

Récepteurs à dépendance et angiogenèse

Marie Castets, Patrick Mehlen

Laboratoire « Apoptose, Cancer et Développement » -
Equipe labellisée 'La Ligue' - Centre de Cancérologie de Lyon,
Inserm U1052-CNRS UMR5286,
Université de Lyon, Centre Léon Bérard, Lyon
<marie.castets@lyon.unicancer.fr>

Des similitudes importantes existent au sein de l'organisme entre les voies empruntées par les réseaux vasculaires et nerveux [1]. De plus, la structuration de ces circuits requiert le ciblage vers des zones précises et la mise en connexion de leurs éléments constitutifs : or, ces deux processus sont déterminés de manière homologue respectivement par le cône de croissance des neurones et la cellule terminale des vaisseaux sanguins en cours de développement. Compte tenu des similarités existant entre les réseaux vasculaires et nerveux, l'hypothèse d'un contrôle commun de la formation des vaisseaux et axones en cours de croissance a été formulée à la fin des années 1990 [1]. Cette dualité fonctionnelle a effectivement été établie pour les quatre grandes familles de facteurs de guidage axonal, à savoir les sémaphorines, les éphrines, les protéines slits et les nétrines ainsi que pour leurs récepteurs respectifs [2]. Réciproquement, le VEGF a récemment été identifié comme facteur de guidage axonal des neurones commissuraux de la moelle épinière [3].

La Nétrine-1 est une protéine sécrétée diffusible apparentée à la laminine. La nétrine-1 est le ligand des récepteurs DCC (*Deleted in Colorectal Cancer*) et UNC5A-D (*UNCoordinated 5 A, B, C et D*). Historiquement, la Nétrine-1 (du sanskrit, « celui qui guide ») a été le premier facteur de guidage axonal caractérisé pour son rôle dans le ciblage des axones des neurones commissuraux de la moelle épinière [4-6]. Son rôle-clé dans le contrôle du guidage axonal et de la migration neuronale a par la suite été confirmé dans d'autres territoires du système nerveux [7]. Plus récemment,

différents articles ont établi le rôle de la Nétrine-1 et de ses récepteurs dans le contrôle de l'angiogenèse [8-14]. Toutefois, une controverse est apparue, certains résultats expérimentaux étant respectivement en faveur d'un rôle pro- et anti-angiogénique de cette protéine.

D'une controverse vers une hypothèse : le modèle des récepteurs à dépendance dans l'angiogenèse

La Nétrine-1 et son récepteur UNC5B ont été impliqués dans la régulation de l'angiogenèse par différentes études [8-14], mais une controverse a toutefois émergé quant à l'interprétation des résultats issus de ces analyses et au rôle du couple Nétrine-1/UNC5B dans l'angiogenèse. Deux résultats importants semblaient notamment difficiles à concilier : en effet, l'inactivation du gène *UNC5B* chez la souris induit la formation de vaisseaux ectopiques au cours du développement embryonnaire, suggérant que la Nétrine-1 puisse jouer un rôle anti-angiogénique via son récepteur UNC5B [8] ; au contraire, l'inactivation de la Nétrine-1 par injection de morpholinos chez le poisson-zèbre provoque la disparition de vaisseaux, ce qui est en faveur d'un rôle pro-angiogénique de la Nétrine-1 et de son récepteur au cours du développement [10].

Nous avons récemment formulé l'hypothèse que ces données contradictoires puissent notamment être expliquées en les analysant sous l'angle du modèle des récepteurs à dépendance.

Le concept des récepteurs à dépendance a émergé à la fin des années 1990 et s'est

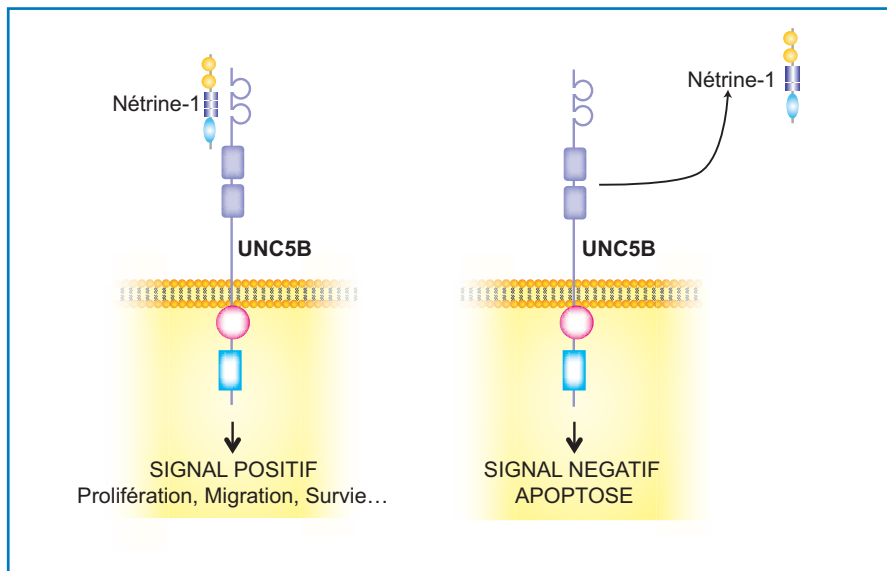


Figure 1. Fonctionnement bimodal des récepteurs à dépendance : exemple du couple Nétrine-1/UNC5B. En présence de son ligand Nétrine-1, UNC5B induit une cascade de signalisation positive. Mais contrairement aux récepteurs classiques, UNC5B n'est pas inactif en absence de Nétrine-1 et induit l'apoptose des cellules.

développé au cours des 15 dernières années [15-17]. UNC5B fait partie de cette famille fonctionnelle, dont les membres présentent la particularité d'être capables d'induire une double signalisation. En présence de leur ligand, les récepteurs à dépendance induisent une signalisation positive aboutissant à la prolifération, la migration ou la différenciation des cellules. Mais, contrairement aux récepteurs classiques, ces récepteurs ne sont pas inactifs en absence de leur ligand et induisent de manière active l'apoptose des cellules les exprimant : les cellules sont donc « dépendantes » pour leur survie de la présence du ligand dans le milieu extracellulaire, d'où le nom donné à cette famille (*figure 1*) [18-20]. Actuellement, 19 récepteurs à dépendance ont été identifiés par différentes équipes, dont les récepteurs DCC et UNC5A-C de la Nétrine-1, le récepteur *Patched* de *Sonic Hedgehog* (SHH), les récepteurs TrkC et plus récemment TrkA et leurs ligands respectifs, la neurotrophine 3 (NT-3) et le NGF [21-23].

Du fait de leur fonctionnement bimodal, il a été supposé que les récepteurs à dépendance puissent jouer un rôle dans l'homéostasie cellulaire, en éliminant les cellules en excès ou localisées de manière aberrante par rapport à la disponibilité du ligand dans le milieu extérieur [24]. Dans le cadre de cette hypothèse, il est possible d'envisager que les récepteurs à dépendance puissent être impliqués dans deux types de processus, physio- et pathologiques :

1. au cours du développement embryonnaire, le contrôle apoptotique exercé par

les récepteurs à dépendance et leur ligand pourrait jouer un rôle dans la morphogénèse des tissus, des organes et des systèmes vasculaire et nerveux. En effet, l'apoptose induite par les récepteurs à dépendance en absence de leur ligand pourrait permettre l'élimination en dehors de leur territoire de destination, alors que la signalisation positive induite en présence de leur ligand pourrait favoriser la prolifération, la migration ou la différenciation des cellules au cours du développement embryonnaire par les voies classiques de signalisation (MAPK, RhoGTP-ases, Gli...);

2. une dérégulation du contrôle apoptotique exercé par les récepteurs à dépendance pourrait au contraire être impliquée dans des processus pathologiques : un déficit en ligand pourrait se traduire par un excès d'apoptose, potentiellement impliqué dans la survenue de maladies dégénératives [25] ; au contraire, la perte d'expression des récepteurs à dépendance ou l'acquisition d'un gain d'expression du ligand se traduit théoriquement par un déficit d'apoptose, susceptible de conférer aux couples ligand/récepteur(s) à dépendance un rôle dans l'échappement tumoral, en permettant aux cellules de s'affranchir de la disponibilité du ligand dans le milieu extérieur [19, 20]. Le rôle de la Nétrine-1 et de ses récepteurs DCC et UNC5A-C, du couple NT-3/TrkC ou SHH/*Patched* dans la tumorigénèse a ainsi été établi au cours des dernières années [26-31].

À la lumière de ce modèle, il devient possible de proposer une explication aux résultats contradictoires obtenus lors de la caractérisation du rôle de la Nétrine-1 et de ses récepteurs à dépendance dans l'angiogénèse : l'inactivation d'UNC5B dans les cellules endothéliales provoque la disparition de la signalisation pro-apoptotique induite par ce récepteur en absence de son ligand, susceptible d'expliquer l'augmentation du nombre de vaisseaux sanguins observés dans les embryons de souris invalidés pour ce gène [8]. Réciproquement, l'invalidation du gène de la Nétrine-1 pourrait se traduire notamment par une augmentation de l'apoptose induite par ses récepteurs à dépendance DCC et UNC5A-C non liés, susceptible d'expliquer les défauts vasculaires observés lors de l'embryogénèse chez le poisson-zèbre [10].

Rôle du contrôle apoptotique exercé par les récepteurs à dépendance au cours de l'angiogénèse

Contrôle apoptotique des récepteurs à dépendance et angiogénèse développementale

La formation d'un réseau vasculaire fonctionnel requiert la structuration des vaisseaux au sein de l'organisme et l'élimination des connexions/ramifications aberrantes. Le rôle de l'apoptose au cours de l'angiogénèse, notamment développementale, a été établi par différentes études à la fois *in vitro* et *in vivo*, notam-

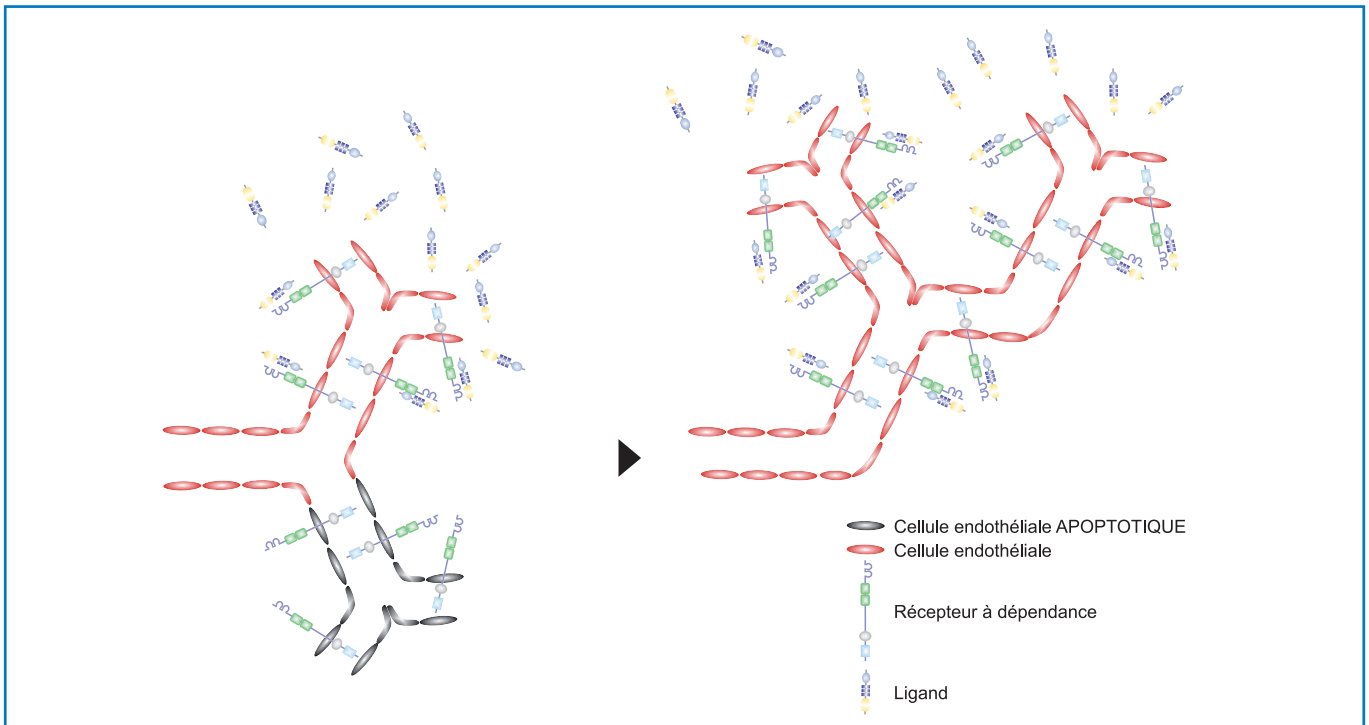


Figure 2. Modèle du contrôle apoptotique des couples ligand/récepteur à dépendance dans la structuration du réseau vasculaire. L'angiogenèse est stimulée dans les zones de disponibilité du ligand, alors qu'elle est inhibée par induction de l'apoptose des cellules endothéliales en absence du ligand des récepteurs à dépendance.

ment via l'étude de modèles transgéniques présentant des dérégulations des processus apoptotiques [32]. Ainsi, l'invalidation du récepteur du VEGF neuropilin-1 ou des protéines de la famille IAP (*Inhibitor of Apoptosis*), Birc2 et survivine, provoque une augmentation de l'apoptose des cellules endothéliales, *in vitro* et *in vivo*, associée à des défauts vasculaires [32].

Afin d'étudier le rôle du contrôle apoptotique exercé par la Nétrine-1 et ses récepteurs et de déterminer la pertinence du modèle des récepteurs à dépendance au cours de l'angiogenèse développementale, nous avons montré que l'inactivation de la Nétrine-1 se traduit effectivement par la disparition de vaisseaux au cours du développement embryonnaire chez le poisson-zèbre, ce phénotype pouvant être sauvé par invalidation simultanée du récepteur UNC5B ou de l'un de ses effecteurs [33, 34]. Le rôle de facteur de survie de la Nétrine-1 dans l'angiogenèse a été récemment confirmé par différentes études [35, 36].

De manière similaire, il a été établi que le ligand SHH du récepteur à dépendance *Patched* induit l'angiogenèse de deux manières distinctes :

SHH joue un rôle indirect, en favorisant la synthèse de facteurs pro-angiogéniques, VEGF et angiopoïétines, par les cellules mésenchymales [37] ; plus récemment, un rôle direct de SHH a été démontré *in vitro*, par blocage de l'apoptose des cellules endothéliales induites par le récepteur *Patched* [38].

Selon notre paradigme, il est donc possible d'envisager que le contrôle apoptotique exercé par le couple SHH/*Patched* joue également un rôle sur la structuration du réseau vasculaire au cours de l'angiogenèse développementale. Ce processus pourrait être transposé à d'autres couples ligands/récepteurs à dépendance déjà impliqués dans la régulation de l'angiogenèse. Le contrôle apoptotique exercé par ces couples ligand/récepteur(s) à dépendance pourrait jouer un rôle dans la structuration du système vasculaire dans différents territoires de l'organisme, en éliminant les vaisseaux surnuméraires et/ou ectopiques (*figure 2*).

L'étude de modèles animaux présentant une inactivation spécifique de la fonction pro-apoptotique des récepteurs à dépendance, sans perturbation de la signalisation positive induite par la fixation de leur ligand, permettra de définir claire-

ment le rôle physiologique de ce contrôle apoptotique au cours de l'angiogenèse développementale.

Contrôle apoptotique et angiogenèse tumorale

Les récepteurs à dépendance induisent l'apoptose des cellules en absence de leur ligand, ce qui leur confère une activité de suppresseurs de tumeurs [19, 20, 39]. Réciproquement, l'inactivation de la voie pro-apoptotique induite par les récepteurs à dépendance présente donc un avantage sélectif potentiel pour des cellules au cours de l'échappement tumoral. Trois mécanismes peuvent être mis en jeu : la perte des récepteurs à dépendance *per se*, l'inactivation de l'un des effecteurs de la signalisation pro-apoptotique induite par ces récepteurs ou un gain du ligand, bloquant de fait l'apoptose induite par ces récepteurs (*figure 3*).

De manière intéressante, un gain autocrine de ligands de récepteurs à dépendance a récemment été identifié dans plusieurs types de cancers agressifs. En particulier, un gain du ligand NT-3 du récepteur TrkC a été mis en évidence dans plus de 30 % des cas de neuroblastomes [31]. Une surexpression de Nétrine-1 a également été



Les voies de signalisation

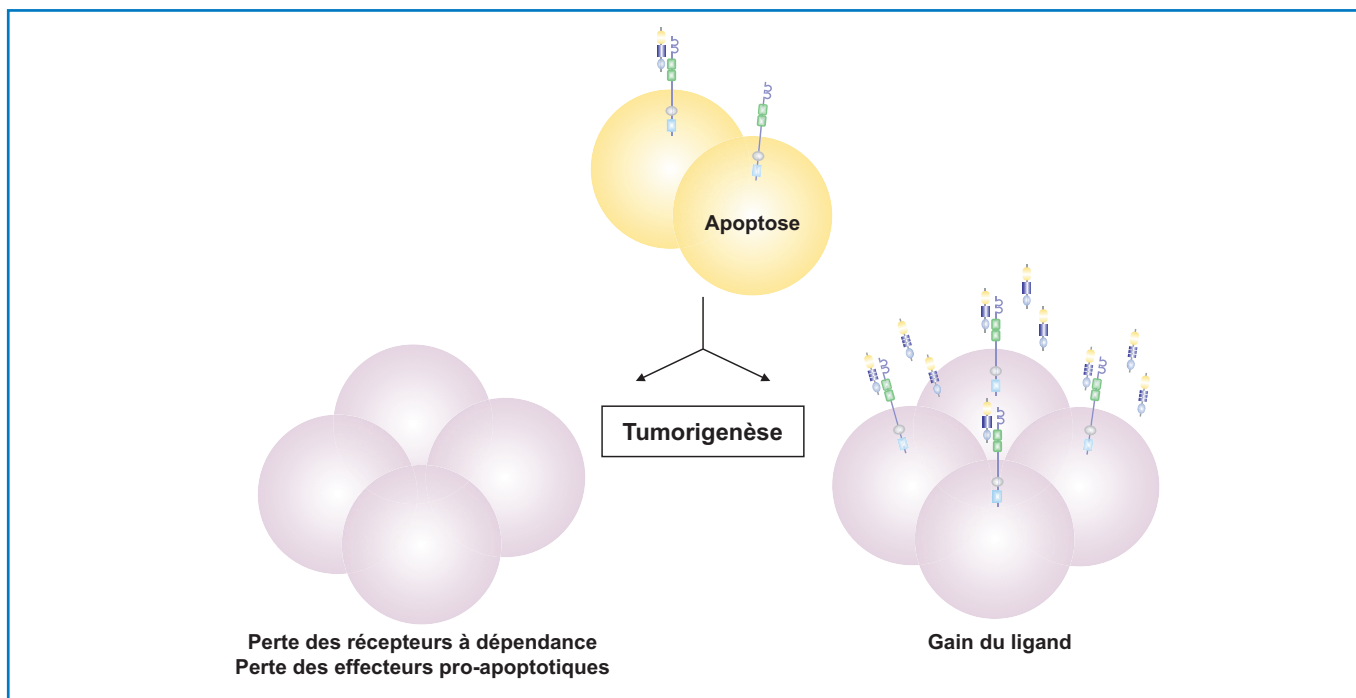


Figure 3. Récepteurs à dépendance et échappement tumoral. Du fait de leur dualité fonctionnelle, les récepteurs à dépendance pourraient participer à l'homéostasie cellulaire en éliminant les cellules en excès par rapport à la disponibilité du ligand dans le milieu extérieur. Réciproquement, deux avantages sélectifs aboutissant au blocage de l'apoptose induite par les récepteurs à dépendance pourraient être acquis au cours de l'échappement tumoral : (i) la perte des récepteurs à dépendance ou de leurs effecteurs pro-apoptotiques, ou (ii) un gain d'expression du ligand.

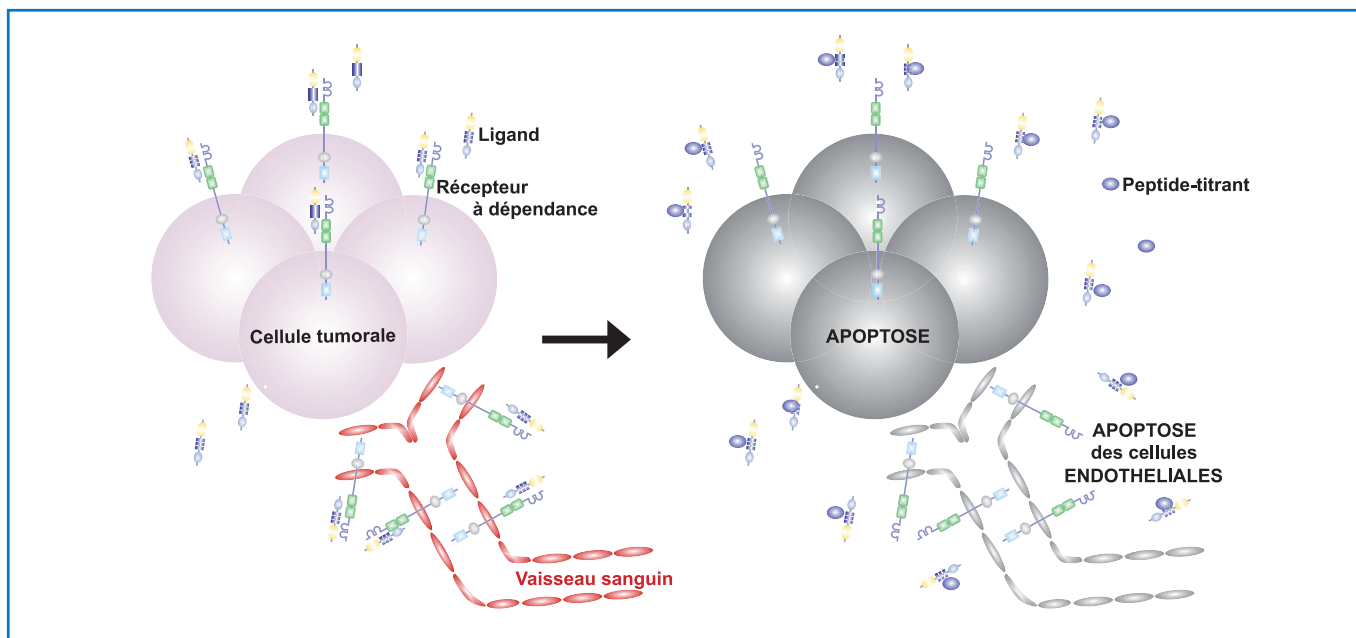


Figure 4. Modèle du contrôle apoptotique des couples ligand/récepteur à dépendance dans l'échappement tumoral et l'angiogenèse tumorale. L'acquisition d'un gain autocrine du ligand des récepteurs à dépendance pourrait favoriser l'échappement tumoral directement en bloquant l'apoptose des cellules tumorales et indirectement en permettant la survie des cellules endothéliales. Une piste thérapeutique possible consiste à interférer dans la liaison ligand/récepteur à dépendance, de manière à rétablir l'apoptose des cellules tumorales et/ou endothéliales par les récepteurs à dépendance non liés.



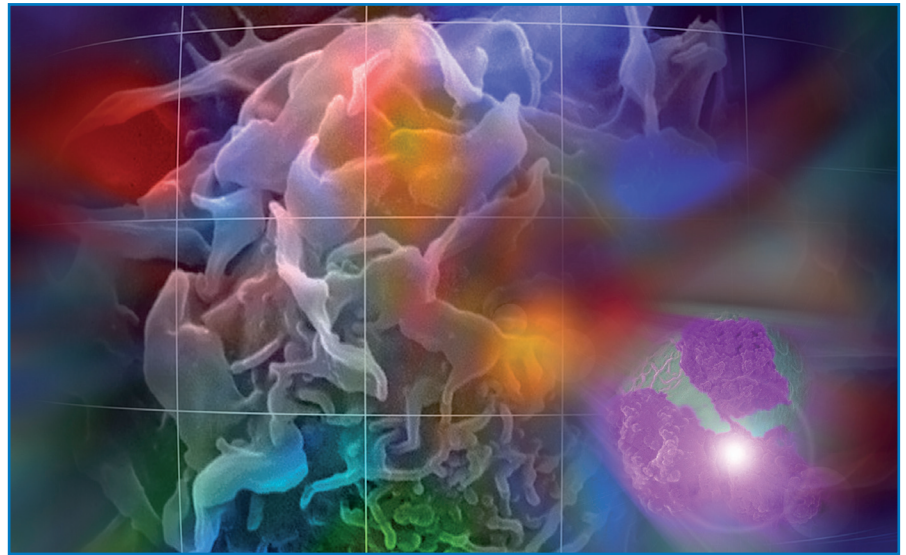
décrite dans le cas de cancers du sein métastatique, de cancers du poumon non à petites cellules ou de cancers ovariens [26, 28, 29, 40]. De même, une augmentation de la teneur plasmatique en Nétrine-1 a également été observée dans le cas des cancers du sein, du rein, de la prostate, du foie ou du cerveau [41]. Une augmentation du niveau d'expression paracrine et autocrine de SHH a également été respectivement corrélée à la survenue de cancers du côlon d'une part et de cancers du sein et de leucémies d'autre part [27, 30].

Dans le cas de la Nétrine-1 et de NT-3, il a été montré que ces gains de ligands favorisaient l'échappement tumoral en bloquant l'apoptose des cellules tumorales, induite par leurs récepteurs à dépendance non liés. Compte tenu du rôle pro-angiogénique de ces ligands, il est possible d'envisager qu'une dérégulation du contrôle apoptotique exercé par les récepteurs à dépendance puisse également favoriser indirectement l'échappement tumoral en stimulant l'angiogenèse.

L'angiogenèse tumorale désigne la capacité d'une tumeur à permettre la formation de vaisseaux sanguins à partir du réseau vasculaire préexistant. Cette étape est cruciale pour la croissance tumorale et la dissémination métastatique. Il a été montré que l'angiogenèse tumorale est stimulée par différents facteurs pro-angiogéniques capables de favoriser la survie, la prolifération et/ou la migration des cellules endothéliales [42, 43]. De fait, une surexpression de ligands des récepteurs à dépendance pourrait favoriser la formation du réseau vasculaire tumoral (i) en activant la voie positive de signalisation favorisant la prolifération, la différenciation et la migration des cellules endothéliales ; (ii) en bloquant l'apoptose des cellules endothéliales induites par les récepteurs à dépendance en absence de leur ligand (figure 4).

Conclusion

L'identification de boucles autocrines de production des ligands des récepteurs à dépendance ouvre de nouvelles pistes thérapeutiques potentielles. En effet, du fait de leur dualité fonctionnelle, des stratégies thérapeutiques basées sur l'interférence de la liaison des ligands à leur récepteur pourraient permettre d'induire la régression tumorale, soit directement par induction de l'apoptose des cellules tumorales, soit indirectement en favorisant la



régression du réseau vasculaire tumoral (figure 4). La caractérisation du rôle du contrôle apoptotique exercé par les couples récepteurs à dépendance/angiogenèse constitue donc un challenge prometteur, tant sur le plan fondamental que thérapeutique.

Conflits d'intérêts : Patrick Mehlen est actionnaire, fondateur de Netris-Pharma.

Références

1. Carmeliet P, et al. *Nature* 2005 ; 436 : 193-200.
2. Klagsbrun M, et al. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005 ; 16 : 535-48.
3. Ruiz de Almodovar C, et al. *Neuron* 2011 ; 70 : 966-78.
4. Serafini T, et al. *Cell* 1994 ; 78 : 409-24.
5. Kennedy TE et al. *Cell* 1994 ; 78 : 425-35.
6. Serafini T, et al. *Cell* 1996 ; 87 : 1001-14.
7. Moore SW, et al. *Adv Exp Med Biol* 2007 ; 621 : 17-31.
8. Lu X, et al. *Nature* 2004 ; 432 : 179-86.
9. Park K W, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 ; 101 : 16210-5.
10. Wilson BD, et al. *Science* 2006 ; 313 : 640-4.
11. Larrivee B, et al. *Genes Dev* 2007 ; 21 : 2433-47.
12. Ahmed RP, et al. *PLoS One* 2010 ; 5.
13. Navankasattusas S, et al. *Development* 2008 ; 135 : 659-67.
14. Epting D, et al. *Circ Res* 2010 ; 107 : 45-55.
15. Mehlen P, et al. *Nature* 1998 ; 395 : 801-4.
16. Thibert C, et al. *Science* 2003 ; 301 : 843-6.
17. Mehlen P, et al. *Apoptosis* 2004 ; 9 : 37-49.
18. Mazelin L, et al. *Nature* 2004 ; 431 : 80-4.
19. Mehlen P, et al. *Nat Rev Cancer* 2006 ; 6 : 449-58.
20. Mehlen P, et al. *Nat Rev Cancer* 2011 ; 11 : 188-97.
21. Tauszig-Delamasure S, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 13361-6.
22. Nikolettou V, et al. *Nature* 2010 ; 467 : 59-63.
23. Mehlen P, et al. *Sci Signal* 2011 ; 4.
24. Mehlen P, et al. *Curr Opin Oncol* 2010 ; 22 : 46-54.
25. Mehlen P. *Sci Signal* 2010 ; 3.
26. Fitamant J, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 4850-5.
27. Yauch RL, et al. *Nature* 2008 ; 455 : 406-10.
28. Delloye-Bourgeois C, et al. *J Natl Cancer Inst* 2009a ; 101 : 237-47.
29. Delloye-Bourgeois C, et al. *J Exp Med* 2009b ; 206 : 833-47.
30. Scales S, et al. *Trends Pharmacol Sci* 2009 ; 30 : 303-12.
31. Bouzas-Rodriguez J, et al. *J Clin Invest* 2010 ; 120 : 850-8.
32. Duval H, et al. *Angiogenesis* 2003 ; 6 : 171-83.
33. Castets M., et al. *Dev Cell* 2009 ; 16 : 614-20.
34. Guenebeaud C, et al. *Mol Cell* 2010 ; 40 : 863-76.
35. Dumartin L, et al. *Gastroenterology* 2010 ; 138 : 1591-1606.
36. Durrani S, et al. *Stem Cells Dev* 2011 ; sous presse.
37. Pola R, et al. *Nat Med* 2001 ; 7 : 706-11.
38. Chinchilla P, et al. *Cell Cycle* 2010 ; 9 : 570-9.
39. Coissieux MM, et al. *Gastroenterology* 2011 ; 141 : 2039-46.
40. Papanastasiou AD, et al. *Oncotarget* 2011 ; 2 : 363-7.
41. Ramesh G, et al. *Biomarkers* 2011 ; 16 : 172-80.
42. Bergers G, et al. *J Clin Invest* 2003 ; 111 : 1287-95.
43. Nyberg P, et al. *Front Biosci* 2008 ; 13 : 6537-53.