



GLOSSAIRE

Fullières

En 1975-1978, les polyvynylcyanures, molécules de formule $HC_{2n} + 1N$ ($n = 2, 3, 4$ et 5) furent découvertes avec surprise dans les nuages froids et noirs de l'espace interstellaire par le biais de la radioastronomie. Dans les années 1980 on supposa que ces molécules étaient rejetées dans l'espace par les étoiles au carbone, appelées géantes rouges. Afin de confirmer cette hypothèse, les scientifiques ont simulé en laboratoire les conditions qui règnent au sein d'une telle étoile en soumettant du graphite (forme cristalline courante du carbone) à un plasma à base d'hélium obtenu grâce à un laser pulsé. Dans ces conditions extrêmes, le carbone se trouve pulvérisé et forme de nouvelles combinaisons moléculaires qui furent étudiées par spectrométrie de masse. Les essais menés furent concluants mais surtout permirent de trouver une forme moléculaire toute nouvelle de carbone pur contenant 60 atomes de carbone. Les chercheurs suspectèrent bien vite que cette molécule devait avoir la forme d'un icosaèdre tronqué. Cette molécule fut nommée « buckminsterfullerene » en honneur du dôme géodésique réalisé par l'architecte Buckminster Fuller pour une exposition en 1967 à Montréal (*site web des chimistes de la Faculté Louis Pasteur*)

Graphite et graphène

Le graphite est la forme cristalline ordinaire du carbone. C'est le carbone des mines de crayon. Il a une structure en couches appelées feuilles de graphène.

Radionucléides

Les radionucléides sont des nucléides radioactifs capables de se transformer spontanément en un autre nucléide, avec éventuellement émission de particules chargées, (rayons X ou rayons gamma).

- Bianco A, Kostarelos K, Prato M. Opportunities and challenges of carbon-based nanomaterials for cancer therapy. *Expt Opin Drug Deliv* 2008 ; 5 : 331-42.
- Kostarelos K, Lacerda L, Pastorin G, et al. Functionalised carbon nanotube cellular uptake and internalisation mechanism is independent of functional group and cell type. *Nat Nanotech* 2007 ; 2 : 108-13.
- O'Connell MJ, Bachilo SM, Huffman CB, et al. Band gap fluorescence from individual single-walled carbon nanotubes. *Science* 2002 ; 297 : 593-6.
- Kam NWS, O'Connell M, Wisdom JA, Dai H. Carbon nanotubes as multifunctional biological transporters and near-infrared agents for selective cancer cell destruction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102 : 11600-5.
- Chakravarty P, Marches R, Zimmermann NS, et al. Thermal ablation of tumor cells with antibody-functionalized single-walled carbon nanotubes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 8697-702.
- Shao N, Lu S, Wickstrom E, Panchapakesan B. Integrated molecular targeting of IGF1R and HER2 surface receptors and destruction of breast cancer cells using single wall carbon nanotubes. *Nanotechnology* 2007 ; 18 : 315-401.
- Pastorin G, Wu W, Wieckowski S, et al. Double functionalisation of carbon nanotubes for multimodal drug delivery. *Chem Comm* 2006 ; 18 : 1182-4.
- McDevitt MR, Chattopadhyay D, Kappel BJ, et al. Tumor targeting with antibody-functionalized, radiolabeled carbon nanotubes. *J Nucl Med* 2007 ; 48 : 1180-9.
- Lacerda L, Ali-Boucetta H, Herrero MA, et al. Tissue histology and physiology following intravenous administration of different types of functionalized multiwalled carbon nanotubes. *Nanomedicine* 2008 ; 3 : 149-61.
- Sayes CM, Liang F, Hudson JL, et al. Functionalization density dependence of single-walled carbon nanotubes cytotoxicity *in vitro*. *Toxicol Lett* 2006 ; 161 : 135-42.

RÉFÉRENCES

- Monthieux M, Kuznetsov VL, Who should be given the credit for the discovery of carbon nanotubes? *Carbon* 2006 ; 44 : 1621-3.
- Iijima S. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature* 1991 ; 354 : 56-8.
- Dresselhaus MS, Dresselhaus G, Avouris P. *Carbon nanotubes: synthesis, properties and applications*. Berlin: Springer-Verlag, 2001.

NOUVELLE

SOX18, un nouveau chef d'orchestre moléculaire à l'origine du développement des vaisseaux lymphatiques

Mathias François

Koopman Laboratory, Institute for Molecular Bioscience, The University of Queensland, QLD 4072 Brisbane, Australie.
m.francois@imb.uq.edu.au

Quels sont les enjeux de la recherche sur les vaisseaux lymphatiques ?

Le système vasculaire lymphatique joue un rôle physiologique majeur dans le contrôle de l'homéostasie des fluides, le trafic des cellules de l'immunité et le transport des lipides. De nombreuses pathologies sont caractérisées par des malformations des vaisseaux lymphatiques

comme les lymphœdèmes, la lymphangiectasie, le lymphangiome et la dysplasie lymphatique [1]. De surcroît, l'arbre vasculaire lymphatique est également au cœur du processus métastatique de certaines tumeurs et joue un rôle clé dans la morbidité d'un nombre important de cancers. En effet, au cours de la tumorigenèse les

vaisseaux lymphatiques se redéveloppent afin d'établir un véritable point d'entrée et de faciliter la dissémination des cellules cancéreuses dans l'organisme.

L'enjeu est donc clair : identifier et comprendre les programmes génétiques à l'origine du développement des vaisseaux lymphatiques (lymphangiogenèse)

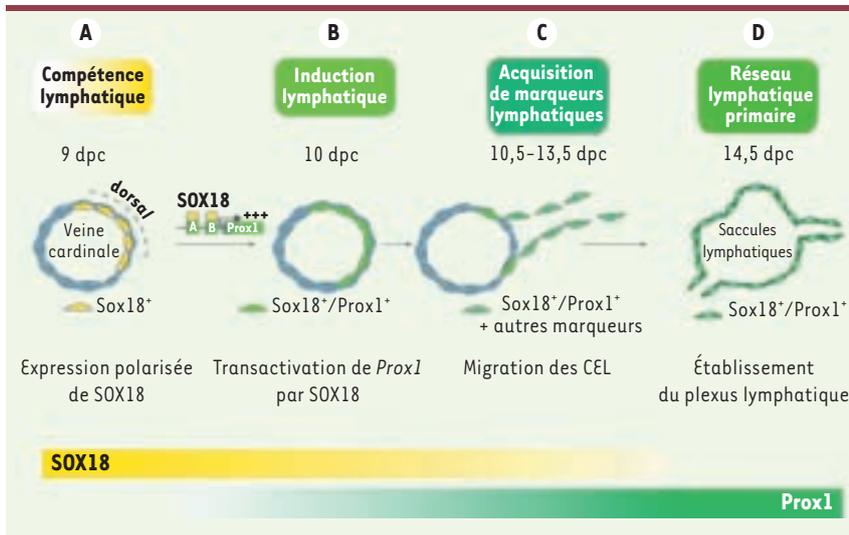


Figure 1. Modélisation des étapes initiales du développement des vaisseaux lymphatiques chez la souris. **A.** Vers 9 dpc (*dies post-coitum*), l'expression de SOX18 se polarise de façon dorso-latérale dans les cellules endothéliales de la veine cardinale. SOX18 active directement la transcription du gène *Prox1*. **B.** Les précurseurs des cellules endothéliales lymphatiques (CEL) co-expriment SOX18 et PROX1. **C.** De 10,5dpc à 13,5dpc les CEL migrent dans le mésenchyme sous-jacent et acquièrent une identité lymphatique après avoir quitté la veine cardinale. Les premiers saccules lymphatiques s'organisent. **D.** Mise en place du réseau lymphatique primaire où les CEL prolifèrent et développent l'arbre vasculaire lymphatique primordial.

constitue une étape essentielle dans la mise en place de futures stratégies thérapeutiques. Moduler la néo-lymphangiogenèse au cours de certaines maladies est déjà envisagé comme une approche complémentaire indispensable aux traitements qui régulent l'angiogenèse (bourgeoisement des vaisseaux sanguins à partir de vaisseaux pré-existants).

Mutations du gène *SOX18* en pathologie humaine

La première indication sur le rôle du facteur de transcription SOX18 au cours de la lymphangiogenèse a été fournie par l'identification de mutations récessives ou dominantes de ce gène chez des patients atteints d'un syndrome héréditaire, *l'hypotrichosis-lymphedema-telangiectasia* ou HLT [2]. Le syndrome HLT se caractérise principalement par une alopecie (absence ou perte de cheveux), une telangiectasie (malformation vasculaire) et surtout un lymphoedème (accumulation de fluides dans les tissus) sévère chez les patients survivant après la naissance. Ces mutations sont responsables d'un décalage du cadre de lecture qui aboutit à la synthèse d'une protéine SOX18 tronquée : elle agit comme dominant négatif, réduisant ainsi les fonctions endogènes de ce facteur de transcription.

Il est important de noter qu'il existe un modèle de souris (*Ragged*) qui présente naturellement une série de mutations de *Sox18* identiques à celles qui ont été identifiées chez l'homme [3]. Ce modèle animal présente une phénotypie (c'est-à-dire alopecie-telangiectasie-lymphoedème) du phénotype des patients souffrant de HLT, et est considéré comme la contrepartie murine du syndrome humain.

La protéine SOX18 appartient à un groupe de facteurs de transcription de la famille du facteur de détermination sexuelle SRY (*sex-determining region Y*). Cette famille est divisée en 10 sous-groupes (de A à J), SOX18 appartient au groupe F qui comprend également SOX7 et SOX17. Ces protéines modulent l'activité transcriptionnelle de leurs gènes cibles en se liant à l'ADN, mais également en le courbant grâce à leur domaine HMG (*high mobility group*). Les protéines de la famille SOX sont en général des facteurs clefs de l'embryogenèse. Ils sont exprimés dans presque tous les tissus de façon transitoire et spécifique du stade embryonnaire. Ces facteurs de transcription ont de multiples fonctions, par exemple, SOX18 est un modulateur central de la différenciation artério-veineuse [4], mais joue également un rôle essentiel lors du développement des follicules pileux [3].

Développement du système vasculaire lymphatique

La première théorie développementale concernant le système lymphatique n'apparaît qu'au début du XX^e siècle. En 1902, Florence Sabin [5] joue un rôle pionnier en suggérant que les cellules endothéliales lymphatiques (CEL) dérivent des cellules endothéliales veineuses déjà préexistantes dans le système vasculaire sanguin de l'embryon. Hypothèse remise en question en 1910 par Huntignton et MacClure, plus favorables à une origine mésenchymateuse des vaisseaux lymphatiques. Tout récemment [6] une étude basée sur le suivi de cellules ayant un marqueur génétique, a permis de mettre en évidence que les CEL ont comme unique source au cours du développement embryonnaire les cellules endothéliales de la veine cardinale. L'analyse de cette découverte a fait l'objet d'une revue par T. Jaffredo dans un précédent numéro de *Médecine/Sciences* [11]. La base de ces récentes avancées est due essentiellement à l'identification d'un gène clé de la lymphangiogenèse : PROX1 (*prospero-related homeobox gene*). Chez la souris, l'inactivation par recombinaison homologue du gène *Prox1* génère un phénotype caractérisé par l'absence complète de cellules lymphatiques endothéliales [7]. L'expression de ce gène est absolument nécessaire pour maintenir le phénotype



lymphatique au cours de l'embryogénèse comme à l'état adulte. Récemment, l'inactivation génique conditionnelle de *Prox1* chez la souris adulte a montré que les CEL ne peuvent pas maintenir leur phénotype et se redifférencient en cellules endothéliales vasculaires sanguines [8].

L'étape initiale de la compétence lymphatique

Durant les stades très précoces de la différenciation endothéliale lymphatique (9dpc), les cellules endothéliales localisées dans la partie dorsale de la veine cardinale changent de caractéristiques en surexprimant le récepteur de l'acide hyaluronique (LYVE-1, *lymphatic vessel endothelial receptor 1*). À ce stade l'endothélium vasculaire est considéré comme « compétent » pour exprimer PROX1, le premier marqueur spécifique des CEL. Il est également à noter qu'un partenaire essentiel pour moduler l'activité de PROX1 a été découvert : il s'agit du facteur de transcription COUP-TFII (*chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factor II*), qui joue un rôle indispensable dans le maintien de la différenciation endothéliale veineuse [9]. En revanche, jusqu'à maintenant aucun mécanisme moléculaire n'avait été caractérisé qui expliquait la régulation génique de *Prox1*, qui permet de sceller le devenir lymphatique d'une partie de l'endothélium veineux.

Au cours de l'embryogénèse, *Sox18* est exprimé de façon transitoire dans toutes les cellules endothéliales [3]. Nous avons récemment démontré [10] que SOX18 est exprimé au cours du développement de façon spécifique dans la partie dorsolatérale de la veine cardinale aux environs de 9 jours *post coïtum* (*dies post-coïtum*, dpc). Cette expression précède celle de PROX1 d'environ 12 heures, puis reste colocalisée avec PROX1 dans les CEL jusqu'à 13,5 dpc. Au-delà, l'expression de SOX18 n'est plus détectée dans les CEL, ni pendant le développement, ni à l'état adulte (Figure 1).

In vitro, il est possible d'induire la différenciation lymphatique endothéliale à partir de cellules ES (*embryonic stem cells*) traitées par du VEGF-A (*vascular endothelial growth factor*) ou VEGF-C. Dans ce système, la surexpression de SOX18 conduit à la surexpression de PROX1 ; de façon complémentaire, la surexpression du dominant négatif de SOX18 induit une inhibition de la production de PROX1. De plus, la surexpression de SOX18 dans des cellules endothéliales vasculaires sanguines (H5V) entraîne une reprogrammation génétique de ces cellules qui aboutit à l'acquisition d'un phénotype lymphatique.

L'analyse du promoteur de PROX1 a révélé la présence de deux éléments de réponse aux SOX qui s'avèrent être fonctionnels *in vivo*. En effet, l'utilisation d'un fragment de 4kb du promoteur de *Prox1* fusionné au gène rapporteur de la GFP (*green fluorescent protein*) permet d'identifier par fluorescence l'endothélium lymphatique en développement. Lorsque les deux éléments de réponse aux SOX sont mutés, une perte d'expression de la GFP est spécifiquement observée dans les CEL des embryons transgéniques *Prox1-gfp*. *In vivo*, il est possible d'induire une lymphangiogenèse ectopique en utilisant des embryons transgéniques, où l'expression ectopique de SOX18 est dirigée par un élément activateur (*enhancer*) du gène *HoxB2* (M. François, Brisbane, Australie, communication personnelle). Enfin, la perte de fonction de *Sox18* chez la souris (par invalidation génique ou utilisation d'un dominant négatif *Ragged*) confère une perte d'expression de PROX1 dans les cellules endothéliales de la veine cardinale ainsi qu'une absence de développement du système vasculaire lymphatique [10].

En conclusion

La découverte du rôle majeur de SOX18 en tant que « switch » (commutateur) de la différenciation lymphatique est une étape clef dans la compréhension des mécanismes qui modulent la lymphangiogenèse et permet d'expliquer l'étiologie du syndrome HLT. Cependant

il reste encore des zones d'ombre. Par exemple, quels sont les mécanismes qui différencient les diverses fonctions de SOX18 en tant que modulateur artérioveineux ou bien comme inducteur de la différenciation lymphatique ?

Le profil d'expression de SOX18 fait de ce gène une cible idéale pour moduler la néo-lymphangiogenèse qui survient durant divers processus pathophysiologiques. En effet SOX18 est complètement absent des CEL chez l'adulte et n'est réexprimé que lors de certains contextes pathologiques comme la cicatrisation ou le développement cancéreux. ♦

Sox18 orchestrates the commitment of the lymphatic vessels

REMERCIEMENTS

L'auteur remercie Thierry Jaffredo pour ses critiques constructives et ses suggestions lors de la rédaction de ce manuscrit.

RÉFÉRENCES

- Adams RH, Alitalo K. Molecular regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Nat Rev* 2007 ; 8 : 464-78.
- Irrthum A, Devriendt K, Chitayat D, et al. Mutations in the transcription factor gene SOX18 underlie recessive and dominant forms of hypotrichosis-lymphedema-telangiectasia. *Am J Hum Genet* 2003 ; 72 : 1470-8.
- Pennisi D, Gardner J, Chambers D, et al. Mutations in *Sox18* underlie cardiovascular and hair follicle defects in ragged mice. *Nat Genet* 2000 ; 24 : 434-7.
- Cermenati S, Moleri S, Cimbri S, et al. *Sox18* and *Sox7* play redundant roles in vascular development. *Blood* 2008 ; 111 : 2657-66.
- Sabin FR. On the origin of the lymphatic system from the veins, and the development of the lymph hearts and thoracic duct in the pig. *Am J Anat* 1902 ; 1 : 367-89.
- Srinivasan RS, Dillard ME, Lagutin OV, et al. Lineage tracing demonstrates the venous origin of the mammalian lymphatic vasculature. *Genes Dev* 2007 ; 21 : 2422-32.
- Wigle JT, Oliver G. *Prox1* function is required for the development of the murine lymphatic system. *Cell* 1999 ; 98 : 769-78.
- Johnson NC, Dillard ME, Baluk P, et al. Lymphatic endothelial cell identity is reversible and its maintenance requires *Prox1* activity. *Genes Dev* 2008 ; 22 : 3282-91.
- Lee S, Kang J, Yoo J, et al. *Prox1* physically and functionally interacts with COUP-TFII to specify lymphatic endothelial cell fate. *Blood* 2008, 24 septembre 2008 online.
- Francois M, Caprini A, Hosking B, et al. *Sox18* induces development of the lymphatic vasculature in mice. *Nature* 2008 ; 456 : 643-7.
- Jaffredo T. Origine veineuse des vaisseaux lymphatiques chez les mammifères : l'hypothèse de Sabin vérifiée. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 567-9.