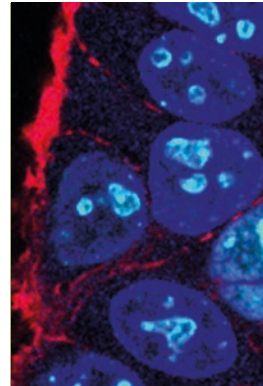


Les neuropilines

Des cibles pertinentes pour améliorer le traitement des cancers

Aurore Dumond¹, Luc Demange², Gilles Pages^{1,3}

> Une angiogenèse exacerbée est une des caractéristiques (« hallmarks ») du cancer, définies par Hanahan et Weinberg¹. Cependant, le ciblage de la voie de signalisation du VEGF (*vascular endothelial growth factor*) ou de ses récepteurs a montré ses limites thérapeutiques. Après un bénéfice thérapeutique indéniable pour les patients, les tumeurs récidivent après quelques mois, et deviennent généralement métastatiques et incurables. Les neuropilines 1 et 2 (NRP1, 2) dont l'activité a été décrite initialement dans le système nerveux, stimulent de nombreuses fonctions impliquées dans l'agressivité tumorale, notamment la prolifération cellulaire, l'angiogenèse et la lymphangiogenèse, ainsi que la tolérance immunitaire. Ainsi, une surexpression de NRP1 ou 2 dans de nombreuses tumeurs, est corrélée à une survie courte des patients. Cette revue a pour objectif de décrire les mécanismes d'action impliqués dans la stimulation de NRP1 et NRP2 et de faire le point sur les stratégies thérapeutiques en études précliniques ou en essais de phase précoces chez des patients atteints de différents cancers. <



¹Centre scientifique de Monaco, Département de biologie médicale, 8 quai Antoine I^{er}, MC-98000 Monaco, Principauté de Monaco.

²Université de Paris, CiTCoM, UMR 8038 CNRS, Faculté de Pharmacie, 4 avenue de l'Observatoire, F-75006 Paris, France.

³Université Côte d'Azur, Institut de recherche sur le cancer et le vieillissement de Nice, CNRS UMR 7284 ; Inserm U1081, Centre Antoine Lacassagne, 33 avenue de Valombrose, 06189 Nice, France. gpages@unice.fr

transmembranaire et d'un domaine cytoplasmique de 43-44 acides aminés. La partie extracellulaire comprend cinq domaines : a1, a2, b1, b2 et c. La partie cytoplasmique ne contient pas de domaine de signalisation mais un motif PDZ³ et un triplet d'acides aminés SEA (sérine, acide glutamique, alanine). Le domaine PDZ permet la formation et la stimulation des complexes de signalisation. Les domaines membranaire et cytoplasmique sont impliqués dans la dimérisation de récepteurs. Des formes solubles de NRP1 et NRP2 (sNRP1, sNRP2) dépourvues des domaines transmembranaires et cytoplasmiques et une isoforme de NRP2 sans motif SEA sont issues d'épissages alternatifs (*Figure 1*).

Les neuropilines

Organisation génomique et structure protéique

Les neuropilines (NRP) sont des glycoprotéines membranaires de type-1² d'une taille de 130-140 kDa. Deux protéines de la même famille, NRP1 et NRP2, codées par des gènes différents positionnés sur deux chromosomes (10p12 pour NRP1 et 2q34 pour NRP2), partagent 44 % d'homologie de séquence. Elles sont composées d'un domaine extracellulaire N-terminal, d'un domaine

L'invalidation des gènes *NRP*

L'invalidation du gène *NRP1* entraîne des anomalies du développement cardiaque et du développement des réseaux vasculaires et nerveux. Ces déficiences conduisent à une létalité embryonnaire entre 10 et 12,5 jours [1]. La surexpression de *NRP1* est également létale pour les embryons d'environ 12,5 jours, provoquant des malformations cardiaques [2].

L'absence du gène *NRP2* n'est pas létale mais une diminution des vaisseaux lymphatiques et des défauts du système nerveux ont été observés chez les animaux invalidés (KO) [3].

Les souris doublement invalidées pour *NRP1* et *NRP2* présentent des anomalies vasculaires plus graves. Les embryons, qui meurent à

Vignette (Photo © Inserm-Delapierre, Patrick).

¹ L'article de D. Hanahan D et R.A. Weinberg, publié en 2000 dans *Cell* [40] est un article majeur décrivant les caractéristiques distinctives des cancers. Il sera complété par les mêmes auteurs en 2011 [41].

² Ancrée dans la membrane par une hélice α hydrophobe.

³ PDZ est un acronyme reprenant le nom des trois protéines dans lesquelles le motif a été initialement décrit : *Post-synaptic density protein 95* (PSD-95), *drosophila disc large tumor suppressor* (Dlg1) et *zona occludens 1* (ZO-1).

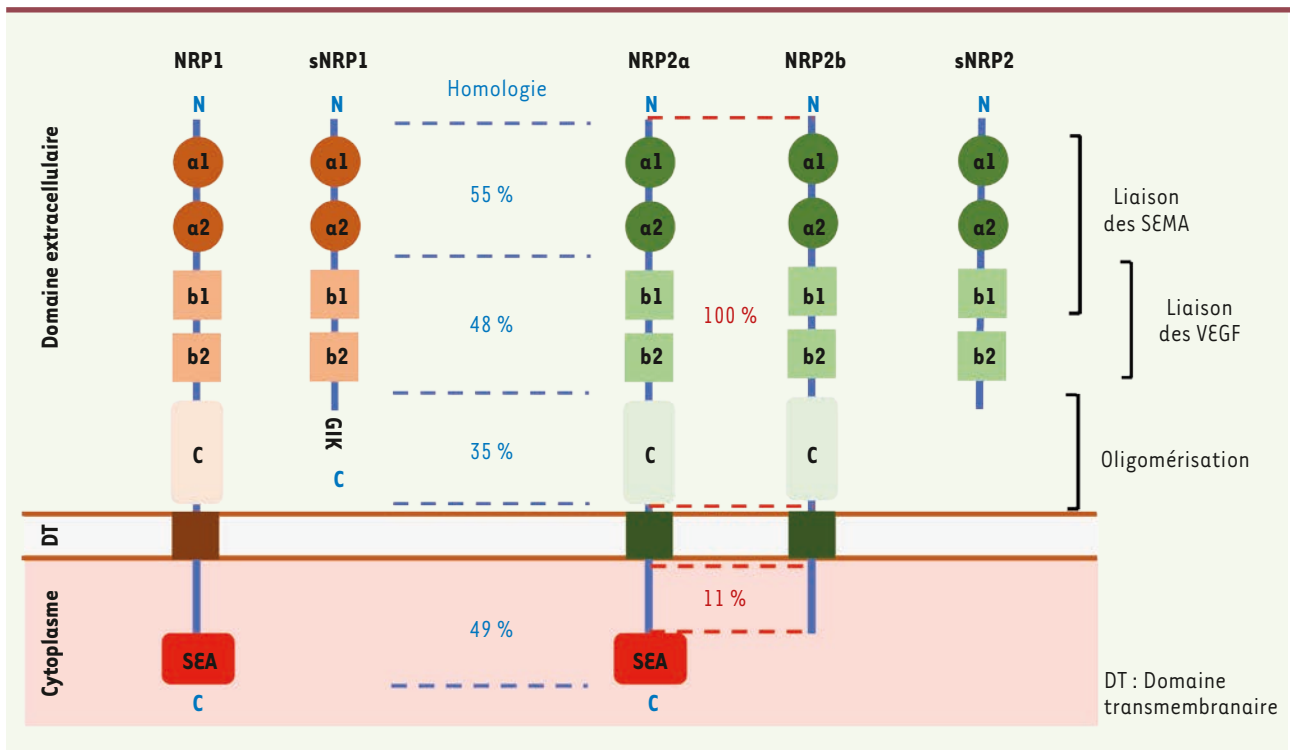


Figure 1. Structures des domaines de NRP1 et NRP2 et variants d'épissage. Le domaine extracellulaire comprend deux domaines CUB (a1/a2) (complément 1r/s, Uegf - protéine embryonnaire de l'oursin - et BMP1), deux domaines d'homologie aux facteurs de coagulation V/VIII (b1/b2), et un domaine MAM (homologue à la protéase méprine, à l'antigène A5, et à la tyrosine phosphatase récepteur μ et κ) (c). Les domaines de liaison de SEMA3A et VEGF sont indiqués. Les formes solubles (sNRP1 and sNRP2) ont un domaine extracellulaire tronqué et sont dépourvues des domaines transmembranaires et cytosoliques. Deux formes de NRP2 issues d'un épissage alternatif sont représentées. La partie intracellulaire de ces formes ne présente que 11 % d'homologie. Le pourcentage d'homologie des différents domaines (extracellulaire membranaire et cytosolique) est indiqué. Les domaines C-terminaux de NRP1 et NRP2a contiennent une séquence de liaison (SEA) à la protéine à domaine PDZ GIPC (ou synectine) [5, 6] (adapté de [8]).

8,5 jours du développement embryonnaire [4], présentent de grandes zones avasculaires et des interstices entre les vaisseaux sanguins.

Les ligands et interacteurs des NRP

Les NRP sont apparemment dépourvues de capacités de signalisation intrinsèque en raison de l'absence de domaine catalytique intracellulaire. Elles exercent donc leur activité principalement en tant que corécepteurs. Néanmoins, le court domaine intracellulaire des NRP se lie à la synectine, une protéine à domaine PDZ, également appelée GIPC1 (*GAIP-interacting protein C terminus, member 1*) [5, 6]. L'interaction entre NRP et GIPC1 créerait une plateforme moléculaire permettant le recrutement de petites protéines G, Ras, Rac1 ou RhoA, à la membrane, à l'origine de la stimulation des voies de signalisation auxquelles participent ERK (*extracellular signal-regulated kinases*) et AKT (protéine kinase B) [7].

Les NRP ayant fixé un ligand forment un hétérodimère avec le récepteur qui lui est spécifique. Cinq familles de récepteurs de spécificités différentes interagissent avec les NRP (voir plus loin). Dans le cas de dimères de ligands, les NRP peuvent également interagir entre elles formant des homo- ou des hétérodimères de NRP. Elles se lient alors

à des dimères de récepteurs partenaires formant un complexe qui induit une signalisation intracellulaire spécifique.

Sémaphorines et plexines

Les NRP ont été décrites initialement comme des récepteurs neuronaux liant les sémaphorines (SEMA), une famille de protéines (sept classes ont été décrites) dont le rôle est de guider la croissance des axones. Les NRP, via leurs domaines a1, a2, b1 et b2, interagissent avec les plexines, les récepteurs spécifiques des SEMA [8]. C'est cette liaison qui conduit à l'activation des voies de signalisation impliquées dans le développement, le guidage axonal et dans l'immunité. NRP1 se lie préférentiellement à SEMA3A et NRP2 à SEMA3C ou SEMA 3F [8].

VEGF et VEGFR

Le gène *VEGF* (*vascular endothelial growth factor*) comprend 8 exons. Les exons 1 à 5 correspondent à des domaines de la protéine impliqués dans la liaison à

ses récepteurs (les VEGFR1 et VEGFR2) tandis que les domaines codés par les exons 7 et 8 se lient à NRP1 et NRP2. Les différents épissages des exons 6, 7 et 8 du gène génèrent deux familles distinctes d'isoformes de la protéine. Les isoformes correspondant à l'exon 8a sont pro-angiogéniques tandis que les isoformes provenant de l'exon 8b sont anti-angiogéniques [9]. Quatre formes prédominantes de VEGF existent : le VEGF121, le VEGF189, le VEGF206 et, surtout, le VEGF165 qui est le plus abondant et le plus actif dans de nombreux cancers. Il se lie préférentiellement à NRP1 (avec un Kd de 0,2nM) plutôt qu'à NRP2 (pour lequel le Kd est de 5nM).

La liaison du VEGF165 à NRP1 conduit à la formation d'un complexe associant les récepteurs VEGFR1 et VEGFR2. Cette association entre les VEGFR et NRP1 amplifie le signal induit par le VEGF165 et stimule ainsi l'angiogenèse. NRP2 lie le VEGF165 et le VEGFC, le principal facteur de lymphangiogenèse. Il s'associe aux récepteurs VEGFR2 et VEGFR3 pour stimuler l'angiogenèse et la lymphangiogenèse. La liaison entre ces VEGFR et NRP2 repose sur les domaines b1 et b2 de la protéine NRP. Les VEGFR peuvent également être activés par les VEGF, indépendamment des NRP. La liaison du VEGF à NRP1 induit la migration cellulaire et stimule l'angiogenèse sans intervention des VEGFR. À noter que les NRP solubles (sNRP) sont des compétiteurs pour la liaison du VEGF au NRP1 membranaire.

Une surexpression des VEGF a été observée dans la plupart des cancers humains. L'étude de la stimulation des NRP par le VEGF semble donc pertinente dans un contexte thérapeutique.

HGF et cMET

La signalisation induite par la fixation du facteur de croissance hépatocytaire (HGF) à son récepteur (cMET) régule la survie, la prolifération et la migration des cellules endothéliales. La liaison de HGF à cMET joue également un rôle important dans la progression tumorale. En s'associant à cMET, NRP1 amplifie l'invasion tumorale induite par HGF. La liaison d'HGF à cMET inhibe l'apoptose et favorise la tolérance immunitaire, en interagissant avec le ligand de mort programmé 1 (PD-L1) [10]. NRP1 stimulerait ainsi la croissance tumorale en inhibant l'immunité antitumorale.

TGF- β 1 et TGF- β R

La fixation du TGF β 1 (*transforming growth factor beta 1*) à son récepteur, le TGF β R, stimule la voie de signalisation impliquant SMAD2 et SMAD3, régule la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) et promeut la progression et l'invasion tumorale. NRP1 fixe le TGF β par son domaine b1 et interagit avec les récepteurs TGF β R1, 2 et 3. La signalisation qui en résulte stimule l'angiogenèse indépendamment du VEGFR2. Le complexe TGF β /NRP1/TGF β R promeut également l'activité des lymphocytes T régulateurs et donc la tolérance immunitaire.

PDGF et PDGFR

La liaison du PDGF (*platelet-derived growth factor*) à son récepteur (le PDGFR) induit une signalisation qui stimule la prolifération et la différenciation cellulaires. Il existe quatre formes de PDGF : PDGFA, B, C et D, qui s'homo- ou s'hétéro-dimérisent et se fixent sur les récepteurs PDGFR α

ou β , des récepteurs tyrosine kinase qui s'autophosphorylent après liaison de leur ligand. Selon l'isoforme de PDGF, le récepteur s'homo- ou s'hétéro-dimérise, conduisant à trois combinaisons entre les deux formes du récepteur : $\alpha\alpha$, $\alpha\beta$ ou $\beta\beta$. La liaison du PDGF au PDGFR active les MAPK (*mitogen-activated protein kinases*) et la voie impliquant la phosphoinositide 3-kinase (PI3K). NRP1 s'associe au PDGFR lié au PDGF, amplifiant ainsi les voies de signalisation qui sont induites.

FGF et FGFR2

La fixation du FGF (*fibroblast growth factor*) au récepteur FGFR2 induit la migration et la prolifération cellulaires. Cet axe de signalisation est majeur pour la prolifération des cellules endothéliales et donc pour l'angiogenèse. En s'associant au FGFR2, les NRP jouent un rôle clé dans l'amplification des signaux qui sont induits par le FGF.

La voie de signalisation Hedgehog

La voie de signalisation Hedgehog est impliquée dans l'embryogenèse et, chez l'adulte, dans la réparation tissulaire. Son activation stimule la prolifération et la différenciation cellulaires. Sa sur- ou sous-expression est à l'origine du développement de cancers. Dans des cellules de cancers du rein à cellules claires (ccRCC), la réduction de l'expression de *NRP1* (par shARN⁴) permet de diminuer celle de *sonic hedgehog* (SHH)⁵ et de son activateur transcriptionnel *Gli1* (*glioma-associated oncogene homolog 1*). L'inhibition de la voie de signalisation impliquant SHH force la différenciation des cellules tumorales [11].

Rôles des NRP dans le système immunitaire (Tableau 1)

Les cellules dendritiques

Ces cellules sont recrutées au site où un antigène est présent. En réponse, elles subissent une maturation qui leur permet de migrer vers les organes lymphoïdes afin d'activer les lymphocytes T naïfs et induire la réponse immunitaire primaire spécifique de l'antigène. NRP1, qui est exprimé par les cellules dendritiques matures et par les lymphocytes T naïfs, permet l'adhérence des deux cellules par une interaction homophile (NRP1/NRP1). NRP1 participe donc à l'activation de la réponse immunitaire primaire. NRP1, exprimé à la surface des lymphocytes T, peut également interagir avec SEMA3A

⁴ Petits ARN en épingle à cheveux : ils permettent de réduire l'expression d'un gène par interférence.

⁵ L'une des trois protéines impliquées dans la voie de signalisation Hedgehog. Les deux autres sont DHH (*desert Hedgehog homolog*) et IHH (*indian Hedgehog homolog*).

	Cellules dendritiques	Macrophages	Lymphocytes T cytotoxiques	Lymphocytes T auxiliaires	Cellules NKT	Lymphocytes T régulateurs
NRP1	+	+	+			+
	(Interaction avec les lymphocytes T naïfs)	(Migration vers les zones hypoxiques)	(Reconnaissance de l'antigène)			(Interaction avec les cellules dendritiques)
NRP2	-	-	?	+	?	-
	(Interaction avec les lymphocytes T activés)	(Interaction avec les lymphocytes T régulateurs)		(Différenciation des lymphocytes B)		
NRP2	+	+	?	?	?	-
	(Migration vers les ganglions lymphatiques)	(Induction de la phagocytose)				(Inhibition de la migration des lymphocytes T)

Tableau I. Le rôle des NRP dans le système immunitaire. La présence de NRP1 ou NRP2 sur chaque cellule du système immunitaire est mentionnée. Un rôle immunostimulant est indiqué par +, un rôle immunosuppresseur par -. L'absence de détermination de la présence de NRP est mentionnée par ? (le ? correspond en fait, au fait que le rôle d'activateur du système immunitaire ou immunosuppresseur de NRP1 ou 2 sur ces cellules n'a pas encore été décrit et pas l'absence de détermination de la présence de NRP).

qui est présent sur les cellules dendritiques et les lymphocytes T, ce qui inhibe l'activation et la prolifération de ces derniers et donc induit une tolérance immunitaire [12].

Les cellules dendritiques peuvent avoir pour origine les monocytes circulants. La différenciation de ces monocytes en cellules dendritiques s'accompagne d'une augmentation d'expression de NRP2 [13]. La sialylation de NRP2 protégerait en fait les cellules dendritiques lors de leur migration vers les ganglions lymphatiques. Dans les ganglions, l'acide polysialique porté par NRP2 sera éliminé, permettant aux cellules dendritiques d'activer les lymphocytes T [14].

Les macrophages

Les macrophages jouent un rôle prépondérant dans la surveillance immunitaire, l'élimination des débris cellulaires et la présentation antigénique aux lymphocytes. Deux types de macrophages ont été distingués : les macrophages de type M1 qui sont pro-inflammatoires et les macrophages de type M2, pro-angiogéniques, immunosuppresseurs et donc pro-tumoraux, notamment dans les tissus qui sont hypoxiques. L'hypoxie induit l'expression de SEMA3A par les cellules tumorales. Elles peuvent alors interagir avec NRP1 qui est exprimé par les macrophages, en association avec les récepteurs de SEMA3A, les plexines A1 et A4, également exprimés par les macrophages. Les macrophages associés aux tumeurs (TAM) sont retenus dans les zones hypoxiques où ils exercent leur rôle pro-tumoral. La diminution de l'expression de NRP1 par les macrophages se traduit par une limitation de la localisation de ces TAM dans les zones périphériques de la tumeur qui sont normoxiques, ce qui supprime le caractère pro-tumoral de ces cellules [15]. Dans la microglie (constituée de cellules macrophagiques au niveau du cerveau), NRP1 joue un rôle immunosuppresseur en favorisant la différenciation des cellules vers un phénotype de type M2. Une interaction homophile (NRP1/NRP1) entre cellules microgliales et lymphocytes T régulateurs

provoque une libération de TGF- β et une immunosuppression. L'expression de NRP1 par les macrophages associés aux gliomes (GAM) provoque ainsi une réponse pro-tumorale. Son inhibition réduit la croissance tumorale et induit une polarisation des cellules vers le type M1, antitumoral [16].

L'expression de NRP2 augmente lors de la différenciation des monocytes en macrophages [13] à proximité des zones d'inflammation, ce qui se traduit par une augmentation de la capacité de phagocytose des cellules. À noter que la sialylation de NRP2 réduit la capacité de phagocytose des macrophages [17].

Les lymphocytes T

Les lymphocytes T cytotoxiques (T CD8⁺) détruisent les cellules infectées présentant un peptide antigénique issu du pathogène associé à une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I. L'expression de NRP1 est augmentée à la surface des lymphocytes T CD8⁺ effecteurs et mémoires, et favorise la reconnaissance de l'antigène [8]. Néanmoins, le rôle exact de NRP1 dans ce contexte reste inconnu.

Les lymphocytes T auxiliaires (T CD4⁺) produisent de l'interleukine 2 et de l'interféron gamma qui stimulent la prolifération des lymphocytes T et B. NRP1 est exprimé par les lymphocytes T CD4⁺. Il permet, par ailleurs, la maturation des lymphocytes B [8].

Les lymphocytes T régulateurs (Treg) sont essentiels à la prévention des maladies auto-immunes. NRP1 maintient ces fonctions grâce à son interaction avec SEMA4A, exprimée par les cellules dendritiques. Cette

liaison stabilise en effet les lymphocytes Treg en recrutant PTEN (homologue de phosphatase et tensine) et en inhibant la phosphorylation d'Akt. L'expression de NRP1 par les lymphocytes Treg permet leur migration vers les tumeurs où ils jouent un rôle immunosuppresseur. La liaison homophile des molécules NRP1 exprimées par les cellules dendritiques induit une tolérance immunitaire [8].

L'expression de *NRP2* est amplifiée dans les lymphocytes T CD4⁺/CD8⁺ mais elle est moins importante sur les lymphocytes T qui n'expriment que CD8 ou que CD4. L'interaction entre NRP2, SEMA3F et la plexine A1, inhibe la migration des lymphocytes T immatures.

Les cellules NKT (*natural killer T*) représentent un lien entre immunité innée et immunité adaptative. Activées, elles sont capables de détruire leur cible cellulaire et produisent des cytokines anti- et pro-inflammatoires. Le rôle de NRP1 exprimé par ces cellules reste inconnu [8].

Les NRP ont donc différents rôles dans le système immunitaire. Ils interviennent dans les capacités de migration des cellules, dans leur interaction avec d'autres cellules mais aussi dans la régulation de leur réponse immunitaire.

Rôles des NRP dans le cancer

La surexpression des NRP, généralement synonyme d'agressivité, est souvent observée dans les carcinomes, les mélanomes, les glioblastomes, les leucémies, et les lymphomes. Dans des modèles expérimentaux de cancer du poumon, la réduction de l'expression de *NRP1* diminue la migration, l'invasion cellulaire et le nombre de métastases [18]. Dans des modèles de cancer du côlon, la surexpression de *NRP2* stimule la progression tumorale et sa réduction inhibe la tumorigenèse et augmente l'apoptose [19]. Dans le cas du carcinome du rein à cellules claires (ccRCC), la diminution de l'expression de *NRP1* réduit la migration, l'invasion et la tumorigenèse [11], et de celle de *NRP2* diminue l'extravasation cellulaire dans le réseau lymphatique et la dissémination métastatique [20].

Les inhibiteurs de NRP : des approches rationnelles aux cribles multi-étapes

Du fait de leurs rôles dans l'angiogenèse, la lymphangiogenèse, la tumorigenèse et dans le système immunitaire, les NRP sont devenues des cibles pertinentes dans le traitement du cancer et, notamment, dans le traitement du carcinome du rein ccRCC, un des cancers les plus vascularisés. Un anticorps monoclonal, le MNRP-1685A, qui cible NRP1, est en cours d'essais cliniques [21] et plusieurs inhibiteurs chimiques des NRP (petites molécules, peptides, etc.) sont en phases préclinique ou clinique.

Le MNRP-1685A

Le MNRP-1685A (vésencumab) est un anticorps monoclonal humanisé spécifique des domaines extracellulaires b1 et b2 de NRP1 : il inhibe son interaction avec le VEGF. Il a été obtenu par *phage display* (une méthode de sélection d'anticorps fondée sur l'expression aléatoire par des bactériophages de fragments d'anticorps ou de peptides multiples) [22]. Dans des modèles précliniques, ses effets se sont révélés être

marginiaux sur la croissance tumorale. Ils sont plus importants en présence d'un anticorps spécifique du VEGF [23]. L'anticorps anti-NRP1 diminue l'intégrité vasculaire en réduisant le nombre de péricytes. Il rend ainsi les vaisseaux sanguins plus sensibles aux anticorps anti-VEGF. Le MNRP1685A a été testé dans deux essais cliniques de phase Ia et Ib, seul ou en combinaison avec un anticorps monoclonal humanisé anti-VEGF, le bévaccizumab (Avastin®), dans un ensemble de tumeurs solides en échec thérapeutique [21, 24]. Le traitement a été bien toléré au cours des essais en escalade de doses, avec néanmoins quelques effets indésirables, qui ont été atténués par une prémédication par dexaméthasone. Une protéinurie élevée observée chez les patients ayant reçu l'association des deux anticorps a été rédhibitoire pour poursuivre les essais cliniques. Une augmentation d'expression de NRP1 peut néanmoins résulter d'une adaptation aux traitements, notamment dans les cancers de la prostate [25]. Il est donc important d'évaluer la pertinence d'une fenêtre thérapeutique d'administration des anticorps anti-NRP1 et de développer d'autres outils thérapeutiques plus performants.

Bases structurales pour définir des inhibiteurs chimiques de NRP1 et de NRP2

Plusieurs structures cristallines de la tuftisine (le tétra-peptide – TKPR – qui mime l'extrémité C-terminale du VEGF), du VEGF et du VEGFC, en interaction avec leur domaine de liaison à NRP1 et NRP2, ont été résolues par diffraction aux rayons X [26]. Les extrémités C-terminale de la tuftisine et du VEGF se lient aux domaines b1 et b2 des NRP, par l'intermédiaire de l'arginine en position terminale. Des liaisons hydrogène impliquent également plusieurs acides aminés de cette zone de fixation. En effet, l'asparagine en position 320 (Asp-320) établit deux liaisons hydrogène avec le motif guanidinium de la chaîne latérale de l'arginine. De même, les tyrosines Tyr-353, Thr-349 et la sérine Ser-346 interagissent avec le motif carboxyle terminal. La poche de fixation accueillant l'arginine en position C-terminale est conservée entre NRP1 et NRP2.

Le VEGFC est sécrété sous la forme d'une pro-protéine qui est inactive. Elle subit une protéolyse de ses extrémités N- et C-terminales qui lui permet d'acquérir son activité biologique. La protéolyse en C-terminale libère en effet une extrémité basique contenant deux arginines (SIIRR) qui permet sa liaison aux NRP. Ainsi, seule la forme protéolysée de VEGFC interagit avec NRP2 et le stabilise. La résolution de la structure de VEGFC protéolysé, cristallisé avec les domaines b1 et b2 de NRP2, révèle une liaison similaire à celle décrite pour l'interaction entre le VEGF et NRP1.

La sélectivité de NRP1 pour le VEGF, et celle de NRP2 pour le VEGFC, ne reposent donc pas sur des différences structurales touchant les poches de fixation de l'arginine présentes dans ces deux isoformes. Cependant, deux liaisons hydrogène supplémentaires, qui s'établissent entre l'acide glutamique en position 154 (Glu-154) du VEGF et la thréonine Thr-299, spécifiques de NRP1 (absentes de NRP2), sont importantes pour cette sélectivité. Il est donc possible de cibler sélectivement NRP1 par des pseudo-peptides.

L'heptapeptide A7R et ses dérivés

Le peptide ATWLPPR (A7R) est le premier peptide inhibant l'interaction entre le VEGF et les NRP qui a été identifié par *phage display* (Figure 2A). A7R bloque la fixation de VEGF radiomarqué (^{125}I -VEGF) sur le VEGFR2. Il inhibe la prolifération de cellules endothéliales (HUVEC) et bloque la croissance de tumeurs expérimentales du sein en affectant la vascularisation tumorale [27]. L'arginine C-terminale, la leucine en position 4 et les prolines en position 5 et 6 (LPRR) sont essentielles à son efficacité. Le groupement carboxyle (-COOH) de l'arginine est sous sa forme acide libre, et la torsion du squelette formé par ces quatre acides aminés est similaire celle prise par le squelette de la partie C-terminale du VEGF.

La partie N-terminale du peptide a été modifiée afin de permettre son marquage par du $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (Technétium 99 m), en introduisant un motif S-benzoyle-mercaptoacétique. Contrairement au peptide original, le radio-peptide ne se fixe pas à NRP2, révélant l'existence d'interactions entre l'extrémité N-terminale du peptide et la protéine. Des versions stables *in vivo* d'A7R ont été développées pour des applications en photothérapie dynamique [28] ou en imagerie par résonance magnétique [29].

Peptido-mimétiques glycosylés

Des peptido-mimétiques dérivés d'A7R et rigidifiés à l'aide d'un motif carbohydrate remplaçant la séquence LPRR ont été développés [30] (Figure 2B). Le peptido-mimétique le plus puissant intègre un motif phénylsulfonamide et une arginine. Il inhibe l'interaction du VEGF avec NRP1, et altère la tubulogénèse. Sa stabilité au sein du site de fixation du VEGF dans NRP1 repose non seulement sur un réseau dense de liaisons hydrogène, impliquant en particulier son motif guanidinium et l'Asp-320 de NRP1, mais également une interaction $\pi - \pi$ ⁶ ou cation- π impliquant son noyau phénylsulfonamide.

Pentapeptides rigidifiés

Des pseudo-peptides ramifiés de séquence générale Lys(hArg)-AA²-AA³-Arg⁷ ont également été réalisés [31]. Les premières structures décrites possédaient une proline en position AA³. L'interaction entre ces pseudo-peptides et NRP1 repose sur des liaisons hydrogène établies entre la partie Lys(hArg) du peptide et le carboxylate de l'Asp-320 de la protéine. La partie centrale de la séquence, les résidus AA² et AA³, interviennent également dans la liaison. Différentes optimisations

ont été réalisées, en remplaçant la proline en position AA³ par certains de ses isostères⁸ conventionnels (Figure 2C). Sa substitution par la 3,4-déhydroproline (ΔPro) ou par l'octahydroindole (Oic) induit une stabilité métabolique du peptide qui augmente son affinité pour NRP1. Ces molécules sont en cours de développement. Des petits peptides cycliques dérivés d'A7R, plus résistants *in vivo* que les peptides linéaires, ont également été synthétisés [31].

L'EG3287 et ses dérivés

Le groupe de Zachary et Selwood à Londres (University College London) développe des inhibiteurs pseudo-peptidiques de NRP1 sur la base de la structure du domaine C-terminal du VEGF. Ces chercheurs se sont focalisés sur le sous-domaine structural défini par les acides aminés compris entre la Ser-138 et l'Arg-165 du VEGF, caractérisé par l'existence de deux ponts disulfures, une hélice- α et un coude β . Le peptide bicyclique correspondant à cette séquence, l'EG3287, a été synthétisé en 2006 (Figure 3A) [32]. Il inhibe l'interaction entre le VEGF et des cellules endothéliales porcines exprimant NRP1. Une optimisation structurale de l'EG3287 a permis d'obtenir, en 2010, un nouveau « hit », baptisé EG00229 [33]. Celui-ci présente un motif guanidinium, qui mime l'arginine C-terminale de VEGF, et un motif sulfonamide relié par un cœur thiophène (Figure 3B). La structure chimique de cette molécule s'éloigne de celle des peptides conventionnels, mais elle en conserve cependant certains éléments de similitude (en particulier le motif guanidinium).

La structure cristallographique du complexe formé entre NRP1 et l'EG00229 montre que le peptide se superpose à la tuftsine dans la poche de fixation de l'arginine [34]. Sa fonction guanidinium établit des liaisons hydrogène avec l'Asp-320 et la Ser-149 de NRP1. L'EG00229 interfère avec la liaison de VEGF radiomarqué (^{125}I -VEGF) aux cellules endothéliales porcines, et inhibe l'interaction entre le VEGF et les cellules de carcinome humain de prostate DU145 qui surexpriment NRP1. Il réduit la viabilité de cellules de carcinome pulmonaire, et augmente les effets cytotoxiques du paclitaxel et du 5-fluorouracil, des chimiothérapies de première ligne utilisées dans différents cancers.

L'EG01377, décrit par la même équipe en 2018, ne se lie pas à NRP2, ce qui en fait un inhibiteur sélectif de NRP1 (Figure 3C). Ce peptide inhibe la migration de cellules endothéliales humaines (HUVEC), la formation de microtubules induite par du VEGF, et la croissance de sphéroïdes générés à partir de cellules de mélanome stimulées par du VEGF [35].

⁶ Liaison formée par recouvrement orbitalaire latéral entre les deux atomes.

⁷ AA signifiant un acide aminé et le chiffre en exposant, sa position.

⁸ De formes et encombrements comparables.

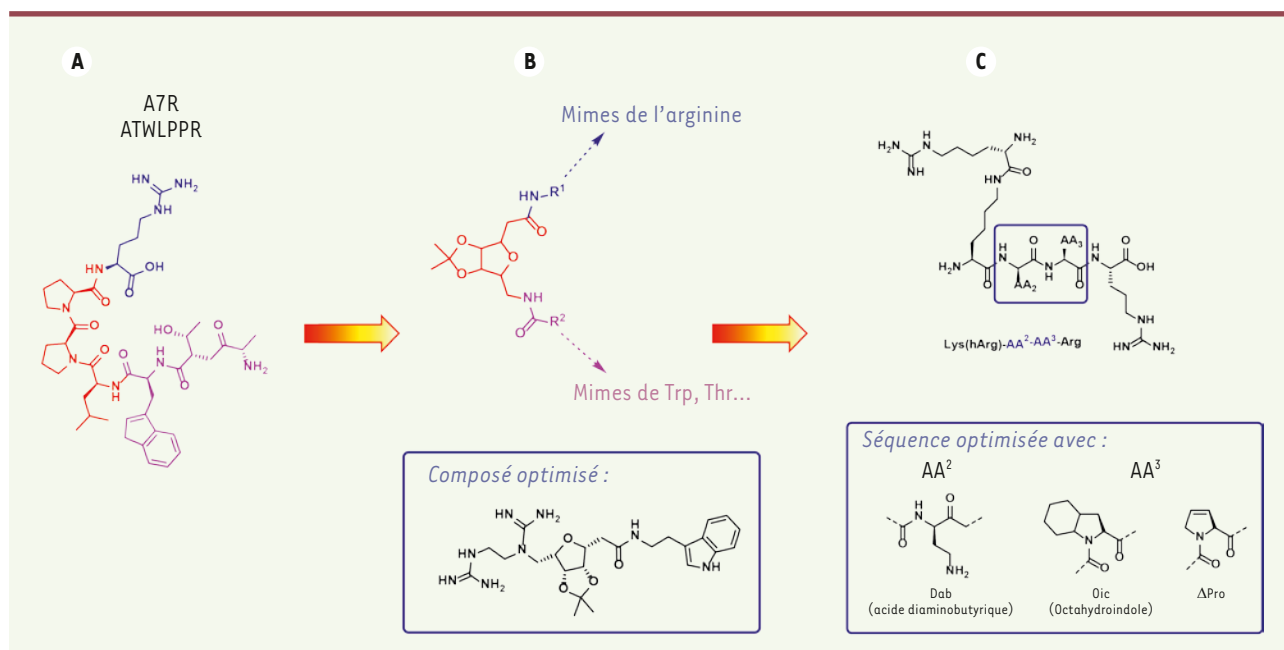


Figure 2. Inhibiteurs peptidiques et pseudo-peptidiques dérivés de l'heptapeptide ATWLPPR (A7R). **A.** Structure chimique de l'heptapeptide, identifié par phage display. Des peptides dérivés de A7R plus stables (introduction de liaison peptidiques réduites) ont été développés pour des applications en photothérapie [28] ou pour l'imagerie par résonance magnétique [29]. **B.** Première série de pseudo-peptides dérivés de A7R [30]. Dans cette série, un motif carbohydrate vient mimer la séquence LPP du peptide A7R. La molécule la plus prometteuse bloque l'interaction entre VEGF165 et NRP1 avec une IC_{50} de 39 μ M. **C.** Nouvelle génération de pseudo-peptides rigidifiés [31] présentant des IC_{50} de l'ordre de 15-25 μ M.

Les inhibiteurs non peptidiques sélectionnés par criblage multi-étapes

Les criblages multi-étapes, qui incluent un crible virtuel, utilisent d'importantes banques de composés afin d'identifier des molécules possédant des structures originales interagissant avec leurs cibles avec une forte affinité. Deux cribles portant sur NRP1 ont exploré une banque de 500 000 composés disponibles via la ChemBridge Compound Collection⁹. Le champ d'investigation a été réduit à 300 000 composés par l'utilisation du logiciel FAF-Drug2 qui permet d'exclure des molécules présentant des propriétés toxiques et/ou de mauvais profils pharmacologiques.

Identification du composé ChemBridge ID : 7739526, non testé *in vivo*

Les *dockings* (ou arrimages moléculaires)¹⁰ modélisés à partir de la structure cristallographique obtenue par interaction de NRP1 avec la tuftsine (code PDB : 2ORZ)¹¹ ont permis aux équipes de B. Villoutreix et G. Perret (Lille) d'identifier 508 molécules potentiellement capables d'interagir avec NRP1. Leur capacité d'inhibition de la liaison entre le VEGF165 et NRP1 a été examinée (à une concentration de 100 μ M) faisant émerger 7 *hits* (inhibition supérieure à 40 %). Une nouvelle étape

de crible *in silico*, destinée à identifier de nouveaux produits présentant des similarités structurales avec les 7 *hits* initiaux, a été réalisée, révélant de nouveaux candidats qui ont également été testés pour leur pouvoir inhibiteur. Ce processus a été répété une troisième fois. Le meilleur composé obtenu par cette approche (ChemBridge ID : 7739526) présente une capacité d'inhibition de la liaison du VEGF165 à NRP1 comparable à celle de la tuftsine [36]. Cette molécule ne contient pas de fonction guanidinium. La prédiction de liaison suggère que l'hydrogène du motif hydroxyle de la molécule établit une liaison hydrogène avec l'Asp-320 de NRP1 et que la Glu-348 de la protéine établit une liaison hydrogène avec l'oxygène de la fonction éther reliant les deux noyaux aromatiques. Les effets de ces composés sur les cellules n'ont pas été examinés.

NRPa-47 et NRPa-308, deux antagonistes non peptidiques de NRP1 actifs *in vivo*

Dans ce crible multi-étapes réalisé par les équipes de C. Garbay, M. Montes et O. Hermine (Paris), le crible virtuel a été réalisé en utilisant pour modèle le co-cristal NRP1/tuftsine et les logiciels Surflex-dock et ICM-VLS, pour la modélisation. Une liste consensus de 3 000 composés-candidats, des petites molécules dépourvues de

⁹ <https://www.chembridge.com/about/>

¹⁰ Méthode de modélisation permettant de définir à partir de deux structures modélisées la meilleure configuration spatiale aboutissant à une interaction optimale.

¹¹ La banque de données sur les protéines Protein Data Bank ou PDB est une collection de données sur la structure tridimensionnelle de macromolécules biologiques.

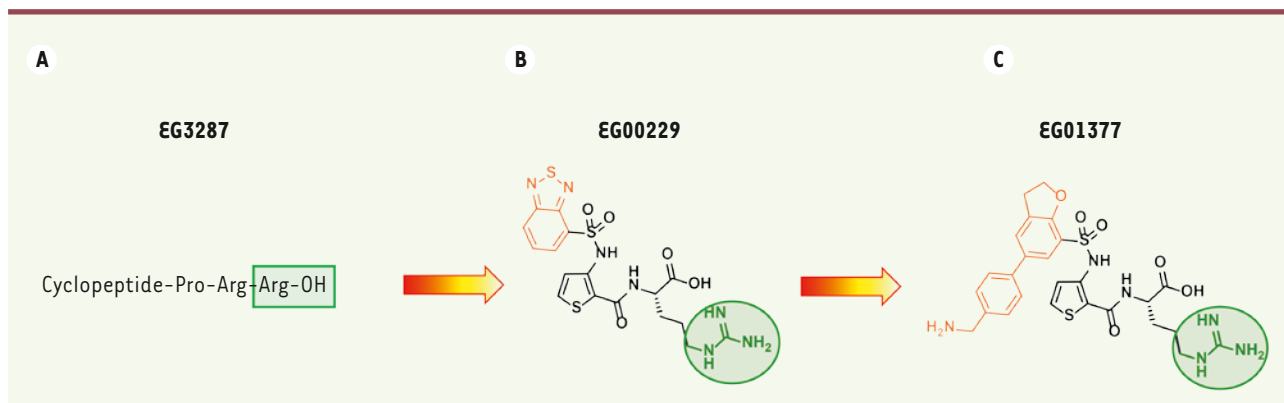


Figure 3. Inhibiteurs peptidiques et pseudo-peptidiques fondés sur la structure du domaine C-terminal du VEGF. Le peptide initialement étudié (EG3287) reprend la séquence du domaine C-Terminal de VEGF [32]. Il a été optimisé grâce à des études de relation structure-activité (par RMN notamment), ce qui a conduit à l'identification du pseudo-peptide EG00229 en 2010 [33]. Plus récemment, le composé EG01377 s'est avéré être un inhibiteur sélectif de NRP1 par rapport à NRP2 [34]. Il possède *in vitro* un effet anti-angiogénique. Il est à noter que toutes ces molécules présentent un motif guanidinium (encadré en vert) pour mimer l'arginine C-terminale de VEGF165.

motifs peptidiques a émergé. L'analyse de leurs *dockings* avec NRP1 a permis de retenir 1 317 molécules qui ont été testées *in vitro*. Les tests fonctionnels réalisés sur des cellules endothéliales (crible cellulaire) ont réduit la liste à 158 candidats puis 56 molécules ont été retenues pour leur capacité à inhiber l'interaction entre le VEGF165 et NRP1 lors d'une étape de crible moléculaire. La détermination sur des cellules humaines de cancer mammaire (MDA-MB-231) des concentrations inhibitrices (IC_{50}) de ces 56 composés, a permis d'identifier deux molécules, NRPa-47 et NRPa-308, comme étant les plus prometteuses [37-39]. Ces deux candidats présentent des IC_{50} sub-micromolaires sur des cellules endothéliales et de cancer du sein (Figure 4).

Le NRPa-47 présente un noyau benzimidazole connecté à un noyau benzodioxane par un bras espaceur carboxythiourée. Cette molécule est dépourvue de motif guanidinium, et l'atome d'azote du benzimidazole interagit avec l'Asp-320 de NRP1 *via* une liaison hydrogène. Le soufre du bras espaceur et l'un des atomes d'oxygène du benzodioxane établissent des liaisons hydrogène avec les résidus de la poche de liaison de NRP1 (Tyr-297 pour le soufre ; Tyr-353 et Thr-349 pour l'oxygène). Ce *docking* a permis d'optimiser la structure de cet antagoniste et d'identifier ainsi le NRPa-48 comme étant un nouvel inhibiteur de NRP1. Ce dernier composé présente des activités antiprolifératives comparables à celles du produit parent.

Le NRPa-308 possède trois noyaux aromatiques. La prédiction par *docking* suggère que le noyau portant l'éther d'éthyle s'insère profondément dans la poche de fixation de l'arginine, et interagit par π -stacking¹² et/ou interactions hydrophobes avec les noyaux aromatiques des Tyr-297 et Tyr-353. Cette prédiction suggère que l'oxygène de l'amide et l'azote du sulfonamide du NRPa-308 établissent des liaisons hydrogène avec le Trp-301 et la Glu-348 de NRP1.

Sur des lignées de carcinome du rein à cellules claires, le NRPa-308 exerce des effets antiprolifératifs marqués. Il est moins toxique pour

des cellules isolées de tissus sains que le traitement de référence de ces cancers, le sunitinib : il possède donc un indice de sélectivité supérieur à celui du sunitinib. NRPa-47, NRPa-48 et NRPa-308 exercent une activité anti-angiogénique et réduisent la mobilité des cellules endothéliales. Ils sont cytotoxiques sur plusieurs lignées cellulaires cancéreuses résistantes. NRPa-47 et NRPa-308 ralentissent la croissance de tumeurs expérimentales du sein chez la souris, prolongent la survie des animaux et retardent la formation de métastases. Ces molécules réduisent la vascularisation des tumeurs sans induire de toxicité aiguë. Des résultats récents suggèrent que le NRPa-308 est internalisé par les cellules tumorales [39]. Le mécanisme du franchissement de la membrane cellulaire n'est cependant pas élucidé, mais il pourrait dépendre de l'activité de transporteur des NRP.

Conclusion

Les cancers très vascularisés comme ceux du rein, du sein, du poumon, du côlon ou de la sphère ORL (oto-rhino-laryngologique) sont des modèles intéressants pour le développement de thérapies anti-angiogéniques. Actuellement, les traitements ciblant la voie VEGF/VEGFR sont administrés dans les cancers métastatiques du côlon et du rein. Leurs effets restent cependant transitoires pour la majorité des patients. Le ciblage d'autres acteurs pertinents de la vascularisation tumorale représente toujours un défi pour lutter plus efficacement contre ces pathologies. Dans cette revue, nous avons révélé le rôle majeur des NRP dans l'agressivité de nombreux cancers. Leur surexpression

¹² Interaction attractive et non covalente entre deux noyaux aromatiques.

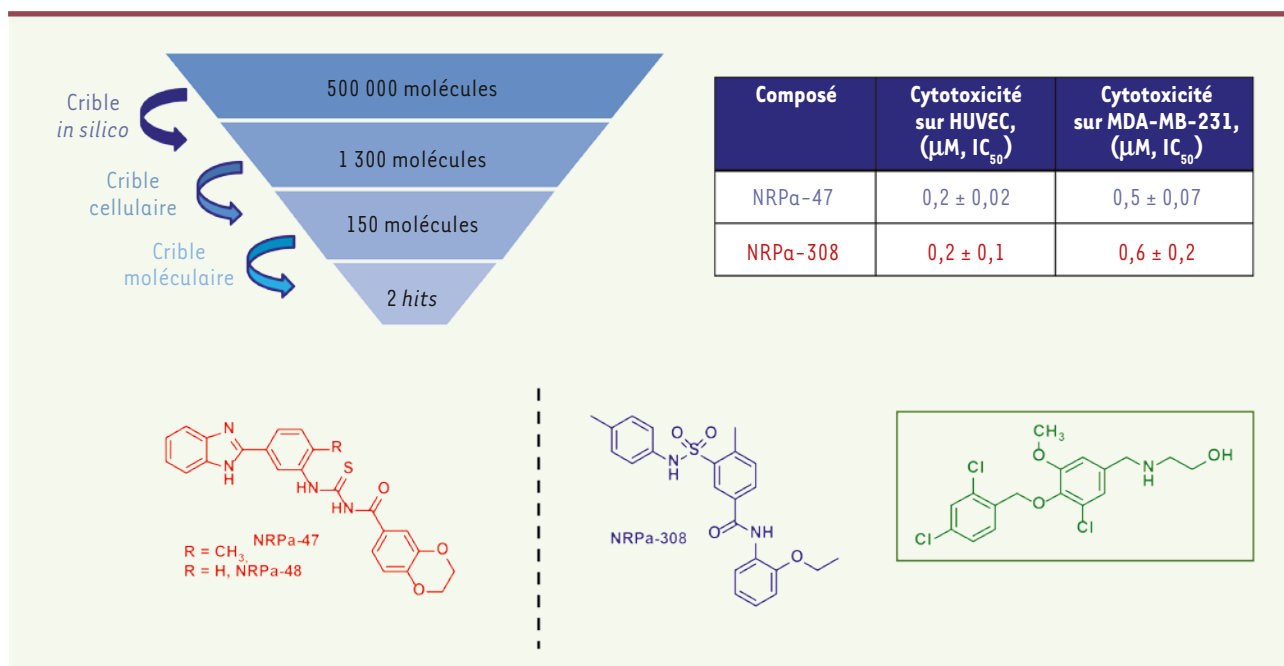


Figure 4. Inhibiteurs non peptidiques sélectionnés par crible multi-étapes. Cette approche, qui combine des étapes de cribles *in silico* de bibliothèques de produits commerciaux puis des tests cellulaires et moléculaires, a permis d'identifier les premiers inhibiteurs non peptidiques de NRP1 actifs *in vivo* (les composés NRPa-47, NRPa-48 et NRPa-308) et ne présentant pas de toxicité avérée chez les animaux traités [36-38]. Le rationnel du crible est représenté en haut à gauche et les effets cellulaires en haut à droite. Ces composés ont été récemment resynthésés par les chimistes, et leur optimisation structurale est en cours (amélioration des paramètres pharmaco-chimiques, de leur efficacité biologique, etc.). Il a également été prouvé récemment qu'une certaine fraction de NRPa-308 pénètre à l'intérieur des cellules tumorales [39]. Le composé identifié (ChemBridge ID : 7739526) est représenté dans l'encart vert [35] ; ce composé n'a pas fait l'objet d'étude *in vivo* à notre connaissance. Il est intéressant de noter qu'aucunes des molécules identifiées par cribles multi-étapes, bien que sélectionnées pour leur affinité avec la poche de fixation de NRP-1 avec le VEGF165, ne possède de motif guanidinium mimant l'arginine C-terminale.

est synonyme d'angiogenèse et de lymphangiogenèse exacerbée et est donc de mauvais pronostic. Leur rôle dans les réponses immunitaires innée et adaptative suppose leur implication importante dans l'immunité antitumorale. NRP1 joue un rôle antitumoral dans les étapes précoces de la tumorigenèse, mais dans des tumeurs de stade avancé, il devient pro-tumoral et immunosuppresseur. Le rôle de NRP2 dans le système immunitaire n'a pas été encore totalement déterminé.

Les NRP représentent donc des cibles pertinentes pour traiter différents cancers mais la cinétique d'administration de drogues capables de les inhiber doit être considérée avec prudence. De nombreuses molécules peptidiques ou biologiques qui ciblent les NRP et dont l'efficacité a été testée *in vitro* et *in vivo*, ont été développées. Le rôle spécifique de NRP1 et NRP2 reste encore à élucider afin que leur ciblage produise un effet thérapeutique optimal. ♦

SUMMARY

Neuropilins: relevant therapeutic targets to improve the treatment of cancers

Exacerbated angiogenesis is one of the hallmarks of cancer defined by Hanahan and Weinberg. However, targeting the signaling pathway of the "Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)" or its receptors has shown its therapeutic limits. Despite short term benefits for patients, tumors

always relapse and generally become metastatic and incurable. Neuropilins 1 and 2 (NRP1, 2) whose activity was originally described in the nervous system, stimulate many parameters involved in tumor aggressiveness including cell proliferation, angiogenesis and lymphangiogenesis, and immune tolerance. Thus, an overexpression of NRP1 or 2 in many tumors, is correlated with a short survival of the patients. The purpose of this review is to describe the mechanisms of action involved in stimulating NRP1, 2 and to take stock of therapeutic strategies in preclinical studies or in early phase trials in patients with different cancers. ♦

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient pour leur soutien la Société Helsinn, la Ligue nationale contre le cancer (Équipe labellisée en 2019), l'Institut national du cancer (contrat : VEGFIL et SunitRES), la Fondation de France, le Programme européen FP7 - Marie Curie Intra-European grant (Contrat : VELYMPH), la Fondation François Xavier Mora, et la Cancéropole PACA.

LIENS D'INTÉRÊT


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

RÉFÉRENCES

- Kawasaki T, Kitsukawa T, Bekku Y, et al. A requirement for neuropilin-1 in embryonic vessel formation. *Development* 1999 ; 126 : 4895-902.
- Kitsukawa T, Shimono A, Kawakami A, et al. Overexpression of a membrane protein, neuropilin, in chimeric mice causes anomalies in the cardiovascular system, nervous system and limbs. *Development* 1995 ; 121 : 4309-18.
- Yuan L, Moyon D, Pardanaud L, et al. Abnormal lymphatic vessel development in neuropilin 2 mutant mice. *Development* 2002 ; 129 : 4797-806.
- Takahima S, Kitakaze M, Asakura M, et al. Targeting of both mouse neuropilin-1 and neuropilin-2 genes severely impairs developmental yolk sac and embryonic angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002 ; 99 : 3657-62.
- Valdembrì D, Caswell PT, Anderson KI, et al. Neuropilin-1/GIPC1 signaling regulates alpha5beta1 integrin traffic and function in endothelial cells. *PLoS Biol* 2009 ; 7 : e25.
- Wang L, Mukhopadhyay D, Xu X. C terminus of RGS-GAIP-interacting protein conveys neuropilin-1-mediated signaling during angiogenesis. *FASEB J* 2006 ; 20 : 1513-5.
- Cao Y, E G, Wang E, et al. VEGF exerts an angiogenesis-independent function in cancer cells to promote their malignant progression. *Cancer Res* 2012 ; 72 : 3912-8.
- Roy S, Bag AK, Singh RK, et al. Multifaceted role of neuropilins in the immune system: potential targets for immunotherapy. *Front Immunol* 2017 ; 8 : 1228.
- Harper SJ, Bates DD. VEGF-A splicing: the key to anti-angiogenic therapeutics? *Nat Rev Cancer* 2008 ; 8 : 880-7.
- Balan M, Mier y Teran E, Waaga-Gasser AM, et al. Novel roles of c-Met in the survival of renal cancer cells through the regulation of HO-1 and PD-L1 expression. *J Biol Chem* 2015 ; 290 : 8110-20.
- Cao Y, Wang L, Nandy D, et al. Neuropilin-1 upholds dedifferentiation and propagation phenotypes of renal cell carcinoma cells by activating Akt and sonic hedgehog axes. *Cancer Res* 2008 ; 68 : 8667-72.
- Lepelletier Y, Moura IC, Hadj-Slimane R, et al. Immunosuppressive role of semaphorin-3A on T cell proliferation is mediated by inhibition of actin cytoskeleton reorganization. *Eur J Immunol* 2006 ; 36 : 1782-93.
- Schellenburg S, Schulz A, Poitz DM, Muters MH. Role of neuropilin-2 in the immune system. *Mol Immunol* 2017 ; 90 : 239-44.
- Curreli S, Arany Z, Gerardy-Schahn R, et al. Polysialylated neuropilin-2 is expressed on the surface of human dendritic cells and modulates dendritic cell-T lymphocyte interactions. *J Biol Chem* 2007 ; 282 : 30346-56.
- Casazza A, Laoui D, Wenes M, et al. Impeding macrophage entry into hypoxic tumor areas by Sema3A/Nrp1 signaling blockade inhibits angiogenesis and restores antitumor immunity. *Cancer Cell* 2013 ; 24 : 695-709.
- Cherry JD, Olschowka JA, O'Banion MK. Neuroinflammation and M2 microglia: the good, the bad, and the inflamed. *J Neuroinflammation* 2014 ; 11 : 98.
- Stamatos NM, Zhang L, Jokilampi A, et al. Changes in polysialic acid expression on myeloid cells during differentiation and recruitment to sites of inflammation: role in phagocytosis. *Glycobiology* 2014 ; 24 : 864-79.
- Hong TM, Chen YL, Wu YY, et al. Targeting neuropilin 1 as an antitumor strategy in lung cancer. *Clin Cancer Res* 2007 ; 13 : 4759-68.
- Gray MJ, Van Buren G, Dallas NA, et al. Therapeutic targeting of neuropilin-2 on colorectal carcinoma cells implanted in the murine liver. *J Natl Cancer Inst* 2008 ; 100 : 109-20.
- Cao Y, Hoepfner LH, Bach S, et al. Neuropilin-2 promotes extravasation and metastasis by interacting with endothelial alpha5 integrin. *Cancer Res* 2013 ; 73 : 4579-90.
- Weekes CD, Beeram M, Tolcher AW, et al. A phase I study of the human monoclonal anti-NRP1 antibody MNRP1685A in patients with advanced solid tumors. *Invest New Drugs* 2014 ; 32 : 653-60.
- Liang WC, Dennis MS, Stawicki S, et al. Function blocking antibodies to neuropilin-1 generated from a designed human synthetic antibody phage library. *J Mol Biol* 2007 ; 366 : 815-29.
- Pan Q, Chantry Y, Liang WC, et al. Blocking neuropilin-1 function has an additive effect with anti-VEGF to inhibit tumor growth. *Cancer Cell* 2007 ; 11 : 53-67.
- Patnaik A, LoRusso PM, Messersmith WA, et al. A Phase Ib study evaluating MNRP1685A, a fully human anti-NRP1 monoclonal antibody, in combination with bevacizumab and paclitaxel in patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol* 2014 ; 73 : 951-60.
- Tse BWC, Volpert M, Rattner E, et al. Neuropilin-1 is upregulated in the adaptive response of prostate tumors to androgen-targeted therapies and is prognostic of metastatic progression and patient mortality. *Oncogene* 2017 ; 36 : 3417-27.
- Parker MW, Xu P, Li X, Vander Kooi CW. Structural basis for selective vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) binding to neuropilin-1. *J Biol Chem* 2012 ; 287 : 11082-9.
- Starzec A, Vassy R, Martin A, et al. Antiangiogenic and antitumor activities of peptide inhibiting the vascular endothelial growth factor binding to neuropilin-1. *Life Sci* 2006 ; 79 : 2370-81.
- Tirand L, Frochet C, Vanderesse R, et al. A peptide competing with VEGF165 binding on neuropilin-1 mediates targeting of a chlorin-type photosensitizer and potentiates its photodynamic activity in human endothelial cells. *J Control Release* 2006 ; 111 : 153-64.
- Benachour H, Seve A, Bastogne T, et al. Multifunctional Peptide-conjugated hybrid silica nanoparticles for photodynamic therapy and MRI. *Theranostics* 2012 ; 2 : 889-904.
- Richard M, Chateau A, Jelsch C, et al. Carbohydrate-based peptidomimetics targeting neuropilin-1: synthesis, molecular docking study and in vitro biological activities. *Bioorg Med Chem* 2016 ; 24 : 5315-25.
- Puszko AK, Sosnowski P, Tymecka D, et al. Neuropilin-1 peptide-like ligands with proline mimetics, tested using the improved chemiluminescence affinity detection method. *Medchemcomm* 2019 ; 10 : 332-40.
- Jia H, Bagherzadeh A, Hartzoulakis B, et al. Characterization of a bicyclic peptide neuropilin-1 (NP-1) antagonist (EG3287) reveals importance of vascular endothelial growth factor exon 8 for NP-1 binding and role of NP-1 in KDR signaling. *J Biol Chem* 2006 ; 281 : 13493-502.
- Jarvis A, Allerston CK, Jia H, et al. Small molecule inhibitors of the neuropilin-1 vascular endothelial growth factor A (VEGF-A) interaction. *J Med Chem* 2010 ; 53 : 2215-26.
- Powell J, Mota F, Steadman D, et al. Small molecule neuropilin-1 antagonists combine antiangiogenic and antitumor activity with immune modulation through reduction of transforming growth factor beta (TGFbeta) production in regulatory T-cells. *J Med Chem* 2018 ; 61 : 4135-54.
- Starzec A, Miteva MA, Ladam P, et al. Discovery of novel inhibitors of vascular endothelial growth factor-A-Neuropilin-1 interaction by structure-based virtual screening. *Bioorg Med Chem* 2014 ; 22 : 4042-8.
- Liu WQ, Megale V, Borriello L, et al. Synthesis and structure-activity relationship of non-peptidic antagonists of neuropilin-1 receptor. *Bioorg Med Chem Lett* 2014 ; 24 : 4254-9.
- Liu WQ, Lepelletier Y, Montes M, et al. NRPa-308, a new neuropilin-1 antagonist, exerts in vitro anti-angiogenic and anti-proliferative effects and in vivo anti-cancer effects in a mouse xenograft model. *Cancer Lett* 2018 ; 414 : 88-98.
- Borriello L, Montes M, Lepelletier Y, et al. Structure-based discovery of a small non-peptidic Neuropilins antagonist exerting in vitro and in vivo anti-tumor activity on breast cancer model. *Cancer Lett* 2014 ; 349 : 120-7.
- Brachet E, Dumond A, Liu WQ, et al. Synthesis, 3D-structure and stability analyses of NRPa-308, a new promising anti-cancer agent. *Bioorg Med Chem Lett* 2019 ; 29 : 126710.
- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000 ; 100 : 57-70.
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011 ; 144 : 646-74.

TIRÉS À PART

G. Pagès



Tarifs d'abonnement m/s - 2020

Abonnez-vous

à médecine/sciences

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement

page 538 dans ce numéro de m/s

