

L'angiogenèse existe-t-elle dans les métastases ganglionnaires ?

Jacques Robert

Inserm U916, Institut Bergonié, Université de Bordeaux, France

<J.Robert@bordeaux.unicancer.fr>

Un article paru au printemps dans le JNCI [1] pose le problème de la présence d'une angiogenèse dans les métastases ganglionnaires des cancers et présente une série de travaux expérimentaux visant à prouver l'absence de phénomènes angiogéniques à leur niveau.

Cette question émerge de la constatation, maintes fois mise en avant, qu'aucun des grands essais de phase III de médicaments anti-angiogéniques en situation adjuvante, essentiellement dans les cancers du côlon [2, 3] et du sein [4], n'a obtenu de résultats positifs, et qu'en outre la thérapie anti-angiogénique est inactive ou peu active sur la croissance des métastases ganglionnaires [5-7]. Cela renvoie à la question fondamentale du rôle réel des métastases ganglionnaires dans l'évolution des cancers : témoignent-elles simplement de la capacité des cellules cancéreuses à migrer et à se disséminer, ou sont-elles à l'origine des métastases viscérales subséquentes ?

Les auteurs ont utilisé, pour répondre à la question de la présence d'une angiogenèse « classique » par bourgeonnement (*sprouting*), cinq différentes lignées tumorales murines représentant trois grands types tumoraux (adénocarcinomes du sein, carcinome épidermoïde de la muqueuse buccale et mélanome), transplantés dans des lignées de souris syngéniques et développant des métastases ganglionnaires au niveau inguinal. Ils ont mis au point une technique de visualisation *in vivo* des ganglions lymphatiques pendant une période d'environ deux semaines grâce à une fenêtre implantée de façon chronique à travers laquelle ils pouvaient voir, sous microscope multiphotonique, l'envahissement du ganglion par les cellules tumorales et la mise en place éventuelle de leur vascularisation (*figure A*).

C'est certainement le premier travail qui

montre la vascularisation de base d'un ganglion lymphatique (*figure B*), son invasion progressive par des cellules cancéreuses, qui forment de petits agrégats, qui grossissent d'abord sous la capsule, puis plus profondément près des vaisseaux sanguins qui lui apportent oxygène et nutriments (*figure C*). Grâce au marquage des cellules cancéreuses par des protéines fluorescentes de diverses couleurs, on peut voir que tous les clones de la tumeur primitive sont susceptibles d'envahir, de manière simultanée, le ganglion (*figure D*), alors qu'un seul à la fois forme des métastases pulmonaires (*figure E*).

Une série d'arguments convergents montre que les cellules tumorales de la métastase ganglionnaire se nourrissent à partir des vaisseaux existants et qu'aucune néo-angiogenèse n'est mise en place pour subvenir à leurs besoins, au contraire des métastases viscérales :

- Des arguments morphologiques directs : la vascularisation sanguine du ganglion envahi est inchangée durant la croissance de la métastase ganglionnaire ; la densité vasculaire du ganglion envahi, évaluée par immunomarquage du CD31, est légèrement inférieure à celle du ganglion controlatéral ou à des ganglions de souris non tumorales (ce qui laisse supposer que le nombre total de vaisseaux dans le ganglion n'a pratiquement pas changé) ; et la densité en vaisseaux lymphatiques du ganglion envahi, évaluée par immunomarquage du LYVE-1, est diminuée par rapport à celle du ganglion controlatéral ;
- Des arguments biochimiques : les

concentrations en VEGF-A sont identiques dans les ganglions envahis, les ganglions controlatéraux et ceux de souris non tumorales, et les concentrations en VEGF-C et -D sont inférieures dans les ganglions envahis, ces mesures étant en parfait accord avec les observations morphologiques quant à l'absence de néovascularisation sanguine et à la régression de la vascularisation lymphatique intra-ganglionnaire ;

- Des arguments moléculaires : l'expression des gènes pro-angiogéniques n'est pas augmentée dans les ganglions envahis, et des gènes anti-angiogéniques (*Timp1*, *Thbs1*) y sont même surexprimés ;
- Des arguments pharmacologiques : le traitement des métastases au stade où elles dépassent 100 à 125 μm de diamètre, par un anticorps anti-VEGFR2 ou par le sunitinib, n'affecte pas la croissance des ganglions métastatiques ni leur densité vasculaire.

Qu'en est-il en situation réelle, en clinique ? Chez les patients porteurs de métastases ganglionnaires d'un cancer colique ou d'un cancer des voies aéro-digestives supérieures survenues après résection de la tumeur primitive, les auteurs ont observé par immunohistochimie une densité vasculaire plus élevée dans les ganglions normaux (220 vaisseaux par mm^2) que dans les ganglions métastatiques (135 vaisseaux par mm^2) et dans les ganglions dont le tissu était totalement remplacé par des cellules cancéreuses (104 vaisseaux par mm^2).

Le traitement de patients porteurs d'un

Figure. Croissance de cellules cancéreuses métastatiques dans un ganglion lymphatique.

A. La fenêtre d'observation du ganglion lymphatique permet d'étudier un ganglion lymphatique par microscopie avec coloration vitale pendant deux semaines.

B. L'angiographie visualisée par microscopie multiphotonique montre la vascularisation du ganglion lymphatique (en rouge) et les fibres de collagène de la capsule (en bleu).

C. Formation de métastases ganglionnaires, depuis l'arrivée de cellules cancéreuses isolées (vertes) formant progressivement des agrégats, puis constituant des métastases, d'abord proches de la capsule (bleue) puis plus profondément, proches de la vascularisation préexistante (rouge).

D. À partir de tumeurs primitives de cellules de différentes couleurs (rouge, vert, jaune) se forment des métastases ganglionnaires multiples de toutes les variétés cellulaires.

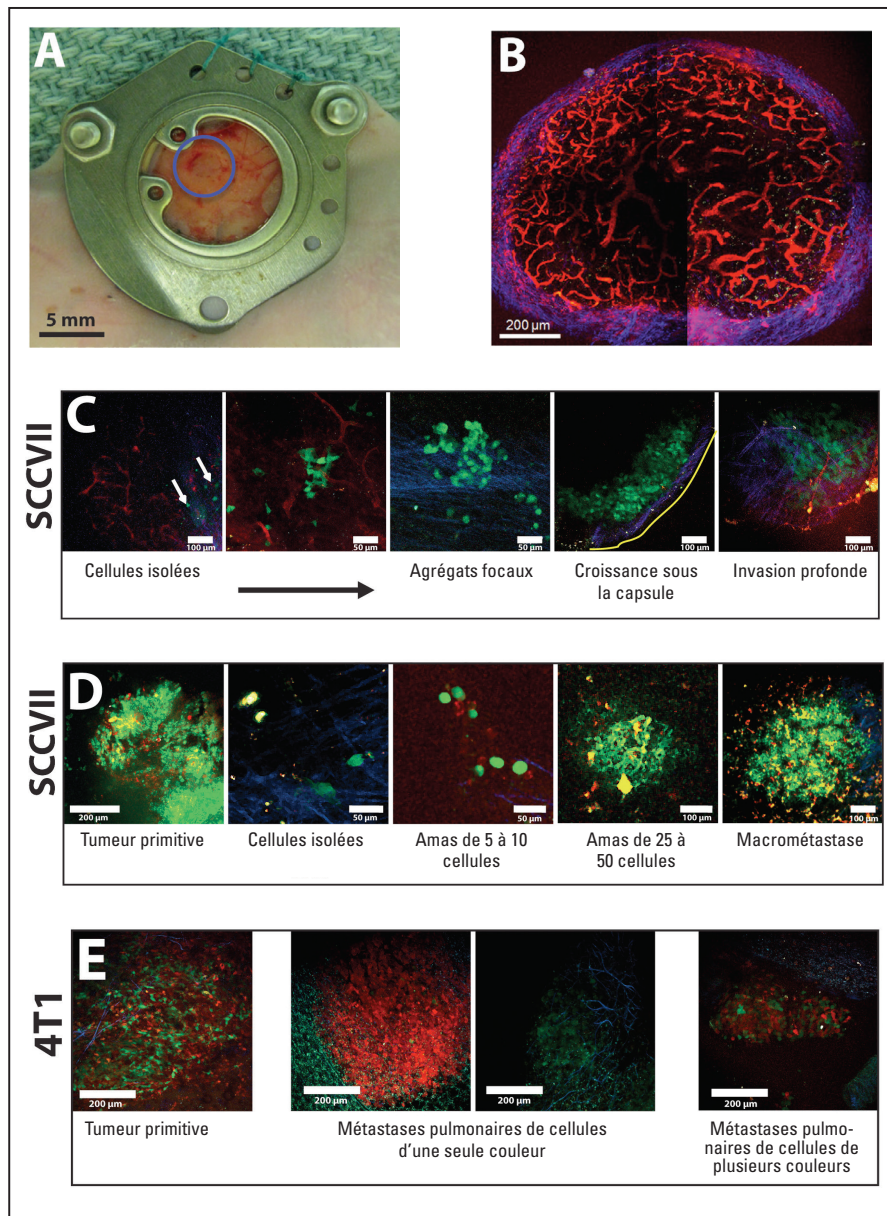
E. À partir de tumeurs primitives de cellules de deux couleurs (rouge, vert) se forment des métastases pulmonaires qui sont pour 80 % d'un seul type cellulaire et pour 20 % des deux types.

cancer rectal par radio-chimiothérapie en situation néo-adjuvante montre en outre que la densité vasculaire de leurs ganglions envahis ne différait pas selon qu'ils recevaient ou non du bévacicumab en plus de la radio-chimiothérapie : c'est là la première preuve directe de l'inefficacité des médicaments anti-angiogéniques sur les métastases ganglionnaires, et constitue une base rationnelle solide permettant de comprendre pourquoi les anti-angiogéniques sont inactifs en situation adjuvante, malgré tous les espoirs qui avaient été mis dans cette approche thérapeutique.

Liens d'intérêts : L'auteur déclare ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Jeong HS, Jones D, Liao S, et al. Investigation of the lack of angiogenesis in the formation of lymph node metastases. *J Nat Cancer Inst* 2015 ; 107 : djv155.
2. Allegra CJ, Yothers G, O'Connell MJ, et al. Phase III trial assessing bevacizumab in stages II



and III carcinoma of the colon: results of NSABP protocol C-08. *J Clin Oncol* 2011 ; 29 : 11-6.

3. de Gramont A, Van Cutsem E, Schmoll HJ, et al. Bevacizumab plus oxaliplatin-based chemotherapy as adjuvant treatment for colon cancer (AVANT): a phase 3 randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2012 ; 13 : 1225-33.

4. Cameron D, Brown J, Dent R, et al. Adjuvant bevacizumab-containing therapy in triple-negative breast cancer (BEATRICE): primary results of a randomized, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013 ; 14 : 933-42.

5. Padera TP, Kuo AH, Hoshida T, et al. Differen-

tial response of primary tumor versus lymphatic metastasis to VEGFR-2 and VEGFR-3 kinase inhibitors cediranib and vandetanib. *Mol Cancer Ther* 2008 ; 7 : 2272-9.

6. Roberts N, Kloos B, Cassella M, et al. Inhibition of VEGFR-3 activation with the antagonistic antibody more potently suppresses lymph node and distant metastases than inactivation of VEGFR-2. *Cancer Res* 2006 ; 66 : 2650-7.

7. Matsumoto M, Roufai S, Inder R, et al. Signaling for lymphangiogenesis via VEGFR-3 is required for the early events of metastasis. *Clin Exp Metastasis* 2013 ; 30 : 819-32.