (C) Le thalidomide se fixe directement à la protéine CRBN et inhibe son activité ubiquitine ligase. Il en résulte une inhibition de l'expression de FGFS/FGF10. Il semble que CRBN puisse également intervenir dans la régulation du stress oxydatif et de l'angiogenèse. Cependant cette hypothèse n'est pas démontrée expérimentalement.

cellules endothéliales et les cellules murales apparaît favorisée, contrôlant la densité du réseau vasculaire, le diamètre et la perméabilité des vaisseaux sanguins [10].

Thalidomide et maturation vasculaire : implications thérapeutiques

Le thalidomide réduit les épistaxis chez les patients MRO

La MRO est une maladie génétique rare due à un remodelage de vaisseaux distaux qui les fragilise. Affection héréditaire à transmission autosomique dominante, elle est causée par des mutations sur les gènes *ENG* et *ACVLR1*, qui codent respectivement pour l'endogline et l'*Activin-like receptor kinase-1*, deux récepteurs de la signalisation du *Transforming Growth Factor-β* (TGF-β) exprimés au niveau de la cellule endothéliale. Les symptômes

caractéristiques de la MRO incluent des malformations artério-veineuses (MAV) larges et des télangiectasies cutanéo-muqueuses, lésions vasculaires caractérisées par une dilatation de la lumière des vaisseaux sanguins et des défauts de recouvrement par les cellules murales [18]. Les manifestations les plus communes consistent en des épistaxis spontanées et répétées, souvent associées à des hémorragies digestives. Nous avons récemment testé le thalidomide sur un groupe de sept patients avec MRO âgés de 48 à 75 ans présentant des atteintes importantes. Les participants ont reçu une dose quotidienne de 100 mg de thalidomide par voie orale pendant six mois à cinq ans. Nous avons observé une diminution de la fréquence et de la durée des épistaxis et une élévation du taux d'hémoglobine dans le sang. En utilisant un modèle génétique murin reproduisant les défauts de communication entre les cellules endothéliales et les



cellules murales caractéristiques de la MRO, nous avons mis en évidence que l'administration de thalidomide stimule la maturation vasculaire et corrige les anomalies de la paroi vasculaire. *In fine*, nos résultats ouvrent des perspectives importantes dans le traitement des malformations vasculaires héréditaires par un ciblage des cellules murales [10].

Thalidomide et normalisation du réseau vasculaire tumoral

Jain a avancé l'hypothèse selon laquelle une application judicieuse d'anti-angiogéniques permettrait de « normaliser » de façon transitoire la vascularisation tumorale, augmentant ainsi l'efficacité de la chimiothérapie et de la radiothérapie [19]. Cependant, quels sont les mécanismes et les molécules capables de normaliser le réseau vasculaire ? Hamzah *et al.* ont montré, dans un modèle de carcinogé-

nèse pancréatique, que la perte d'expression du récepteur RGS5 stimule la maturation des péricytes qui acquièrent alors un phénotype contractile induisant une normalisation du réseau vasculaire. De façon inattendue, l'immunothérapie s'avère particulièrement efficace dans ce contexte de maturation du réseau vasculaire suggérant un rôle important des péricytes dans l'extravasation des lymphocytes T cytotoxiques [20]. Nos données ouvrent de nouvelles perspectives quant au mode d'action du thalidomide sur le développement tumoral. Le thalidomide pourrait agir sur les péricytes favorisant la normalisation du réseau vasculaire. Une amélioration de l'oxygénation de certaines tumeurs solides a d'ailleurs été observée en réponse à un traitement par le thalidomide [21]. Enfin, en stimulant la maturation vasculaire, le thalidomide pourrait favoriser la colonisation des tumeurs par

les cellules lymphocytes T cytotoxiques permettant l'élimination des cellules cancéreuses.

Conclusion

Les travaux récents effectués sur le thalidomide fournissent la première preuve, à notre connaissance, qu'un traitement ciblant les cellules murales plutôt que les cellules endothéliales peut avoir des effets positifs sur les saignements dus à des malformations vasculaires. Ils valident le ciblage des cellules murales comme nouvelle stratégie thérapeutique pour le traitement des malformations vasculaires et ouvrent des perspectives importantes quant au mode d'action du thalidomide sur le développement tumoral. Le thalidomide exerce des effets tératogènes et est susceptible d'entraîner des atteintes des nerfs périphériques. Il est urgent dans ce contexte de cribler des analogues du thalidomide qui seraient capables de stimuler la maturation vasculaire sans induire les effets indésirables de ce médicament.

Conflits d'intérêts : aucun.

Références

1. Francks ME, *et al. Lancet* 2004 ; 363 : 1802-11.
2. Bartlett JB, *et al. Nat Rev Cancer* 2004 ; 4 : 314-22.
3. Melchert M, List A. *Int J Biochem Cell Biol* 2007 ; 39 : 1489-99.
4. Knobloch J, Ruther U. *Cell Cycle* 2008 ; 7 : 1121-7.
5. Vargesson N, *et al. Bioassays* 2009 ; 31 : 1327-36.
6. McBride WG, *et al. Teratology* 1977 ; 16 : 79-82.
7. Lenz W, *et al. Teratology* 1988 ; 38 : 203-15.
8. Ito T, *et al. Cell Mol Life Sci* 2011 ; 68 : 1569-79.
9. D'Amato RJ, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1994 ; 91 : 4082-5.
10. Lebrin F, *et al. Nature Med* 2010 ; 16 : 420-8.
11. Eilken HM, Adams RH. *Curr Opin Cell Biol* 2010 ; 22 : 617-25.
12. Jackobsson L, *et al. Nat Cell Biol* 2010 ; 12 : 943-53.
13. Gaengel K, *et al. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009 ; 29 : 630-8.
14. Armulik A, *et al. Dev Cell* 2011 ; 21 : 193-215.
15. Therapontos C, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 2009 ; 106 : 8573-8.
16. Warfel NA, *et al. Clin Cancer Res* 2006 ; 12 : 3502-9.
17. Ito T, *et al. Science* 2010 ; 327 : 1345-50.
18. Shovlin CL. *Blood Rev* 2010 ; 11 : 2-15.
19. Jain RK. *Science* 2005 ; 307 : 58-62.
20. Hamzah J, *et al. Nature* 2008 ; 453 : 410-4.
21. Goels S, *et al. Physiol Rev* 2011 ; 91 : 1071-121.

Pour le clinicien Thalidomide : enfin un traitement efficace des angiodysplasies ?

David Malka, Institut Gustave Roussy, Villejuif
david.malka@igr.fr

La prise en charge des saignements digestifs liés aux angiodysplasies constitue un véritable défi thérapeutique. Leur nombre et leur localisation rendent parfois le traitement endoscopique impossible ; aucun traitement médicamenteux n'a à ce jour démontré son efficacité dans cette indication. Après quelques observations anecdotiques suggérant l'intérêt du thalidomide, voici le premier essai randomisé évaluant ce médicament pour le traitement des hémorragies digestives liées aux angiodysplasies résistantes aux traitements conventionnels. Au total, 55 patients (femmes : 84 % ; âge médian : 58 ans) ont été randomisés pour recevoir pendant 4 mois soit du thalidomide (100 mg/j, n = 28), soit du fer par voie orale (100 mg/j, n = 27). Après un suivi médian de 39 mois, le taux de réponse, critère principal de jugement de l'essai défini comme la proportion de patients chez qui la fréquence des hémorragies diminuait de moitié au moins pendant l'année de suivi comparée à l'année précédente, a été de 71 % dans le groupe thalidomide contre 4 % dans le groupe fer (p < 0,001). Une absence de saignement a été observée chez 46 % des patients du groupe thalidomide contre aucun du groupe fer (p < 0,001). Tous les autres paramètres (taux moyen d'hémoglobine, nombre de culots globulaires transfusés, nombre annuel et durée moyenne des épisodes hémorragiques, nombre et durée des hospitalisations) étaient également significativement améliorés dans le groupe thalidomide. Les taux plasmatiques de VEGF ont significativement baissé sous thalidomide (p < 0,001). Des effets secondaires ont été observés chez 20 patients (71 %) du groupe thalidomide contre 9 (33 %) du groupe témoin (p = 0,007) ; deux patients seulement du groupe thalidomide ont interrompu leur traitement (pour leucopénie et somnolence).

Ge Z, Chen HM, Gao Y, *et al. Efficacy of thalidomide for refractory gastrointestinal bleeding from vascular malformation. Gastroenterology* 2011 ; 141 : 1629-37.