



par cryo-tomographie [10, 11] (qui permet de s'abstraire des problèmes de superposition, mais au prix d'une limitation de la résolution à quelques 4-7 nm [Figure 2D]), on peut espérer accéder prochainement à l'imagerie de la cellule entière à une résolution nanométrique, voire subnanométrique. L'une comme l'autre de ces méthodes ont l'avantage de ne requérir la présence d'aucun contrastant ce qui constitue un atout incontestable, puisque c'est la structure native de l'ensemble des molécules qui est observée. Néanmoins, elles sont toutes deux confrontées aux difficultés d'identification des composants de la cellule, pourtant indispensable pour dépasser la simple description structurale. Différentes voies de marquages possibles commencent à être envisagées (marqueurs clonables tels que la métal-

lothionéine, pouvant lier des éléments lourds denses aux électrons [12]) qui s'avèreront essentielles dans les années qui viennent pour que la méthode s'impose comme majeure dans le paysage de la biologie intégrative. ♦

Imaging the cell and its membranes at the nanometer scale

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Trugnan G, Fontanges P, Delautier D, Ait-Slimane T. FRAP, FLIP, FRET, BRET, FLIM, PRIM De nouvelles techniques pour voir la vie en couleur ! *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 1027-34.
2. Débarre D, Pena AM, Supatto W, et al. Microscopies multi-harmoniques pour l'imagerie structurale de tissus intacts. *Med Sci (Paris)* 2006 ; 22 : 845-50.
3. Girard PP, Forget BC. Microscopie de fluorescence à feuille de lumière. *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 753-62.
4. Chiu W, Baker ML, Almo SC. Structural biology of cellular machines. *Trends Cell Biol* 2006 ; 16 : 144-50.
5. Zhou ZH. Atomic resolution cryo electron microscopy of macromolecular complexes. *Adv Protein Chem Struct Biol* 2011 ; 82 : 1-35.
6. Al-Amoudi A, Chang JJ, Leforestier A, et al. Cryo-electron microscopy of vitreous sections. *EMBO J* 2004 ; 23 : 3583-8.
7. Leforestier A, Lemercier N, Livolant F. Contribution of cryoelectron microscopy of vitreous sections to the understanding of biological membrane structure. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012 ; 109 : 8959-64.
8. Al-Amoudi A, Díez DC, Betts MJ, Frangakis AS. The molecular architecture of cadherins in native epidermal desmosomes. *Nature* 2007 ; 450 : 832-7.
9. Sartori Blanc N, Senn A, Leforestier A, et al. DNA in human and stallion spermatozoa forms local hexagonal packing with twist and many defects. *J Struct Biol* 2001 ; 134 : 76-81.
10. Yahav T, Maimon T, Grosman E, et al. Cryo-electron tomography: gaining insight into cellular processes by structural approaches. *Curr Opin Struct Biol* 2011 ; 21 : 670-7.
11. Hoenger A, Bouchet-Marquis C. Cellular tomography. *Adv Protein Chem Struct Biol* 2011 ; 62 : 2393-402.
12. Mercogliano CP, DeRosier DJ. Gold nanocluster formation using metallothionein: mass spectrometry and electron microscopy. *J Mol Biol* 2006 ; 355 : 211-23.
13. Daum B, Nicastro D, Austin J, et al. Arrangement of photosystem II and ATP synthase in chloroplast membranes of spinach and pea. *Plant Cell* 2010 ; 22 : 1299-1312.

NOUVELLE



Le switch angiogénique ou comment réveiller les cellules tumorales dormantes

Julie Bensimon

Laboratoire de cancérologie expérimentale (DSV/IRCM/SREIT/LCE),
18, route du Panorama, BP n° 6,
92265 Fontenay-aux-Roses Cedex, France.
julie.bensimon86@gmail.com

Rôle du switch angiogénique dans la sortie de dormance tumorale

Le terme de « dormance tumorale » désigne la persistance de cellules tumorales en petit nombre dans l'organisme, sans croissance tumorale. Le phénomène de dormance tumorale est décrit depuis près d'un demi-siècle, mais les mécanismes le sous-tendant sont encore mal connus. Par exemple, en 1987, des autopsies médico-légales réalisées sur 110 femmes jeunes et d'âge moyen, décédées de causes non naturelles, ont montré, chez 20 % d'entre elles, la présence de tumeurs microscopiques, alors qu'un cancer du sein n'avait été diagnostiqué que chez 1% d'entre elles [1].

Ces foyers tumoraux dormants peuvent non seulement précéder le développement d'un cancer *in situ*, mais, lorsque la tumeur primaire est détectable et diagnostiquée, ils peuvent également être à l'origine de micrométastases. Dans ce cas, la sortie de dormance détermine la prolifération métastatique du cancer dans l'organisme [2].

L'obtention de modèles expérimentaux de la dormance tumorale nécessite d'établir un équilibre entre l'hôte et la tumeur, comme le montre un modèle murin de tumeurs chimio-induites décrit par B. Quesnel dans *médecine/sciences* [3]. Dans ce modèle, certaines tumeurs induites restent dormantes jusqu'à ce

que l'immunité adaptative de l'animal soit altérée, ce qui déclenche le développement des tumeurs [3]. Ce type de modèle met en évidence le rôle important joué par le système immunitaire de l'hôte dans le maintien des tumeurs à l'état de dormance : les tumeurs qui se développent sont celles qui parviennent à échapper au contrôle immunitaire. Un second processus clé dans la sortie de dormance est la capacité de la tumeur à contrôler l'angiogénèse. Ainsi, J. Folkman et D. Hanahan ont attribué en 1989 un rôle critique au « switch angiogénique » dans la sortie de dormance tumorale, c'est-à-dire à la capacité de la tumeur à établir un réseau vasculaire

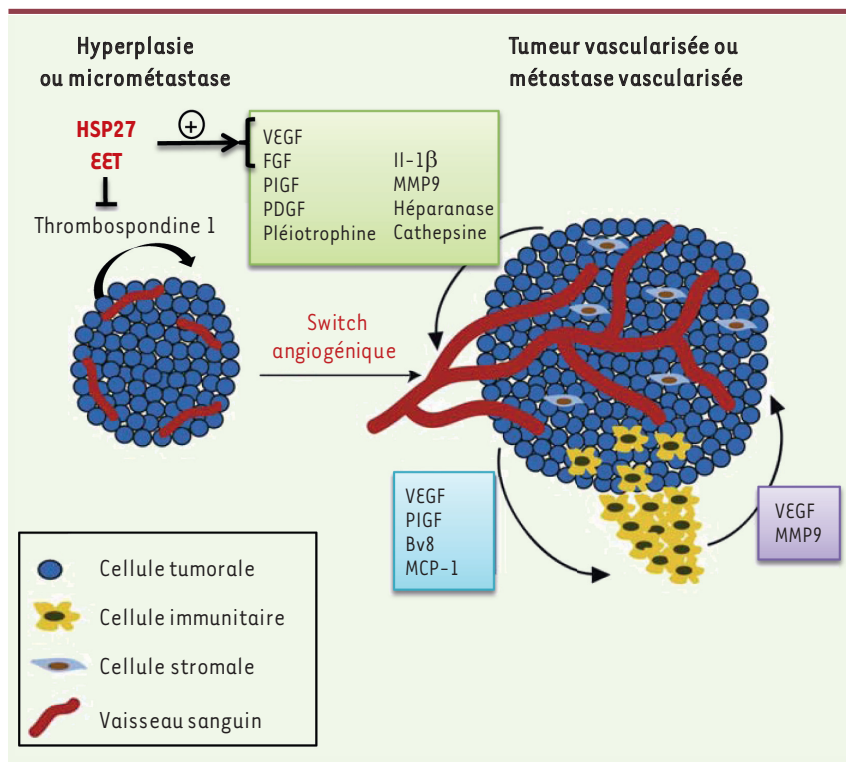


Figure 1. Représentation schématique des médiateurs moléculaires et cellulaires du switch angiogénique. L'équilibre entre les facteurs pro- et anti-angiogéniques sécrétés contrôle le switch angiogénique et la sortie de dormance tumorale. De nouveaux travaux ont démontré une implication de HSP27 (*heat shock protein*) et des époxyeicosanoïdes (EET) dans ce phénomène (adapté de [6]). MMP9 : *matrix metalloproteinase* 9 ; MCP-1 : *monocyte chemoattractant protein-1* ; PIGF : *placenta growth factor* ; PDGF : *platelet-derived growth factor* ; VEGF : *vascular endothelial growth factor* ; FGF : *fibroblast growth factor*.

connecté avec son environnement [4, 5]. Bien que les cellules tumorales prolifèrent à la même vitesse, les tumeurs qui grossissent sont celles qui parviennent à former un réseau vasculaire, les autres restent microscopiques parce que le taux d'apoptose y est élevé. La progression tumorale dépend de la balance entre les facteurs angiogéniques sécrétés par la tumeur (*fibroblast growth factor* [FGF], *vascular endothelial growth factor* [VEGF], interleukine 8, *platelet derived growth factor* [PDGF], etc.), et les défenses antiangiogéniques de l'hôte (thrombine 1, endostatine, angiostatine, etc.) [6, 7]. Des résultats publiés en 2006 par G.N. Naumov *et al.* suggèrent un rôle clé de la thrombine 1 et du FGF basique dans l'établissement du switch angiogénique pour différents types de tumeurs [8], mais les acteurs

moléculaires contrôlant la sécrétion de ces facteurs angiogéniques sont peu connus. Deux articles publiés récemment apportent de nouvelles perspectives pour la compréhension de ce phénomène.

Heat shock protein 27 et switch angiogénique

Si les facteurs angiogéniques sécrétés sont des acteurs clés du switch angiogénique, un article publié par O. Straume *et al.* montre que la protéine HSP27 (*heat shock protein 27*) y participerait activement [9]. Les HSP sont des protéines induites par une large gamme de dommages cellulaires, parmi lesquels ceux qu'induisent les thérapies anticancéreuses. Les HSP agissent notamment par leur fonction antiapoptotique et sont exprimées de manière anormale-

ment élevée dans certaines tumeurs, et de ce fait sont des cibles de choix pour le développement de thérapies anticancéreuses [10-12].

Pour explorer ce rôle des HSP, O. Straume *et al.* ont utilisé un modèle précédemment cité [8] de cellules angiogéniques (A) et non angiogéniques (NA) dérivées de la même lignée cellulaire tumorale mammaire humaine MDA-MB-436. Les cellules A forment des tumeurs proliférantes lorsqu'elles sont injectées à des souris immunodéficientes, tandis que les cellules NA forment des microtumeurs non palpables et non vascularisées. Les auteurs montrent une forte surexpression des transcrits et de la protéine HSP27 dans les cellules A par rapport aux cellules NA. De plus, l'inhibition de l'expression de HSP27 dans les cellules A par shARN (*short hair-pin* ARN) réduit l'expression des facteurs angiogéniques VEGF-A, VEGF-C et bFGF et inhibe drastiquement la prolifération de ces cellules lorsqu'elles sont injectées à des souris SCID (*severe combined immunodeficiency*). Inversement, la surexpression de HSP27 dans les cellules NA induit une signature moléculaire composée de facteurs intervenant dans l'angiogenèse. Cette signature présente un intérêt pronostique et permet notamment de prédire statistiquement une réduction de la survie globale chez les patientes atteintes de cancer du sein.

HSP27 intervient-elle *via* une prolifération tumorale accrue ou une augmentation de l'angiogenèse ? Lorsque HSP27 est inhibée, les cellules A forment des tumeurs dont la densité en microvaisseaux est réduite : ces vaisseaux ne semblent pas fonctionnels et les cellules endothéliales qui leur sont associées prolifèrent peu. Ces tumeurs prolifèrent normalement, mais le taux d'apoptose y est beaucoup plus élevé (50 %) que dans les tumeurs (formées par les cellules A contrôles). Ces observations tendent à montrer que HSP27 contrôlerait la vascularisation tumorale dans ce modèle cellulaire *via* la sécrétion de facteurs angiogéniques. O. Straume *et al.* [9] attribuent à HSP27 un rôle dans la sor-



tie de dormance tumorale *via* le *switch* angiogénique. Cette étape, cruciale pour la formation de tumeurs macroscopiques, serait coordonnée par HSP27 et réalisée grâce à des facteurs angiogéniques tels que VEGF et bFGF, dont le rôle dans le *switch* angiogénique est connu depuis longtemps. Dans ce cas, le contrôle de l'expression de HSP27 se révélerait être une stratégie thérapeutique efficace : si inhiber HSP27 n'empêche pas la formation de la tumeur, cela permet de maintenir celle-ci à l'état de dormance. En effet, il semble que l'inhibition de HSP27 fasse ses preuves, puisque la molécule OGX-427, un oligonucléotide ciblant HSP27 et bien toléré par l'organisme, est désormais testé dans des essais cliniques de phase II dans le traitement de différents types de tumeurs [13, 14].

Action des époxyeicosanoïdes dans le processus métastatique

Un autre type de molécule permettrait le contrôle du *switch* angiogénique. Les acides époxyeicosatriénoïques (EET) sont des messagers produits à partir de l'acide arachidonique, majoritairement dans le tissu endothélial, grâce aux cytochromes P450 époxygénases, et dégradés par une époxide hydrolase. Ces molécules EET ont un effet angiogénique connu, et sont actuellement en cours d'essai clinique dans le traitement de l'hypertension artérielle.

En utilisant un modèle de dormance tumorale par injection de faibles doses de cellules humaines de liposarcome à des souris, D. Panigrahy *et al.* [15] ont montré qu'un taux élevé d'EET (*via* l'administration d'EET exogènes ou la manipulation des taux endogènes d'EET dans les cellules endothéliales de souris transgéniques) induit la sortie de dormance tumorale et la croissance de tumeurs primaires macroscopiques, et augmente le pouvoir métastatique de ces tumeurs. L'action prométastatique des EET est-elle due à une dissémination accrue des cellules circulantes ou à une sortie de dormance des micrométastases déjà formées ? Afin de distinguer

entre une action angiogénique locale des EET aux sites métastatiques ou une action systémique, les auteurs ont utilisé un modèle ingénieux de parabiose, consistant en un système de circulation sanguine partagé entre une souris donneuse portant une tumeur, et une souris receveuse sans tumeurs. Dans ce modèle, lorsque les souris donneuses et receveuses expriment des taux élevés d'EET, la souris receveuse développe des métastases à partir de la tumeur primaire de la souris donneuse. En revanche, lorsque seule la souris donneuse exprime des taux élevés d'EET, la souris receveuse ne développe pas de métastases palpables, même si des cellules métastatiques sont détectables dans la circulation. La sécrétion locale au site métastatique de taux élevés d'EET est donc indispensable au développement de macrométastases, provenant *a priori* de foyers métastatiques dormants qui subiraient donc un *switch* angiogénique. L'augmentation des EET accroît l'angiogénèse, *via* notamment l'induction de la sécrétion de VEGF et la surexpression du récepteur VEGFR2, ainsi que l'inhibition de la molécule anti-angiogénique thrombospondine 1. Autre point important, les auteurs montrent que ces résultats peuvent être dupliqués par la modulation pharmacologiques des taux d'EET, qu'il s'agisse d'activation ou d'inhibition. Il est donc particulièrement important d'être prudent dans la modulation thérapeutique de ces médiateurs lipidiques, même si des antagonistes des EET pourraient s'avérer des outils thérapeutiques intéressants pour inhiber la croissance de la tumeur primaire et le processus métastatique. Les molécules décrites ici, HSP27 et acides époxyeicosatriénoïques, présentent une activité protumorale liée à l'induction de facteurs angiogéniques et à l'inhibition de facteurs antiangiogéniques. Ces deux types de molécules joueraient un rôle dans l'établissement du *switch* angiogénique et dans la sortie de dormance tumorale, la première en agissant sur la croissance de la tumeur

primaire et les secondes en favorisant en particulier le développement de foyers secondaires métastatiques. L'enjeu essentiel de ce type de recherches est ainsi de parvenir un jour à maintenir à l'état dormant des tumeurs parfois difficiles à éliminer complètement. ♦

Novel partners in the angiogenic switch or how to wake up dormant tumor cells

LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Nielsen M, Thomsen JL, Primdahl S, *et al.* Breast cancer and atypia among young and middle-aged women: a study of 110 medicolegal autopsies. *Br J Cancer* 1987 ; 56 : 814-9.
2. Akslen LA, Naumov GN. Tumor dormancy: from basic mechanisms to clinical practice. *Apms* 2008 ; 116 : 545-7.
3. Quesnel B. «Je te tiens, tu me tiens»... Dormance tumorale : un équilibre instable? *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 575-6.
4. Folkman J, Hanahan D. Switch to the angiogenic phenotype during tumorigenesis. *Princess Takamatsu Symp* 1991 ; 22 : 339-47.
5. Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D. Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. *Nature* 1989 ; 339 : 58-61.
6. Baeriswyl V, Christofori G. The angiogenic switch in carcinogenesis. *Semin Cancer Biol* 2009 ; 19 : 329-37.
7. Folkman J, Kalluri R. Cancer without disease. *Nature* 2004 ; 427 : 787.
8. Naumov GN, Bender E, Zurakowski D, *et al.* A model of human tumor dormancy: an angiogenic switch from the nonangiogenic phenotype. *J Natl Cancer Inst* 2006 ; 98 : 316-25.
9. Straume O, Shimamura T, Lampa MJ, *et al.* Suppression of heat shock protein 27 induces long-term dormancy in human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012 ; 109 : 8699-704.
10. Jago G, Hazoumé A, Seigneuric R, Garrido C. Targeting heat shock proteins in cancer. *Cancer Lett* 2010, 13 novembre (*online*).
11. Didelot C, Garrido C. HSP90 mitochondriale : la cible à inactiver dans la thérapie anti-cancéreuse ? *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 363-4.
12. Garrido C, Collura A, Berthet K, *et al.* Mutation d'HSP110 dans les cancers colorectaux : le paradoxe du chaperon qui ne protège plus. *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 9-10.
13. Baylot V, Andrieu C, Katsogiannou M, *et al.* OGX-427 inhibits tumor progression and enhances gemcitabine chemotherapy in pancreatic cancer. *Cell Death Dis* 2011 ; 2 : e221.
14. Rexer H. First line therapy for local advanced or metastasized urothelial carcinoma: randomized double-blind phase II study to compare gemcitabine and cisplatin in combination with OGX-427 or placebo for advanced transitional cell carcinoma of the bladder (OGX-427 - AB 39/11 of the working group urological oncology. *Urologe A* 2011 ; 50 : 1617-8.
15. Panigrahy D, Edin ML, Lee CR, *et al.* Epoxyeicosanoids stimulate multiorgan metastasis and tumor dormancy escape in mice. *J Clin Invest* 2012 ; 122 : 178-91.