

# Les isoformes VEGF<sub>xxx</sub> et VEGF<sub>xxx</sub>b du VEGF-A : un rôle complexe encore controversé

Béatrice Eymin

Equipe 2 bases moléculaires de la progression des cancers du poumon, Inserm U823. Institut Albert Bonniot, Grenoble, France

<Beatrice.Eymin@ujf-grenoble.fr>

### Les isoformes VEGF<sub>xxx</sub> et VEGF<sub>xxx</sub>b du VEGF-A : six acides aminés qui font la différence

Le gène du VEGF-A (*vascular endothelial growth factor A*) contient 8 exons et la protéine existe sous la forme de multiples isoformes résultant de l'épissage alternatif de son ARNm pré-messager [1]. Ces isoformes sont dénommées de façon générique VEGF<sub>xxx</sub> (xxx représentant le nombre d'acides aminés sur la protéine mature) et incluent les VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>145</sub>, VEGF<sub>165</sub>, VEGF<sub>183</sub>, VEGF<sub>189</sub> et VEGF<sub>206</sub>. La plupart des types cellulaires peuvent exprimer simultanément les différentes isoformes ; cependant, les VEGF<sub>121</sub> (forme la plus diffusible) et VEGF<sub>165</sub> (forme la plus pro-angiogénique) sont les formes majoritairement sécrétées par les cellules, suivies du VEGF<sub>189</sub>. En 2002, une nouvelle famille d'isoformes du VEGF-A a été identifiée (*figure 1*). Ces variants résultent d'un épissage alternatif différentiel en 3' au niveau de l'exon terminal 8 et ont été dénommés VEGF<sub>xxx</sub>b [1]. Sur le plan structural, les isoformes VEGF<sub>xxx</sub> et VEGF<sub>xxx</sub>b ont la même taille, mais possèdent 6 acides aminés différents au niveau de leur extrémité C-terminale, CDKPRR pour les isoformes VEGF<sub>xxx</sub> et SLTRKD pour les isoformes

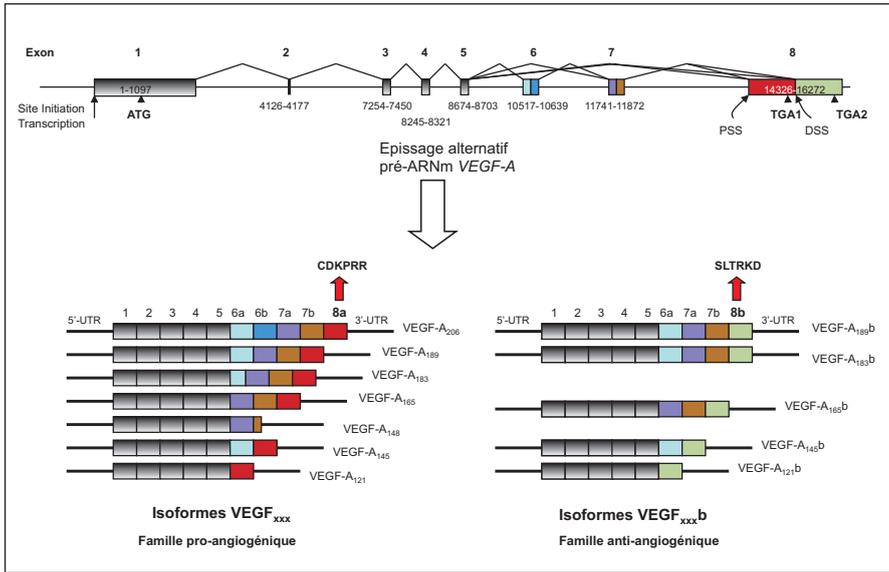
VEGF<sub>xxx</sub>b, impliquant possiblement une modification de la structure tertiaire et de la charge de la queue C-terminale.

Sur le plan biologique, les isoformes VEGF<sub>xxx</sub>b sont capables de se lier au récepteur VEGF-R2 avec la même affinité que les isoformes VEGF<sub>xxx</sub>, mais elles ne l'activent pas complètement. Cette absence d'activation totale pourrait résulter de l'incapacité des isoformes VEGF<sub>xxx</sub>b à se lier au co-récepteur du VEGF-R2, la neuropiline-1. Sur le plan fonctionnel, l'isoforme VEGF<sub>165</sub>b inhibe tous les effets angiogéniques médiés par l'isoforme VEGF<sub>165</sub> [2]. À l'inverse des isoformes VEGF<sub>xxx</sub> surexprimées dans les tumeurs, l'expression du VEGF<sub>165</sub>b est diminuée dans les carcinomes rénaux, colorectaux et prostatiques [1, 2] et la perte d'expression des isoformes VEGF<sub>xxx</sub>b est associée au potentiel métastatique des mélanomes. De plus, les mutations du gène suppresseur de tumeur *WT1* suppriment l'expression du VEGF<sub>165</sub>b entraînant une gonadogenèse anormale, une dysfonction rénale et des tumeurs de Wilms (néphroblastome, tumeur du rein chez l'enfant).

Cependant, la réalité de l'existence des isoformes VEGF<sub>xxx</sub>b ainsi que leur réelle activité anti-angiogénique demeurent controversées. La majeure partie de ces données a été obtenue par l'équipe de Bristol qui a

### Pour le clinicien

Malgré un rôle critique et avéré du VEGF-A dans le contrôle du processus de néo-angiogenèse tumorale et le développement de nombreuses stratégies thérapeutiques le ciblant ou inhibant sa signalisation d'aval, on a, jusqu'à présent, porté peu d'intérêt aux isoformes résultant de l'épissage alternatif de son ARN pré-messager. Pourtant, des études récentes suggèrent qu'une analyse plus approfondie des effets différentiels de ces isoformes, et notamment des isoformes VEGF<sub>xxx</sub>b, pourrait apporter certaines réponses dans le contexte de l'échappement tumoral aux thérapies anti-angiogéniques, telles que le bevacizumab. L'enjeu est d'importance puisqu'à l'heure actuelle il n'existe aucun marqueur prédictif de réponse à ces thérapies.



**Figure 1.** Structure exonique du gène *VEGF-A*. Il comprend 8 exons. Tous les variants d'épissage contiennent les exons 1-5 et l'exon 8. La sélection d'un site d'épissage alternatif en 3', soit proximal (PSS), soit distal (DSS) se traduit par la génération de 2 familles : variants  $VEGF_{xxx}$  pro-angiogéniques et  $VEGF_{xxx.b}$  anti-angiogéniques.

découvert ces isoformes ; cependant, durant les trois dernières années, d'autres équipes, dont la nôtre, ont publié des travaux concernant la régulation et le rôle de ces isoformes. Nous avons montré que certains facteurs d'épissage de la famille des protéines SR contrôlent l'expression des isoformes  $VEGF_{xxx.b}$  dans les cellules tumorales pulmonaires, et que la surexpression de l'isoforme  $VEGF_{165.b}$  en réponse à l'expression du facteur de transcription E2F1 est corrélée à une diminution de la néo-angiogenèse dans des modèles de xénogreffes chez la souris immuno-déficiente (3). *In situ*, Manetti *et al.* [4] ont montré que l'isoforme  $VEGF_{165.b}$  est spécifiquement surexprimée dans les cellules du derme et de l'épiderme, mais également au niveau sérique chez des patients atteints de sclérose systémique et qu'elle est responsable de l'absence d'angiogenèse chez ces patients. Dans les tumeurs humaines, deux études ont montré la persistance des isoformes  $VEGF_{xxx.b}$  dans certains carcinomes rénaux [5] et décrit leur haut niveau d'expression dans les cancers de sein [6]. Dans une série de carcinomes pulmonaires non à petites cellules, nos résultats montrent une expression spécifique hétérogène des isoformes  $VEGF_{xxx.b}$ , certains patients présentant de faibles niveaux et d'autres, à l'inverse, des niveaux élevés comparativement au tissu pulmonaire normal (Gout *et al.*, non publié). Ce profil d'expression différentiel, en accord avec les résultats récemment publiés dans les carcinomes colorectaux métastatiques [7], suggère que le rôle et la régulation des

isoformes  $VEGF_{xxx.b}$  peuvent être plus complexes qu'on ne le pensait jusqu'alors et incite à étendre ces études *in situ* à d'autres types tumoraux.

## La balance des isoformes $VEGF_{xxx.b}/VEGF_{total}$ : et si l'on considérait aussi la boucle autocrine dépendante des VEGF-R ?

De nombreuses cellules tumorales expriment à leur surface les récepteurs VEGF-R1, VEGF-R2 et leurs co-récepteurs, les neuropilines 1 et 2, comme nous l'avons montré dans les tumeurs bronchopulmonaires [8]. S'il est généralement admis que la boucle autocrine dépendante du VEGF-A est une boucle qui favorise la survie, la prolifération et/ou l'invasion tumorale, des études récentes bousculent ce dogme. Ainsi, Lu *et al.* [9] décrivent un effet anti-invasif du VEGF-A dans les glioblastomes *via* l'inhibition d'une signalisation MET/VEGF-R2, offrant un début de réponse à l'échappement de certains patients au bevacizumab. De plus, dans les carcinomes pulmonaires épidermoïdes, des niveaux élevés d'expression du VEGF-A et des récepteurs VEGF-R1 et VEGF-R2 sont associés à une meilleure survie [10]. Aucune association significative n'est observée entre ces marqueurs et la densité microvasculaire dans ces tumeurs, ce qui suggère que l'effet de l'association VEGF-A/VEGF-R1/VEGF-R2 est indépendante des cellules endothéliales. De la même

façon, si les isoformes anti-angiogéniques  $VEGF_{xxx.b}$  sont incapables d'agir sur les cellules endothéliales *via* le récepteur VEGF-R2, nos données montrent qu'à l'inverse, sur les cellules tumorales pulmonaires, l'isoforme  $VEGF_{165.b}$  est capable de signaler et de provoquer un phénotype plus invasif (Boudria *et al.*, non publié). Ainsi, si on envisage maintenant leur effet autocrine, la théorie « angiogénique » selon laquelle les isoformes  $VEGF_{xxx}$  sont les « mauvaises » isoformes à neutraliser et les isoformes  $VEGF_{xxx.b}$  les « bonnes » à favoriser se complexifie. Il est tentant de spéculer que cet effet pourrait dépendre du type tumoral ainsi que du niveau d'expression des récepteurs du VEGF-A et de leurs co-récepteurs à la surface des cellules tumorales, même si cela reste à démontrer (figure 2). Il est aussi tentant de spéculer que ces isoformes pourraient agir différemment sur d'autres récepteurs à activité tyrosine kinase, au vu notamment des « cross-talk » existant entre ces différents récepteurs. Il apparaît alors crucial de mieux caractériser les voies de signalisation activées par les isoformes du VEGF-A dans différents types tumoraux, tant du point de vue de la carcinogenèse que du point de vue de la réponse aux thérapies ciblant ces voies.

## La balance des isoformes $VEGF_{xxx.b}/VEGF_{total}$ : un marqueur de réponse aux thérapies ?

Le bevacizumab peut reconnaître toutes les isoformes  $VEGF_{xxx}$  et  $VEGF_{xxx.b}$  puisque son site de reconnaissance est localisé dans le domaine de liaison du VEGF-A au VEGF-R. La balance des isoformes  $VEGF_{xxx.b}/VEGF_{total}$  pourrait donc être un facteur prédictif de réponse au bevacizumab. Plusieurs arguments vont dans ce sens. La surexpression spécifique de l'isoforme  $VEGF_{165.b}$  empêche la réponse au bevacizumab de tumeurs colorectales implantées en sous-cutané chez la souris immuno-déficiente [11]. En accord avec ces données, une étude récente montre une meilleure survie sans progression des patients atteints de cancers colorectaux métastatiques traités par l'association FOLFOX4 (oxaliplatine + 5-fluorouracile + leucovorine) + bevacizumab lorsqu'ils présentent un rapport  $VEGF_{165.b}/VEGF_{total}$  faible, ce qui n'est pas observé chez les patients traités par FOLFOX4 [7]. Les auteurs proposent que les patients ayant de faibles niveaux de  $VEGF_{165.b}$  ont une angiogenèse accrue les rendant plus répondeurs au traitement par bevacizumab et suggèrent l'utilisation du rapport  $VEGF_{165.b}/VEGF_{total}$  comme marqueur prédictif de réponse dans les

