

Variation de populations leucocytaires sanguines chez les patients atteints d'un glioblastome : intérêt pour la prédiction de la réponse au bevacizumab ?

Véronique Quillien

Département de biologie, Centre régional de lutte contre le cancer Eugène Marquis et CNRS UMR 6290, Rennes, France

cv.quillien@rennes.unicancer.fr

Les glioblastomes multiformes (GBM) sont des tumeurs gliales cérébrales primitives de haut grade de malignité. Le traitement standard associe actuellement, en première ligne, une exérèse chirurgicale la plus complète possible suivie d'une irradiation et d'une chimiothérapie concomitante puis adjuvante par témozolomide. La médiane de survie des patients recevant ce traitement est de 14,6 mois avec environ 10 % de longs survivants à 5 ans [1]. Cependant, malgré ce traitement combiné, la grande majorité des patients présente une récurrence. Certains patients peuvent alors bénéficier d'une nouvelle chirurgie, mais pour la plupart d'entre eux seule une chimiothérapie peut être proposée, avec des résultats plutôt décevants en ce qui concerne les chimiothérapies standards. Moins de 10 % des patients présentent des réponses objectives, ce qui se traduit par une médiane de progression sans récurrence (PFS) d'environ 2 mois.

Intérêt du bevacizumab dans la prise en charge des patients atteints d'un glioblastome en situation de rechute

Plusieurs essais utilisant le bevacizumab (BV) seul ou en association à une chimiothérapie ont montré l'intérêt de cibler le VEGF dans ces tumeurs très vascularisées. Des taux de réponse de 30 à 50 % sont observés chez les patients porteurs de GBM en rechute. La survie sans progression à 6 mois est de l'ordre de 45 %, avec des médianes de PFS et de survie globale de l'ordre de 6,1 mois et 9,3 mois [2]. Deux études rétrospectives françaises ont confirmé ces résultats dans la pratique courante. Le BV est autorisé par la FDA

en monothérapie pour les patients en rechute d'un GBM, mais pas par l'Agence européenne du médicament en raison de l'absence de preuve directe d'augmentation de la survie. Un essai en cours de l'EORTC devrait définitivement répondre à cette question.

Tous les patients ne vont pas tirer bénéfice de ce traitement anti-angiogénique et la mise en évidence de biomarqueurs qui seraient corrélés au devenir des patients fait l'objet de recherches intenses. Les études ont principalement consisté, pour le moment, au dosage de différents marqueurs sériques (VEGF et autres cytokines), à la recherche des cellules endothéliales circulantes et à la détermination des variants génétiques du VEGF et de ses récepteurs. Les corrélations avec le devenir clinique s'avèrent inconstantes d'une étude à l'autre. Étant donné les liens étroits, maintenant bien établis, entre l'angiogénèse et l'immunité, nous avons débuté un programme de recherche visant à analyser différentes cellules immunitaires circulantes chez des patients atteints d'un gliome de haut grade traités par BV. Ce programme a reçu le soutien de la société Roche via l'attribution d'une bourse de recherche « angiogénèse ».

Les cellules hématopoïétiques sont recrutées dans les tumeurs où elles participent à l'angiogénèse

Les cellules tumorales ont la capacité d'orchestrer un remodelage de leur microenvironnement en attirant ou activant différents types cellulaires, notamment des cellules hématopoïétiques issues de la moelle osseuse (MO). Une fois au niveau de la tumeur, celles-ci vont jouer un rôle au niveau de l'angiogénèse. Elles vont

également favoriser le recrutement de nouvelles vagues de cellules périphériques. Le VEGF et son récepteur VEGF-R1 jouent un rôle majeur dans ce recrutement. Il a été montré, dans des modèles animaux, que la seule présence de VEGF dans différents organes permet le recrutement de cellules CD45+/VEGF-R1+ provenant de la MO. En cas d'arrêt de production de VEGF, il est observé un arrêt du recrutement cellulaire en quelques jours [3]. Les cellules myéloïdes (type monocytes/macrophages/granuleux) expriment VEGF-R1 et dans différentes pathologies tumorales, il a été observé une augmentation de cette expression à la surface des cellules. D'autres facteurs que le VEGF participent de manière directe ou indirecte à la mobilisation et au recrutement des cellules hématopoïétiques (figure 1).

Le G-CSF, utilisé en clinique pour mobiliser les cellules souches hématopoïétiques, est synthétisé par les tumeurs. Cette cytokine induit l'expression de BV8, une molécule à activité pro-angiogénique, par les cellules myéloïdes dans la MO. Dans certains modèles animaux cet axe est critique pour développer une angiogénèse indépendante de VEGF, qui expliquerait la résistance des traitements ciblant le VEGF [4]. Les chimiokines sont des cytokines possédant des propriétés d'attraction des cellules. La chimiokine CXCL12 permet le recrutement des cellules ayant à leur surface le récepteur CXCR4. Dans des conditions d'hypoxie, comme observé notamment dans le GBM, la stabilisation du facteur HIF va entraîner la synthèse de nombreux facteurs, dont le VEGF et CXCL12 ; ce dernier permettant le recrutement des cellules de la MO [5]. On observe chez les patients traités par BV une augmentation des taux sanguins de CXCL12, ainsi qu'une augmentation de

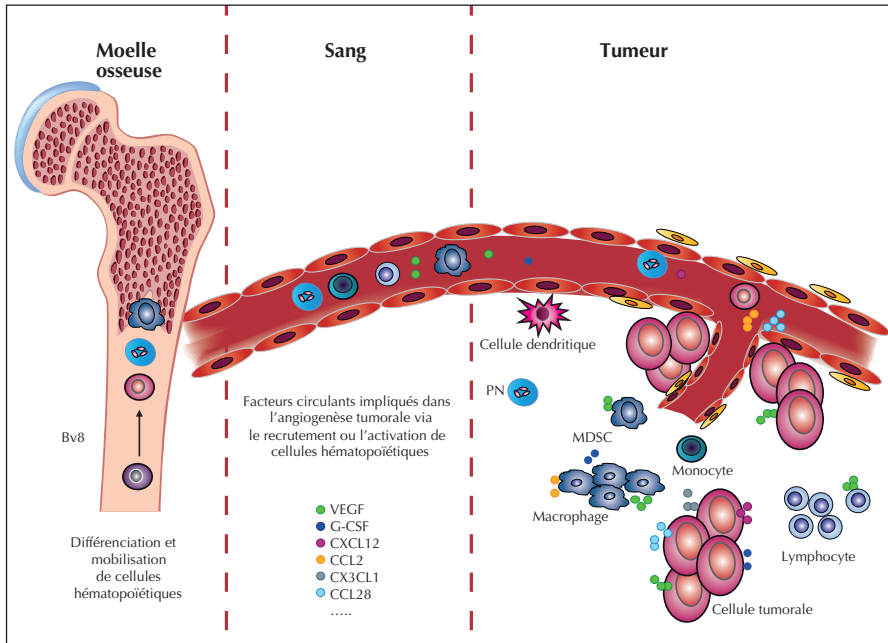


Figure 1. Participation à l'angiogenèse de cellules issues de la moelle osseuse. Le micro-environnement tumoral permet le recrutement de cellules hématopoïétiques à partir de la moelle osseuse. Celles-ci vont favoriser le recrutement d'autres cellules hématopoïétiques et participer à l'angiogenèse via la synthèse de différents facteurs pro-angiogéniques.

l'expression de CXCR4 au niveau de la tumeur qui pourraient participer à l'échappement tumoral lors des traitements [6].

Les différents types de cellules hématopoïétiques pro-angiogéniques trouvées dans les tumeurs et leurs précurseurs sanguins

Les macrophages infiltrant les tumeurs (TAM)

Deux stades de polarisation sont définis pour les macrophages : l'activation classique pour les macrophages M1 et l'activation alternative pour les macrophages M2. Les macrophages de type M1 sont pro-inflammatoires, jouent un rôle important dans la défense anti-microbienne et sont tumoricides. Les types M2 sont plutôt anti-inflammatoires et participent notamment aux phénomènes de réparation tissulaire. Les TAM infiltrant les tumeurs sont généralement plus proches du type M2 et ils favorisent l'angiogenèse via la sécrétion de facteurs tels que VEGFA, VEGFC, IL-8 et métalloprotéinases. Les cellules microgliales/macrophagiques sont les cellules hématopoïétiques trouvées en plus grand nombre dans les GBM. Les précurseurs sanguins des TAM sont les monocytes. On distingue classiquement 3 types de monocytes sur la base de l'expression du CD14 et du CD16. Les mono-

cytes CD14⁺⁺/CD16⁻ dits classiques sont les plus fréquents ; ils expriment CCR2 et migrent dans les tissus pour donner des macrophages M1 en cas d'inflammation. Les monocytes exprimant CCR2 sont recrutés en réponse à CCL2, une chimiokine fortement exprimée par les GBM. Les monocytes CD14⁺⁺/CD16⁺ sont dénommés intermédiaires et les CD14⁺/CD16⁺⁺ non classiques. Ils n'expriment pas CCR2, mais CX3CR1 et peuvent donc migrer en réponse à CX3CL1. Ils se transformeraient dans les tissus en macrophages de type M2. Il existe cependant une plasticité importante de ces cellules : les macrophages adaptent leur phénotype en fonction de leur environnement et il est tout à fait possible que des macrophages de type M1 se transforment *in situ* en macrophages de type M2 sous la pression de l'environnement. A noter que CX3CL1 est une des chimiokines les plus exprimées dans le système nerveux central et sa sur-expression dans les gliomes de haut grade est corrélée avec une diminution de la survie des patients [7].

Les monocytes qui expriment Tie 2 (TEM : Tie 2 expressing monocytes)

Les monocytes positifs pour le récepteur à tyrosine kinase Tie2 qui reconnaît l'angiopoïétine sont des cellules hématopoïétiques possédant un pouvoir angiogénique élevé. Dans un modèle de GBM,

il a été montré que le blocage spécifique du recrutement des TEM empêche la néovascularisation [8]. L'expression de Tie2 par les cellules hématopoïétiques CD45⁺ est pratiquement restreinte aux monocytes. Ces TEM sont observés dans différentes tumeurs humaines ; ils sont localisés dans des zones vasculaires et ont parfois une localisation péri-endothéliale. Les TEM sont retrouvés dans la circulation sanguine.

Les cellules myéloïdes suppressives (MDSC)

Les MDSC sont des cellules myéloïdes plutôt immatures possédant des propriétés d'immunosuppression et dont l'infiltration est favorisée par les tumeurs. Il a été montré dans des modèles murins, une corrélation entre la résistance à des traitements par anticorps anti-VEGF et une infiltration tumorale accrue de MDSC [9]. On trouve des cellules répondant à la définition de MDSC dans les fractions granulocytaires et monocytaires. Dans différentes localisations cancéreuses, notamment les GBM, il est noté une augmentation de cellules sanguines Lin⁻/DR⁻/CD33⁺/CD11b ayant des caractéristiques de MDSC. Une fréquence élevée de MDSC monocytaires CD14⁺/DR low/neg est également trouvée dans différents types de tumeurs. À noter que des monocytes normaux mis en co-culture avec des cellules tumorales de gliomes acquièrent ce phénotype.

Les lymphocytes T régulateurs (T reg)

Les T reg ont un rôle physiologique dans le maintien de la tolérance du soi. Ils peuvent être recrutés au niveau des tumeurs, dont les GBM, où ils sont susceptibles de contrecarrer le développement de la réaction immunitaire anti-tumorale. Il a été récemment montré, dans les cancers de l'ovaire, que l'hypoxie entraînait une augmentation de CCL28, qui permettait le recrutement de lymphocytes T reg exprimant CCR10 et que ceux-ci participaient directement à l'angiogenèse via la production de VEGF [10].

Description de l'étude AVA-CELL

L'étude AVA-CELL va analyser différentes populations leucocytaires sanguines impliquées dans l'angiogenèse, chez des patients en récurrence d'un GBM ou d'un gliome de haut grade traités par BV. Les prélèvements seront réalisés avant traitement, puis avant les injections des cycles de traitement 3, 5 et 7. La réponse au trai-

