

# Influence de l'angiogenèse et des traitements anti-angiogéniques sur la réponse immunitaire anti-tumorale et l'immunosuppression

Eric Tartour

Inserm U970 PARCC Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité ; Service d'immunologie biologique, Hôpital européen Georges Pompidou, AP-HP, Paris, France

[eric.tartour@egp.aphp.fr](mailto:eric.tartour@egp.aphp.fr)

Les liens existant entre les cellules ou molécules du système immunitaire et l'angiogenèse tumorale sont connus depuis longtemps [1]. Ainsi, les macrophages intra-tumoraux ont un rôle pro-angiogénique via la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, TNF, etc.), de chimiokines (IL-8, CXCL12, etc.), de facteurs de croissance de la cellule endothéliale (VEGF, bFGF, etc.) et de protéases (MMP9). Dans des modèles précliniques, l'élimination des macrophages entraîne une diminution de la vascularisation tumorale. Une corrélation entre l'infiltration tumorale par des macrophages et la néo-angiogenèse tumorale a été clairement démontrée chez l'homme. Des cytokines comme l'IL-17 produites par d'autres cellules du système immunitaire (lymphocytes T-CD4 ou lymphocytes T $\gamma\delta$ ) favorisent également l'angiogenèse tumorale via l'induction de facteurs pro-angiogéniques (PGE2, VEGF, NO, etc.) par les fibroblastes ou les cellules tumorales.

Au contraire, d'autres cytokines comme l'IFN $\gamma$ , l'IL-12 ou l'IL-27 inhibent l'angiogenèse. Leur mécanisme d'action passe par l'induction de chimiokines angiostatiques (CXCL9 et CXCL10) ou par le blocage de la production de VEGF et de bFGF.

Il a cependant fallu attendre la fin des années 1990 pour que le groupe de Gabrilovich démontre l'activité de molécules pro-angiogéniques sur le système immunitaire [2]. Ainsi, le VEGF inhibe la maturation des cellules dendritiques, avec des conséquences importantes sur l'activation du système immunitaire, sachant que les cellules dendritiques matures sont les cellules les plus efficaces pour permettre une bonne activation du système immunitaire. L'essor et le développement,

depuis 2004, des médicaments anti-angiogéniques en cancérologie ont confirmé que l'inhibition de l'angiogenèse influe aussi sur plusieurs paramètres immunologiques en inhibant notamment différents facteurs liés à l'immunosuppression tumorale. Certaines molécules anti-angiogéniques apparaissent donc aussi comme des immuno-modulateurs capables d'inhiber certains phénomènes d'immunosuppression.

Cet effet collatéral des anti-angiogéniques a suscité un grand intérêt dans la communauté des immunothérapeutes impliqués en cancérologie, car l'immunosuppression associée au cancer est considérée comme le principal mécanisme d'échappement des cancers au système immunitaire.

## Modulation de l'immunosuppression par les molécules anti-angiogéniques

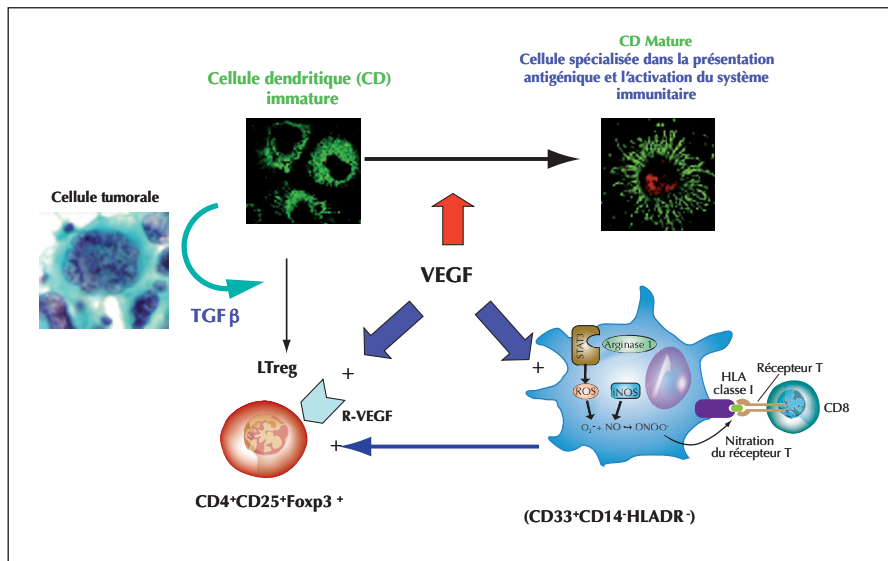
Au cours de la progression des cancers, la cellule tumorale met en place différents mécanismes immunosuppresseurs qui la protègent de la réponse immunitaire anti-tumorale naturelle. Elle produit ainsi des molécules immunosuppressives (TGF $\beta$ , IL-10), recrute des cellules suppressives dans le micro-environnement des tumeurs comme les lymphocytes T régulateurs (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>) (LTreg) ou des cellules myéloïdes suppressives (*Myeloid Derived Suppressive Cells* (MDSC)). La cellule tumorale peut également induire des molécules de co-stimulation inhibitrices (PD-1, TIM3, CTLA-4, etc.) sur les lymphocytes T infiltrant les tumeurs, les rendant ainsi anergiques (aréactifs) et donc, non fonctionnels. Tous ces mécanismes suppresseurs participent à l'inhibition de la réponse effectrice anti-

tumorale et constituent un obstacle au succès de l'immunothérapie [3].

Il a d'abord été montré chez la souris que le sunitinib, un anti-angiogénique inhibiteur de la signalisation des récepteurs du VEGF, PDGF, SCF et FLT-3L, diminue les concentrations de LTreg dans la rate et le micro-environnement tumoral de souris porteuses de tumeurs [4]. De même, l'administration d'anticorps anti-VEGF-A chez la souris bloque l'effet inhibiteur exercé par les LTreg sur la réponse immunitaire anti-tumorale. Cette diminution des LTreg a également été observée chez des patients atteints de cancers du rein métastatiques et traités par le sunitinib [5]. Nous avons montré que cette diminution des LTreg est présente chez 32 % des patients traités après le 1<sup>er</sup> cycle de sunitinib et concerne plus de 70 % des patients après le 3<sup>e</sup> cycle. Cet effet est plus fréquemment observé chez des patients présentant des concentrations élevées de LTreg avant traitement [6].

De façon intéressante, l'effet des anti-angiogéniques ne se limite pas à leur action sur les LTreg. Ainsi, le sunitinib inhibe les MDSC chez la souris et chez des patients atteints de cancers du rein. Ces MDSC sont des cellules myéloïdes immatures (CD33<sup>+</sup>CD14<sup>+</sup>HLADR<sup>-</sup>) capables d'inhiber différents effecteurs anti-tumoraux via la production de facteurs suppresseurs (iNOS, arginase, IL-10, etc.). D'autres molécules anti-angiogéniques comme l'anticorps anti-VEGF-A et le sorafenib inhibent également les MDSC ou des populations de cellules myéloïdes (CD33<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>-R-VEGF de type 1<sup>+</sup>) proches des MDSC.

Le groupe d'Ozao-Choy a montré dans un modèle tumoral murin, que l'administration de sunitinib diminue les concentrations d'IL-10 et de TGF $\beta$  dans le micro-environnement des tumeurs et inhibe



**Figure 1.** Rôle du VEGF dans l’immunosuppression tumorale. Le VEGF inhibe la maturation des cellules dendritiques (CD) favorisant l’accumulation de CD immatures et l’expansion de lymphocytes T régulateurs (LTreg) en présence de TGFβ. Le VEGF peut également directement induire la prolifération des LTreg en se liant au R-VEGF de type 2 à la surface des LTreg. Le VEGF peut recruter des cellules myéloïdes suppressives (MDSC) qui exercent leur suppression par l’expression d’enzymes immunosuppressives (arginase, iNOS) et une nitration du récepteur T.

l’expression des molécules de co-stimulation inhibitrices (PD-1, CTLA-4, etc.) sur les lymphocytes T infiltrant les tumeurs [7].

Par ailleurs, suivant leur profil de sécrétion de cytokines, on divise les lymphocytes T en 3 classes : 1) les lymphocytes Th1 produisant de l’IL-2, de l’IFNγ et du TGFβ et favorisant une immunité cellulaire et une réponse anti-tumorale ; 2) les lymphocytes Th2 sécrétant de l’IL-4, de l’IL-5, de l’IL-13 et de l’IL-25 et jouant un rôle dans une réponse immunitaire médiée par les anticorps et une réponse allergique ; 3) les lymphocytes Th17 produisant de l’IL-17 responsable de l’induction de cytokines pro-inflammatoires. Au cours des cancers, il existe souvent une baisse de la production de cytokines de type Th1 au profit de cytokines Th2. Il a été montré que le VEGF favorisait la synthèse de cytokines Th2 et le sunitinib est capable, chez des patients atteints de cancer du rein métastatique, de réorienter la polarisation de la réponse lymphocytaire T d’un profil Th2 vers un profil Th1 plus susceptible d’induire une réponse anti-tumorale.

Certaines molécules anti-angiogéniques (sunitinib, bevacizumab) sont donc capables d’inhiber différents mécanismes d’immunosuppression et de polariser les lymphocytes T vers une réponse Th1 anti-tumorale.

## Mécanismes expliquant le lien entre l’inhibition de l’angiogenèse et la levée de l’immunosuppression

### Rôle du VEGF (figure 1)

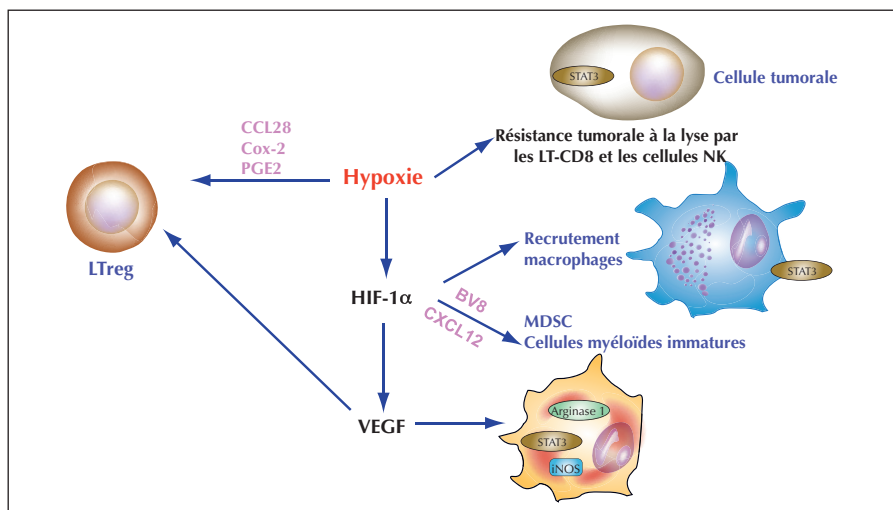
Le VEGF-A a la capacité d’inhiber la maturation des cellules dendritiques via sa liaison au VEGF-R1 qui bloque l’activation de NF-κB qui, lui-même, joue un rôle important dans la maturation de ces cellules après leur activation par différents signaux de danger (produits dérivés de pathogènes, protéines de stress endogènes...). Or, il est connu que les cellules dendritiques immatures ont un effet inducteur sur la génération et la prolifération des LTreg aux dépens des lymphocytes T effecteurs anti-tumoraux stimulés par les cellules dendritiques matures. La présence de cellules dendritiques immatures associées au TGFβ dans le micro-environnement tumoral favorise cette expansion des LTreg. Ce mécanisme dépendant du VEGF-A est étayé par la corrélation observée entre les concentrations plasmatiques de VEGF-A et le nombre de cellules dendritiques immatures. L’administration d’un anticorps anti-VEGF-A à des souris porteuses de tumeurs rétablit la maturation des cellules dendritiques [2]. Chez l’homme, l’administration d’un anticorps monoclonal anti-VEGF-A diminue le

nombre de cellules dendritiques immatures. Plus récemment, il a été montré que les LTreg pouvaient exprimer le VEGF-R2. Nous avons confirmé ce résultat et montré que les LTreg de souris porteuses de tumeurs expriment plus de VEGF-R2 que les LTreg dérivés de souris normales. Nous avons également montré que le VEGF-A en combinaison avec un anticorps anti-CD3 augmente la prolifération des Treg *in vitro*. De façon intéressante, l’administration d’un anticorps anti-VEGF-A diminue la prolifération des LTreg *in vivo* chez la souris comme chez des patients atteints de cancers du côlon. Ce rôle direct du VEGF-A sur la prolifération des LTreg représente donc un nouveau mécanisme immunosuppresseur du VEGF-A [8].

Le VEGF-A joue également un rôle dans l’expansion des MDSC. Ainsi, chez une souris non porteuse de tumeurs, l’administration de VEGF-A entraîne une accumulation de cellules CD11b<sup>+</sup>Gr1<sup>+</sup> correspondant à des MDSC. Il existe une corrélation entre les concentrations plasmatiques de VEGF-A et le nombre de MDSC dans le sang et la rate de souris. Un anticorps anti-VEGF-A diminue le nombre de MDSC chez des patients atteints de cancers du rein métastatiques. Il a été montré que les MDSC pouvaient aussi favoriser l’expansion des LTreg, ce qui amplifie les effets propres du VEGF-A sur cette population.

### Rôle de l’hypoxie (figure 2)

L’hypoxie observée dans le micro-environnement tumoral induit une augmentation du facteur de transcription HIF-1α responsable du recrutement de macrophages et de cellules myéloïdes suppressives. HIF-1α induit également des chimiokines (CXCL12, BV8, etc.) qui mobilisent des cellules myéloïdes suppressives à partir de la moelle osseuse. HIF-1α augmente l’expression et l’activité de la cyclo-oxygénase de type 2 (Cox2) qui convertit l’acide arachidonique en diverses prostaglandines (PG) dont la PGE2. Il a été montré que la PGE2 favorise l’expansion des LTreg, notamment d’une sous-population de LTreg productrice d’IL-10, et augmente l’expression de l’arginase de type 1 par les MDSC, accentuant leur effet immunosuppresseur [1]. Les cellules tumorales dans un environnement hypoxique sécrètent la chimiokine CCL28 qui recrute les LTreg exprimant le récepteur de chimiokines CCR10. L’hypoxie favorise donc un environnement suppresseur par l’augmentation des



**Figure 2.** L'hypoxie entraîne une immunomodulation et le recrutement de cellules suppressives. L'hypoxie induit le recrutement de macrophages, de cellules myéloïdes suppressives (MDSC) et de lymphocytes T régulateurs (L'Treg). Elle entraîne également une plus grande résistance des cellules tumorales à la lyse par les LT-CD8 et les cellules NK. L'induction de HIF-1 $\alpha$ , de VEGF, de STAT3 et de différentes chimiokines (CXCL12, CCL28, BV8, etc.) par l'hypoxie constitue le principal mécanisme à l'origine de cette immunomodulation.

L'Treg et des MDSC. Les anti-angiogéniques pourraient augmenter transitoirement la pression en oxygène du micro-environnement tumoral en rendant les vaisseaux plus matures et plus fonctionnels (normalisation vasculaire). Cette ré-oxygénation tissulaire participerait à la levée de l'immunosuppression transitoire par les molécules anti-angiogéniques.

## Autres mécanismes

STAT3 est un facteur de transcription exprimé par les cellules tumorales, les cellules endothéliales et les cellules myéloïdes. Il est induit par différents facteurs dont le VEGF, le PDGF et l'IL-6 et possède de nombreuses activités immunosuppressives. Il bloque ainsi la maturation des cellules dendritiques, augmente la production de cytokines immunosuppressives comme l'IL-10 et favorise le recrutement de L'Treg et de MDSC. Le sunitinib inhibe l'activation de STAT3 rapidement après son administration, ce qui pourrait expliquer l'inhibition de l'infiltration tumorale par les L'Treg et les MDSC. D'autres molécules, comme FLT3 (*FMS-like tyrosine kinase-3*) ou la stimulation de la voie SCF (*Stem-cell factor*)-KIT, jouent un rôle dans l'expansion des MDSC. Certaines molécules anti-angiogéniques comme le sunitinib ou le sorafénib inhibent la signalisation de FLT3 et de la voie SCF-KIT, ce qui pourrait donc participer à la levée de l'immunosuppression par ces molécules.

Certains auteurs ont critiqué ces travaux en affirmant que la modulation de l'immunosuppression après traitement par anti-angiogénique est probablement secondaire à la réduction du volume tumoral et donc à une diminution des mécanismes suppresseurs associés. Néanmoins, différents groupes dont le nôtre n'ont pas trouvé de corrélation entre la diminution du volume tumoral et la diminution des concentrations de L'Treg et de MDSC dans le sang de patients traités par des anti-angiogéniques, ce qui va à l'encontre de cette hypothèse [5, 6].

## Biomarqueurs immunologiques ou liés à l'immunosuppression : facteurs prédictifs de réponse ou de résistance aux anti-angiogéniques

Les traitements anti-angiogéniques ont représenté une avancée indiscutable en cancérologie. Néanmoins, leurs effets cliniques ne sont souvent que transitoires avec peu de guérisons cliniques et certains travaux ont même soulevé le risque d'un effet rebond sur la progression tumorale après l'arrêt de ces traitements. Pour ces différentes raisons, il serait extrêmement important de disposer de biomarqueurs pouvant prédire la réponse à ces traitements pour une meilleure sélection des patients. À ce jour, aucun marqueur lié à l'angiogénèse (VEGF, cellules endothéliales circulantes, etc.) ou utilisant les

techniques d'imagerie ne permet de prédire cette réponse, d'où l'intérêt de la recherche de nouveaux biomarqueurs.

## L'Treg et MDSC : facteurs prédictifs de réponse et de résistance aux anti-angiogéniques

Nous avons récemment montré, chez des patients atteints d'un cancer rénal métastatique traités par sunitinib, qu'une diminution périphérique des Treg est corrélée à la survie globale de ces patients. Les patients pour lesquels il était observé une diminution d'au moins 20 % du nombre de Treg après le second ou troisième cycle de traitement avaient une survie globale significativement plus longue que les patients pour lesquels aucun changement ou une augmentation était observée. Cet effet n'était observé qu'après le 2<sup>e</sup> cycle de traitement et n'était pas retrouvé lorsque les critères RECIST liés au volume tumoral étaient sélectionnés comme critères cliniques de réponse [6]. Ce résultat est en accord avec des travaux antérieurs montrant que des concentrations élevées de L'Treg constituent un marqueur de mauvais pronostic chez des patients atteints de cancers du rein.

Dans des modèles précliniques, la persistance des MDSC dans le micro-environnement tumoral est associée à une résistance aux traitements anti-angiogéniques, expliquée en partie par la production par ces cellules de facteurs pro-angiogéniques (IL-8, MMP9). Un traitement par anti-VEGF associé à des molécules qui ciblent ces cellules myéloïdes lève la résistance aux anti-angiogéniques [9]. La diminution des MDSC dans le sang de patients atteints de cancer du rein et traités par anti-angiogéniques ne semble pas être corrélée à la réponse à ces traitements.

## Cytokines

L'IL-8 est une cytokine possédant une activité pro-angiogénique qui pourrait suppléer en partie l'activité du VEGF. Il a été observé dans des modèles précliniques de xénogreffes de tumeurs humaines, qu'une augmentation des concentrations plasmatiques d'IL-8 est corrélée à la résistance au sunitinib. À l'inverse, de faibles concentrations plasmatiques ou intra-tumorales d'IL-8 sont corrélées à une meilleure réponse clinique au sunitinib. De façon intéressante, des anticorps anti-IL-8 rendent la tumeur plus sensible au sunitinib [10].

D'autres travaux récents ont montré que des concentrations élevées d'IL-6 ou d'IL-12 avant traitement par le pazopanib, un anti-angiogénique inhibiteur du VEGF-R, du PDGF-R et de KIT, permet de prédire ceux des patients qui bénéficieraient le mieux de ce traitement en termes de survie sans progression [11].

## Vers une association des traitements anti-angiogéniques à l'immunothérapie

### Rationnel

Différents arguments justifient le développement d'associations de molécules anti-angiogéniques à l'immunothérapie : – plusieurs mécanismes d'immunosuppression sont simultanément inhibés (LTreg, MDSC, etc.) par ces molécules anti-angiogéniques. Il s'agit d'un avantage important des anti-angiogéniques, car les molécules commercialisées (cyclophosphamide, anti-CTLA-4, etc.) ou en développement (anti-PD1, etc.) pour inhiber l'immunosuppression ne ciblent qu'une seule cellule ou molécule inhibitrice de la réponse anti-tumorale ; – une augmentation de l'infiltration intratumorale lymphocytaire a été observée après traitement anti-angiogénique [12]. Ce phénomène serait lié à la normalisation transitoire du flux sanguin et à la diminution de la pression interstitielle au sein de la tumeur après traitement anti-angiogénique ; – par ailleurs, la régulation négative des molécules d'adhésion (ICAM-1, VCAM, E sélectine) à la surface de la cellule endothéliale par le VEGF est contrecarrée par l'inhibition du VEGF, ce qui favoriserait le recrutement de cellules immunitaires.

### Résultats préliminaires

Dans différents modèles précliniques, il a été montré que l'inhibition de l'angiogénèse par différentes molécules (anti-VEGF-A, anti-VEGF-R2, sunitinib, axiti-

nib) améliore la réponse clinique anti-tumorale à différentes immunothérapies. Cette synergie a été observée avec différentes approches d'immunothérapie incluant l'utilisation de cytokines ou des vaccins anti-tumoraux peptidiques ou sous forme de virus recombinant codant pour un antigène tumoral. Plusieurs essais de vaccins cellulaires à base de cellules dendritiques sensibilisées par des peptides tumoraux ou de l'ARNm codant pour des antigènes tumoraux ont vu leur efficacité augmentée en y associant un blocage de la voie VEGF-A-VEGF-R2 [1]. Chez l'homme, un essai clinique de vaccination peptidique chez des patients atteints de cancers du rein et traités par sunitinib a permis d'observer une bonne réponse des patients aux vaccins [13].

### Conclusion et perspectives

Cet effet sur l'immunosuppression des traitements anti-angiogéniques ouvre des perspectives intéressantes aussi bien sur le plan diagnostique pour le suivi clinique de ces traitements que pour son utilisation en combinaison thérapeutique. Cet effet de levée d'immunosuppression a surtout été observé avec le bevacizumab et le sunitinib. D'autres molécules comme le sorafénib ont des effets ambivalents sur le système immunitaire, avec un rôle dans la diminution des LTreg mais aussi la capacité d'inhiber la prolifération et l'activation de lymphocytes T et des cellules NK [4]. Il conviendrait donc d'approfondir les effets immunologiques des différents anti-angiogéniques pour sélectionner au mieux les molécules ayant un rôle sur le blocage de l'immunosuppression et n'interférant pas avec l'activation du système immunitaire. Le rôle de cet effet sur l'immunosuppression dans l'efficacité clinique des anti-angiogéniques devra également être analysé. Les LTreg et les MDSC possèdent une activité pro-angiogénique et leur inhibition, outre la potentialisation de la réponse immunitaire, pourrait aussi amplifier l'effet des

anti-angiogéniques sur l'inhibition de la densité vasculaire.

Sur le plan clinique, il est admis que ces molécules anti-angiogéniques devront être associées à d'autres approches thérapeutiques en raison des phénomènes de résistance ; l'immunothérapie peut représenter l'une de ces options. Inversement, au cours de ces dernières années, l'immunothérapie a connu des succès importants avec la commercialisation d'un premier vaccin thérapeutique (Provenge) dans le cancer de la prostate et d'un premier anticorps immuno-modulateur, l'ipilimumab, ciblant le système immunitaire et non la cellule tumorale [3]. Les recherches sur l'optimisation de ces traitements passent par des combinaisons thérapeutiques avec des molécules levant l'immunosuppression. Les anti-angiogéniques apparaissent comme des molécules candidates très compétitives pour cette indication clinique.

**Conflits d'intérêts** : aucun.

### Références

1. Tartour E, et al. *Cancer Metastasis Rev* 2011 ; 30 : 83-95.
2. Gabilovich DI, et al. *Nat Med* 1996 ; 2 : 1096-103.
3. Tartour E, et al. *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 833-41.
4. Hipp MM, et al. *Blood* 2008 ; 111 : 5610-20.
5. Finke JH, et al. *Clin Cancer Res* 2008 ; 14 : 6674-82.
6. Adotevi O, et al. *J Immunother* 2010 ; 33 : 991-8.
7. Ozao-Choy J, et al. *Cancer Res* 2009 ; 69 : 2514-22.
8. Terme M, et al. *Cancer Res* 2012, sous presse.
9. Shojaei F, et al. *Nat Biotechnol* 2007 ; 25 : 911-20.
10. Huang D, et al. *Cancer Res* 2010 ; 70 : 1063-71.
11. Tran HT, et al. *Lancet Oncol* 2012 ; 13 : 827-37.
12. Shrimali RK, et al. *Cancer Res* 2010 ; 70 : 6171-80.
13. Walter S, et al. *Nat Med* 2012 : sous presse.

**Directeur de la publication** : Gilles Cahn • **Rédacteurs en chef** : Bernard Lévy, Jacques Robert  
• **Comité de rédaction** : Eric Dansin, Gaël Deplanque, Anne Floquet, Joseph Gligorov, David Malka, Emmanuel Mitry  
• **John Libbey Eurotext** 127, avenue de la République, 92120 Montrouge, France - Tél. : 01 46 73 06 60  
• **Secrétaire de rédaction** : Fanny Biancale  
4 numéros par an, Tarif France 40 € Autres tarifs : contacts@jle.com

**Impression** : Corlet Imprimeur SA - 14110 Condé-sur-Noireau  
Revue trimestrielle (4 numéros par an). Ne peut être vendu séparément. ISSN : 1951-2252 - ISSN (en ligne) : 2105-2336.  
Dépôt légal : à parution.

© John Libbey Eurotext - Commission paritaire : en cours