

## DOSSIER THÉMATIQUE : LES TUMEURS NEUROENDOCRINES DIGESTIVES

### Rôle de l'angiogenèse et rationnel d'utilisation des thérapies ciblées dans les tumeurs neuroendocrines digestives

#### *Contribution of angiogenesis and rationale for use of targeted therapies in digestive neuroendocrine tumours*

Jérôme Cros<sup>1,2</sup>, Anne Couvelard<sup>2,3</sup>

1. Département de Pathologie, Hôpital Beaujon, 100 Bd du Gal Leclerc, F-92110 Clichy

2. INSERM U773, CRB3, Université Paris 7 Denis Diderot

3. Département de Pathologie, Hôpital Bichat, 46, rue Henri-Huchard, F-75018 Paris

#### ■ Résumé

Ces dernières années, la compréhension des bases moléculaires de la tumorigenèse neuroendocrine digestive a fait des progrès considérables. Ainsi, il a été montré que l'angiogenèse jouait un rôle essentiel dans le développement des tumeurs neuroendocrines. Parallèlement, de nouvelles drogues qui ciblent l'angiogenèse et la transduction du signal des récepteurs

des facteurs de croissance vasculaire ont été mises au point, potentiellement très utiles dans ces tumeurs hypervascularisées.

Le but de ce travail est de faire une revue des données actuelles concernant l'angiogenèse tumorale et ses voies principales de signalisation dans les tumeurs neuroendocrines digestives.

#### Mots-clés

Vascularisation tumorale ; Hypoxie ; Inhibiteurs de VEGFR ; Inhibiteurs de mTOR

#### ■ Abstract

During these last years, the understanding of the molecular bases of digestive neuroendocrine tumor genesis made considerable progress. Angiogenesis has been demonstrated to play a major role in the development of neuroendocrine tumors. In parallel, new drugs were developed targeting angiogenesis and

the signal transduction by vascular growth factor receptors, yielding major usefulness in these highly vascularised tumors.

The aim of this work is to present a review of the current data available on angiogenesis and its main signaling pathways in digestive neuroendocrine tumors.

#### Keywords

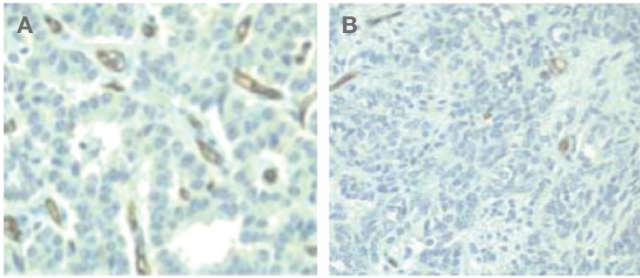
Tumor vascularization; Hypoxia; VEGFR inhibitors; mTOR inhibitors

#### ■ Angiogenèse et tumeurs neuroendocrines digestives

##### Densité microvasculaire comme témoin du processus angiogénique

Les tumeurs neuroendocrines (TNE) digestives sont des tumeurs caractérisées par un réseau vasculaire extrêmement dense, qui rappelle celui des organes endocrines dont elles dérivent. Leur

densité microvasculaire (DMV) est très élevée. La détermination de ce paramètre repose sur le calcul du nombre de vaisseaux capillaires par unité de surface après leur identification par des techniques immunohistochimiques utilisant des marqueurs endothéliaux [1,2]. La DMV a été étudiée dans les TNE pancréatiques primitives et métastatiques [3-6] et dans les TNE iléales [7-10]. Contrairement à ce qui est observé dans la plupart des tumeurs, où la DMV est généralement un paramètre pronostique péjoratif corrélé à l'invasion locale, la dissémination métastatique voire la



**Figure 1**  
**Densité microvasculaire dans une tumeur neuroendocrine bien différenciée (A) et un carcinome neuroendocrine peu différencié (B).**

La densité microvasculaire (évaluée par un marquage (brun) des capillaires à l'aide de l'anticorps anti-CD34) est inversement corrélée à la différenciation tumorale et à la survie des patients.

survie, on observe des résultats opposés dans les TNE pancréatiques. En effet, la DMV y est moins élevée dans les tumeurs de stade et grade avancés [3,4] : la DMV moyenne est 10 fois plus faible dans les TNE peu différenciées comparativement aux TNE bien différenciées bénignes classées selon l'OMS 2000 [11] (Fig. 1). Ceci a aussi été observé *in vivo* dans des lignées xénotreffées à la souris nude, où un microenvironnement très vascularisé est observé dans les tumeurs bien différenciées et peu infiltrantes obtenues à partir de la lignée INS-3r [12].

Dans les tumeurs neuroendocrines humaines, la DMV est assez hétérogène, en particulier au sein des métastases hépatiques ou ganglionnaires de TNE bien différenciées d'origine pancréatique [5,13]. Cette relative hétérogénéité rend difficile et peu reproductible l'évaluation de la DMV sur des prélèvements tumoraux biopsiques.

Les TNE pancréatiques développées dans le cadre de la maladie de von Hippel Lindau sont encore plus vascularisées que les TNE pancréatiques sporadiques de grade et stade comparable. Leur DMV très élevée est due à l'inactivation du gène VHL, ce qui entraîne l'accumulation des molécules HIF (hypoxia inducible factor) qui ne sont plus dégradées dans le protéasome, et l'induction de nombreux gènes pro-angiogéniques (dont notamment le VEGF) [14-18]. Les autres tumeurs appartenant au spectre de cette maladie (cystadénome séreux, hémangioblastome, carcinome rénal à cellules claires...) sont également toutes très vascularisées. La régulation du processus angiogénique est donc hautement spécifique dans les TNE pancréatiques.

### Facteurs impliqués dans la régulation du processus angiogénique

Beaucoup d'études ne se limitent pas à la mesure de la DMV intratumorale et analysent l'expression de marqueurs caractéristiques des cellules endothéliales activées pour obtenir un reflet plus direct du processus d'angiogenèse. Les TNE expriment ainsi beaucoup de VEGF, le principal facteur pro-angiogénique [19-21]. L'expression du VEGF, corrélée à la densité microvasculaire, diminue avec

l'agressivité des TNE pancréatiques [3,4,12]. D'autres données contredisent cependant en partie ces résultats [10].

Les voies de régulation liées à l'hypoxie et à HIF, qui jouent un rôle important dans la progression de nombreuses tumeurs *via* notamment l'induction d'une angiogenèse tumorale, interviennent dans la régulation de la progression des tumeurs neuroendocrines digestives [22-24]. Les tumeurs peu différenciées, moins vascularisées, sont hypoxiques et l'activation de HIF et de ses gènes cibles y est observée. L'expression de HIF1 $\alpha$  et de CA9, un gène cible de HIF intervenant dans la régulation du pH cellulaire, est ainsi associée avec une survie diminuée chez les patients porteurs de TNE pancréatiques [4]. Dans les TNE iléales, HIF et ses gènes cibles VEGF et CXCR4, impliqués dans l'angiogenèse tumorale, sont fortement exprimés ; leur expression est liée à un pronostic défavorable avec une survie diminuée [7,25,26]. Les molécules régulant l'expression du facteur de transcription HIF, comme PHD-1, -2 et -3 (*prolyl hydroxylase domain proteins*) et FIH (*Factor inhibiting HIF*), et agissant comme des molécules capteur d'oxygène, sont impliquées dans la progression des TNE pancréatiques et leur expression est corrélée à la survie des patients porteurs de ce type de tumeurs [27]. Ces molécules de la voie HIF jouent un rôle important dans la régulation de la prolifération cellulaire et de la différenciation au cours de la tumorigenèse endocrine. Des études récentes ont analysé par des techniques de quantification de l'ARN (PCR quantitative ou techniques de microarrays) l'expression de molécules susceptibles d'être impliquées dans l'angiogenèse tumorale. Des marqueurs comme la VE-cadhérine, la E-sélectine, la fibrilline, interviennent dans la progression tumorale neuroendocrine pancréatique ou iléale [28-30].

### Corrélations radio-pathologiques

La vascularisation intratumorale, reflet de l'angiogenèse tumorale, a un impact important dans l'analyse par imagerie des tumeurs neuroendocrines digestives. La DMV est en effet très bien corrélée à la prise de contraste au scanner [31], elle-même liée au pronostic et à la survie des patients (les TNE pancréatiques prenant peu le contraste correspondant aux tumeurs à la DMV la plus basse et au pronostic défavorable). Les techniques de scanner de perfusion ont affiné cette corrélation. Il existe un lien entre la DMV et le flux sanguin intratumoral, ce dernier étant augmenté dans les tumeurs bénignes ou à Ki67 bas [32]. De plus, les modifications spécifiques engendrées par certains traitements ciblés anti-angiogéniques peuvent être visualisées par le scanner de perfusion, comme une diminution du flux sanguin tumoral, alors que l'effet de ces traitements est souvent mal évalué par la radiologie conventionnelle [33].

### ■ Rationnel du ciblage de VEGF/VEGFR et de la voie PI3K-Akt-mTOR

Les tumeurs neuroendocrines bien différenciées sont de bonnes candidates pour les thérapies ciblées : 1) Leur taux

de prolifération bas les rend peu sensibles aux chimiothérapies cytotoxiques classiques ; 2) leur dissémination métastatique fréquente et diffuse empêche souvent la chirurgie seule d'être curative ; 3) leur progression lente permet une survie prolongée des patients nécessitant un contrôle efficace du volume tumoral le plus longtemps possible.

La place critique de l'angiogenèse dans ces tumeurs est un argument fort pour en cibler les acteurs principaux. Les travaux expérimentaux fondamentaux puis les essais thérapeutiques ont cependant montré que d'autres voies de signalisation impliquées dans la cancérogenèse de ces tumeurs sont des cibles potentielles.

### Rationnel du ciblage du VEGF/VEGFR

Une caractéristique histologique frappante des tumeurs neuroendocrines bien différenciées est leur très riche vascularisation par de fins capillaires laissant présager un effet anti-tumoral important des inhibiteurs de l'angiogenèse [34]. L'apparition fréquente de multiples tumeurs neuroendocrines chez les patients présentant une inactivation constitutionnelle du gène VHL, un régulateur négatif clé de l'angiogenèse en réponse à l'hypoxie, est un argument supplémentaire pour tenter d'inhiber ce processus [35]. Enfin, les molécules à visée anti-angiogénique se sont montrées efficaces dans d'autres types tumoraux, notamment les carcinomes rénaux à cellules claires sporadiques, des tumeurs également richement vascularisées, qui présentent une inactivation somatique fréquente du gène VHL (revue dans [36]).

Les modèles expérimentaux ont confirmé le rôle clé de l'angiogenèse et particulièrement du couple VEGF-VEGFR dans le développement des tumeurs neuroendocrines. Dans un modèle de souris transgénique développant des tumeurs neuroendocrines pancréatiques, la délétion du VEGF-A diminuait la densité vasculaire et la taille des tumeurs [37,38]. Un effet similaire était obtenu dans ce modèle avec un anticorps bloquant l'activité de VEGFR-2 (et non VEGFR-1) [39] ou un inhibiteur du domaine tyrosine kinase du VEGFR [40]. L'effet anti-tumoral pouvait d'ailleurs être amélioré si les péricytes, des cellules de soutien importantes pour la prolifération des cellules endothéliales et le développement des néo-capillaires tumoraux, étaient également visées par un inhibiteur du PDGFR [40].

Ces constatations se sont vérifiées sur les tumeurs neuroendocrines humaines. Le VEGF et ses récepteurs sont également exprimés [21] mais leur intensité d'expression ne semble pas complètement corrélée à la densité microvasculaire [3,41]. Cependant, comme nous l'avons vu précédemment, contrairement à d'autres tumeurs, l'expression du VEGF et la densité microvasculaire sont inversement corrélées à la différenciation et à l'agressivité des tumeurs [3,4]. Les tumeurs bien différenciées présentent une densité vasculaire riche et une expression du VEGF élevée mais sans franche prolifération endothéliale. Ces tumeurs sont donc richement vascularisées mais à angiogenèse faible. Les tumeurs moins bien ou peu différenciées présentent

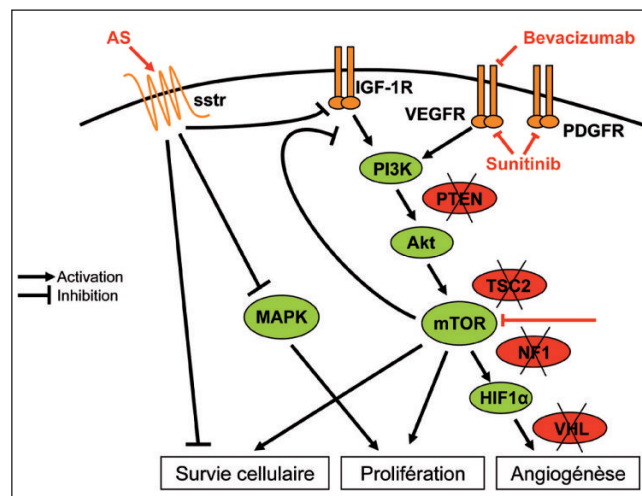
une densité microvasculaire et une expression du VEGF faible et activent au contraire les voies de résistance à l'hypoxie [4].

L'ensemble de ces éléments est tout de même en faveur d'un effet potentiel anti-tumoral important des molécules anti-angiogéniques. D'ailleurs dans un essai de phase II randomisé, l'anticorps humanisé anti-VEGF (bevacizumab) a montré une certaine efficacité, stabilisant la progression tumorale [42]. Les molécules inhibitrices des domaines tyrosine kinase du VEGFR et du PDGFR, comme le sunitinib, se sont également montrées efficaces, tant sur la survie globale, que sur la survie sans progression et le taux de réponse objective [43,44].

Plusieurs études ont montré que la sécrétion du VEGF peut également être stimulée par une activation de la voie PI3K-mTOR en particulier via une activation de HIF1 $\alpha$ . mTOR étant une molécule centrale impliquée dans le métabolisme cellulaire et la prolifération/survie cellulaire, l'inhibition de cette voie pourrait donc avoir des effets plus larges que la simple inhibition de l'angiogenèse.

### Rationnel du ciblage de la voie PI3K-Akt-mTOR

L'activation de récepteurs tyrosine kinase (EGFR/IGF1R...) recrute et active la PI3K qui phosphoryle un second messager lipidique, le PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>  $\Rightarrow$  PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub>, le rendant actif [45] (Fig. 2). C'est à ce stade que PTEN, un gène suppresseur de tumeur important, déphosphoryle le PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub>, terminant la cascade de signaux [46]. Le PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub> recrute Akt à la membrane plasmique et plusieurs kinases participant à son



**Figure 2**  
Voies de signalisations impliquées dans la tumorigenèse des tumeurs neuroendocrines et thérapies ciblées.

AS (analogues de la somatostatine), sstr (récepteurs à la somatostatine), IGF-1R (insulin-like growth factor receptor 1), VEGFR (vascular endothelial growth factor receptor), PDGFR (platelet derived growth factor receptor), PI3K (PI3 Kinase), mTOR (mammalian target of rapamycin), HIF1 $\alpha$  (hypoxia inducible factor 1 $\alpha$ ), MAPK (mitogen activated protein kinase), PTEN (Phosphatase and tensin homolog), TSC2 (Tuberous sclerosis protein 2), VHL (von Hippel Lindau), NF1 (neurofibromatosis 1).

activation. Akt phosphoryle alors de multiples cibles à visée anti-apoptotique (activation de la voie anti-apoptotique NF $\kappa$ B, inhibition de la voie proapoptotique FOXO), et stimule la prolifération et la survie cellulaires en activant mTOR [47-49]. mTOR est une sérine/thréonine kinase impliquée dans la régulation de la croissance, de la mobilité, de la survie cellulaire. mTOR intègre de multiples signaux provenant de facteurs de croissance et de sensors intracellulaires de l'abondance de nutriments (oxygène notamment) et du statut « redox » [47]. Le rôle de mTOR dans la cancérogenèse a été très étudié dans les carcinomes rénaux à cellules claires et particulièrement dans les familles avec syndrome de Von Hippel Lindau [50]. La protéine VHL, souvent inactivée dans les carcinomes à cellules claires familiaux ou sporadiques, contrôle négativement HIF1 $\alpha$ , un facteur clé stimulant l'angiogénèse dans des conditions d'hypoxie. HIF1 $\alpha$  peut également être activé par mTOR. Dans les cellules tumorales, aux apports en nutriments et en oxygène défaillants, l'activation aberrante de mTOR est une étape importante de la survie cellulaire [51]. Dans ces tumeurs les molécules inhibitrices de mTOR comme l'everolimus se sont montrées efficace [52].

Tout comme le VEGF, plusieurs syndromes génétiques au cours desquels les tumeurs neuroendocrines sont plus fréquentes présentent des mutations de cette voie. Il s'agit par exemple de la neurofibromatose ou de la sclérose tubéreuse de Bourneville au cours desquelles deux inhibiteurs de mTOR, NF1 et TSC2 respectivement, sont inactivés. Ici encore les modèles cellulaires et murins ont mis en évidence le rôle critique de cette voie et ouvert la voie à l'utilisation de thérapies spécifiques. La rapamycine, un inhibiteur spécifique de mTOR, ralentit de façon significative la croissance de lignées cellulaires dérivées de tumeurs neuroendocrines, aussi bien en culture qu'après xéno greffe chez la souris [53,54]. Un effet similaire était obtenu avec une molécule inhibitrice de la PI3K ou une inactivation d'Akt [55]. Un autre inhibiteur de mTOR, l'everolimus, autorisé de longue date pour une utilisation chez l'homme comme immunosuppresseur, a démontré des effets antitumoraux comparables [56]. Ces expériences ont cependant mis en évidence une boucle de rétrocontrôle activant Akt lorsque mTOR était inhibé, suggérant un possible mécanisme d'échappement et la nécessité de cibler la voie à plusieurs étages afin d'obtenir une inhibition efficace [54,57].

Ces données précliniques suggérant le rôle clé de cette voie dans la croissance des tumeurs neuroendocrines ont été confirmées lors d'études sur les tumeurs humaines. Les travaux de Missiaglia et coll., dans lesquels ont été comparés les profils d'expression d'îlots de Langerhans et de tumeurs neuroendocrines, ont montré une diminution de l'expression de deux inhibiteurs clé de mTOR, TSC2 et PTEN [58]. La perte de PTEN avait été suggérée par d'autres équipes comme une étape importante dans la cancérogenèse [59] et le séquençage exomique de plusieurs tumeurs a mis en évidence des mutations inactivatrices de PTEN (7,3 %), TSC2 (8,8 %) et activatrices de la PI3K (1,4 %) [60].

L'intérêt du ciblage de mTOR a été confirmé dès les premières études cliniques utilisant entre autre l'everolimus, seul ou en combinaison avec un analogue de la somatostatine [42,61].

### Rationnel d'utilisation des agonistes de la somatostatine

Les récepteurs à la somatostatine, au nombre de 5, sont impliqués dans de multiples fonctions dans les tissus normaux, notamment le contrôle de la prolifération cellulaire. Leur activation par la somatostatine ou des analogues synthétiques induit l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose (revue dans [62]) en partie par la diminution de l'activation des voies MAPK et PI3K-mTOR (revue dans [63]). L'étude des lignées cellulaires et des tumeurs neuroendocrines bien différenciées ont mis en évidence une expression quasi-constante du récepteur 2 à la somatostatine (sstr2) et une expression variable mais fréquente des autres récepteurs (revue dans [62]). Cette expression est d'ailleurs à l'origine de la performance des examens d'imagerie basés sur les traceurs analogues basés sur l'octréotide. Les analogues se sont également montrés très efficaces dans le contrôle des symptômes des tumeurs fonctionnelles.

L'abondance de récepteurs à la somatostatine et leurs effets anti-prolifératifs en font donc une cible de choix. La dernière étude prospective randomisée en double aveugle comparant l'octréotide LAR à un placebo (PROMID) a d'ailleurs montré un bénéfice net chez les patients traités [64].

L'expérience de l'utilisation de ces thérapies ciblées a mis en évidence deux problèmes à résoudre : 1) existe-t-il des critères permettant de sélectionner les patients à forte probabilité de réponse (ou l'inverse) ? 2) comment éviter l'apparition de résistance à ces thérapies et la reprise de la progression tumorale ? Il n'y a pour l'instant pas de réponse à la première question pour les tumeurs neuroendocrines. Des algorithmes prédictifs commencent à émerger dans d'autres types tumoraux basés sur des combinatoires d'expression génique ou protéique et de critères histopathologiques. Concernant l'échappement aux thérapies ciblées, il semble que l'association de plusieurs molécules ciblant la même voie à plusieurs niveaux ou des voies distinctes aux interactions fortes, soit prometteuse. Par exemple, l'inhibition de mTOR par l'everolimus entraîne une activation d'Akt par un rétrocontrôle positif, diminuant son effet anti-prolifératif. Les inhibiteurs doubles (PI3K + mTOR) contournent partiellement ce problème et sont plus efficaces que l'everolimus seul [57]. L'association d'un analogue de la somatostatine diminue également l'activation d'Akt et potentialise l'everolimus *in vitro* [65], chez le rat [66] et diminue la sécrétion de VEGF [67]. Ces données ont été récemment confirmées chez l'homme [68]. Cibler simultanément deux voies distinctes semble également efficace. Zitzmann et coll. ont montré *in vitro*, dans des lignées cellulaires dérivées de tumeurs neuroendocrines, un effet synergique de l'inhibition des voies PI3K/mTOR et Ras/Raf/MEK/Erk [57].

### Autres thérapies ciblées dont l'efficacité semble moindre

La famille des récepteur tyrosine kinase transmembranaires ErbB, à laquelle appartient l'EGFR, Her2/Neu... participe activement



dans le développement tumoral et est la cible de plusieurs thérapies dont l'efficacité est reconnue dans les cancers colorectaux, pulmonaires ou mammaires. Les tumeurs neuroendocrines expriment l'EGFR et ce dernier présente des phosphorylations de son domaine intracellulaire suggérant son activation [69]. Cependant les mutations activatrices présentent notamment dans les adénocarcinomes pulmonaires ne sont pas retrouvées [70] et le gefitinib, une molécule inhibitrice du domaine tyrosine kinase de l'EGFR n'a pas montré d'efficacité [71]. Her2/Neu est très rarement exprimé (Goebel 2002) et il n'y a pas de publication sur une éventuelle efficacité du trastuzumab.

L'expression de C-KIT (CD117) est très variable selon les publications [72,73] et les mutations activatrices semblent très rares [74]. PDGFR $\alpha$  est exprimé par les cellules tumorales et les cellules péricytaires [75]. Cependant les études utilisant l'imatinib, un inhibiteur du domaine tyrosine kinase de c-KIT et PDGFR $\alpha$  se sont révélées décevantes [76].

IGF1R, un récepteur tyrosine kinase exprimé dans les tumeurs neuroendocrines semble promouvoir la croissance tumorale de façon PI3K/mTOR dépendante et le niveau de son ligand, IGF1, est diminué par l'administration d'analogues de la somatostatine [77,78]. L'administration d'anticorps humanisé anti-IGF1R n'a pas montré d'efficacité mais une utilisation couplée à l'everolimus pourrait diminuer la rétro-activation de la voie.

## ■ Conclusion

Les constatations histologiques et radiologiques puis les expérimentations *in vitro* et *in vivo* ont clairement démontré le rôle clé de l'angiogénèse dans la croissance des tumeurs neuroendocrines. Les thérapies ciblant le VEGFR ont d'ailleurs prouvé leur efficacité. Il en est de même pour les molécules visant la voie mTOR. Devant la multiplication des thérapies et l'évolution lente de ces tumeurs, la prochaine étape consistera à sélectionner au mieux les répondants potentiels afin de déterminer le traitement le plus efficace pour un patient donné.

## ■ Références

- Weidner N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. *Am J Pathol* 1995;147(1):9-19.
- Couvelard A, Scoazec J-Y. [Angiogenesis and tumor pathology: an interim evaluation]. *Ann Pathol* 2003;23(4):293-6.
- Marion-Audibert A-M, Barel C, Gouysse G, Dumortier J, Pilleul F, Pourreyron C, et al. Low microvessel density is an unfavorable histoprognostic factor in pancreatic endocrine tumors. *Gastroenterology* 2003;125(4):1094-104.
- Couvelard A, O'Toole D, Turley H, Leek R, Sauvanet A, Degott C, et al. Microvascular density and hypoxia-inducible factor pathway in pancreatic endocrine tumours: negative correlation of microvascular density and VEGF expression with tumour progression. *Br J Cancer* 2005;92(1):94-101.
- Couvelard A, Deschamps L, Ravaud P, Baron G, Sauvanet A, Hentic O, et al. Heterogeneity of tumor prognostic markers: a reproducibility study applied to liver metastases of pancreatic endocrine tumors. *Mod Pathol* 2009;(2):273-81.
- Tan G, Cioc AM, Perez-Montiel D, Ellison EC, Frankel WL. Microvascular density does not correlate with histopathology and outcome in neuroendocrine tumors of the pancreas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2004;12(1):31-5.
- Deschamps L, Bacha D, Rebours V, Mebarki M, Bretagnol F, Panis Y, et al. The Expression of the Hypoxia Markers CA9 and CXCR4 Is Correlated with Survival in Patients with Neuroendocrine Tumours of the Ileum. *Neuroendocrinology* [Internet]. 2011 nov 29 [cité 2012 mars 12]; Available de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22133596>
- Besig S, Voland P, Baur DM, Perren A, Prinz C. Vascular endothelial growth factors, angiogenesis, and survival in human ileal enterochromaffin cell carcinoids. *Neuroendocrinology* 2009;90(4):402-15.
- Takahashi Y, Akishima-Fukasawa Y, Kobayashi N, Sano T, Kosuge T, Nimura Y, et al. Prognostic value of tumor architecture, tumor-associated vascular characteristics, and expression of angiogenic molecules in pancreatic endocrine tumors. *Clin Cancer Res* 2007;13(1):187-96.
- Zhang J, Jia Z, Li Q, Wang L, Rashid A, Zhu Z, et al. Elevated expression of vascular endothelial growth factor correlates with increased angiogenesis and decreased progression-free survival among patients with low-grade neuroendocrine tumors. *Cancer* 2007;109(8):1478-86.
- Solcia E, Klöppel G, Sobin L. Histological typing of endocrine tumours. WHO international histological classification of tumours. 2nd edition. Berlin: Springer; 2000.
- Poncet G, Villaume K, Walter T, Pourreyron C, Theillaumas A, Lépinasse F, et al. Angiogenesis and tumor progression in neuroendocrine digestive tumors. *J Surg Res* 2009;154(1):68-77.
- Lindhölm EB, Lyons J 3rd, Anthony CT, Boudreaux JP, Wang Y-Z, Woltering EA. Do Primary Neuroendocrine Tumors and Metastasis Have the Same Characteristics? *The Journal of Surgical Research* [Internet]. 2011 déc 21 [cité 2012 mars 12]; Available de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22341351>
- Kaelin WG Jr. Molecular basis of the VHL hereditary cancer syndrome. *Nat Rev Cancer* 2002;2(9):673-82.
- Maxwell PH, Wiesener MS, Chang GW, Clifford SC, Vaux EC, Cockman ME, et al. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature* 1999;399(6733):271-5.
- Carmeliet P, Dor Y, Herbert JM, Fukumura D, Brusselmans K, Dewerchin M, et al. Role of HIF-1 $\alpha$  in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumour angiogenesis. *Nature* 1998;394(6692):485-90.
- Périgny M, Hammel P, Corcos O, Laroche O, Giraud S, Richard S, et al. Pancreatic endocrine microadenomatosis in patients with von Hippel-Lindau disease: characterization by VHL/HIF pathway proteins expression. *Am J Surg Pathol* 2009;33(5):739-48.
- Speisky D, Duces A, Bièche I, Rebours V, Hammel P, Sauvanet A, et al. Molecular profiling of pancreatic neuroendocrine tumors in sporadic and von Hippel-Lindau patients. *Clinical Cancer Research* 2012;In press.
- Christofori G, Naik P, Hanahan D. Vascular endothelial growth factor and its receptors, flt-1 and flk-1, are expressed in normal pancreatic islets and throughout islet cell tumorigenesis. *Mol Endocrinol* 1995;9(12):1760-70.

20. Katoh R. Angiogenesis in endocrine glands: special reference to the expression of vascular endothelial growth factor. *Microsc. Res Tech* 2003;60(2):181-5.
21. Terris B, Scoazec JY, Rubbia L, Bregeaud L, Pepper MS, Ruzniewski P, et al. Expression of vascular endothelial growth factor in digestive neuroendocrine tumours. *Histopathology* 1998;32(2):133-8.
22. Maxwell PH, Ratcliffe PJ. Oxygen sensors and angiogenesis. *Semin. Cell Dev Biol* 2002;13(1):29-37.
23. Harris AL. Hypoxia--a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer* 2002;2(1):38-47.
24. Pugh CW, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nat Med* 2003;9(6):677-84.
25. Arvidsson Y, Bergström A, Arvidsson L, Kristiansson E, Ahlman H, Nilsson O. Hypoxia stimulates CXCR4 signalling in ileal carcinoids. *Endocr Relat Cancer* 2010;17(2):303-16.
26. Schioppa T, Uranchimeg B, Sacconi A, Biswas SK, Doni A, Rapisarda A, et al. Regulation of the chemokine receptor CXCR4 by hypoxia. *J Exp Med* 2003;198(9):1391-402.
27. Couvelard A, Deschamps L, Rebours V, Sauvanet A, Gatter K, Pezzella F, et al. Overexpression of the oxygen sensors PHD-1, PHD-2, PHD-3, and FIH 1s associated with tumor aggressiveness in pancreatic endocrine tumors. *Clin Cancer Res* 2008;14(20):6634-9.
28. Couvelard A, Hu J, Steers G, O'Toole D, Sauvanet A, Belghiti J, et al. Identification of potential therapeutic targets by gene-expression profiling in pancreatic endocrine tumors. *Gastroenterology* 2006;131(5):1597-610.
29. Duerr E-M, Mizukami Y, Ng A, Xavier RJ, Kikuchi H, Deshpande V, et al. Defining molecular classifications and targets in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors through DNA microarray analysis. *Endocr Relat Cancer* 2008;15(1):243-56.
30. Durkin AJ, Bloomston M, Yeatman TJ, Gilbert-Barnes E, Cojita D, Rosemurgy AS, et al. Differential expression of the Tie-2 receptor and its ligands in human pancreatic tumors. *J Am Coll Surg* 2004;199(5):724-31.
31. Rodallec M, Vilgrain V, Couvelard A, Rufat P, O'Toole D, Barrau V, et al. Endocrine pancreatic tumours and helical CT: contrast enhancement is correlated with microvascular density, histoprognostic factors and survival. *Pancreatology* 2006;6(1-2):77-85.
32. d'Assignies G, Couvelard A, Bahrami S, Vullierme M-P, Hammel P, Hentic O, et al. Pancreatic endocrine tumors: tumor blood flow assessed with perfusion CT reflects angiogenesis and correlates with prognostic factors. *Radiology* 2009;250(2):407-16.
33. Ng CS, Charnsangavej C, Wei W, Yao JC. Perfusion CT findings in patients with metastatic carcinoid tumors undergoing bevacizumab and interferon therapy. *Am J Roentgenol* 2011;196(3):569-76.
34. Rindi G, Klimstra DS, Arnold R, et al. Nomenclature and classification of neuroendocrine neoplasms of the digestive system. WHO classification of tumors of the digestive system. 4th edition. Lyon: IARC Press; p. 13-4.
35. Gnarr JR, Tory K, Weng Y, Schmidt L, Wei MH, Li H, et al. Mutations of the VHL tumour suppressor gene in renal carcinoma. *Nat Genet* 1994;7(1):85-90.
36. Hutson TE. Targeted therapies for the treatment of metastatic renal cell carcinoma: clinical evidence. *Oncologist* 2011;16 Suppl 2:14-22.
37. Hanahan D. Heritable formation of pancreatic beta-cell tumours in transgenic mice expressing recombinant insulin/simian virus 40 oncogenes. *Nature* 1985;315(6015):115-22.
38. Inoue M, Hager JH, Ferrara N, Gerber H-P, Hanahan D. VEGF-A has a critical, nonredundant role in angiogenic switching and pancreatic beta cell carcinogenesis. *Cancer Cell* 2002;1(2):193-202.
39. Casanovas O, Hicklin DJ, Bergers G, Hanahan D. Drug resistance by evasion of antiangiogenic targeting of VEGF signaling in late-stage pancreatic islet tumors. *Cancer Cell* 2005;8(4):299-309.
40. Pietras K, Hanahan D. A multitargeted, metronomic, and maximum-tolerated dose « chemo-switch » regimen is antiangiogenic, producing objective responses and survival benefit in a mouse model of cancer. *J Clin Oncol* 2005;23(5):939-52.
41. La Rosa S, Uccella S, Finzi G, Albarello L, Sessa F, Capella C. Localization of vascular endothelial growth factor and its receptors in digestive endocrine tumors: correlation with microvessel density and clinicopathologic features. *Hum Pathol* 2003;34(1):18-27.
42. Yao JC, Phan A, Hoff PM, Chen HX, Charnsangavej C, Yeung S-CJ, et al. Targeting vascular endothelial growth factor in advanced carcinoid tumor: a random assignment phase II study of depot octreotide with bevacizumab and pegylated interferon alpha-2b. *J Clin Oncol* 2008;26(8):1316-23.
43. Kulke MH, Lenz H-J, Meropol NJ, Posey J, Ryan DP, Picus J, et al. Activity of sunitinib in patients with advanced neuroendocrine tumors. *J Clin Oncol* 2008;26(20):3403-10.
44. Raymond E, Dahan L, Raoul J-L, Bang Y-J, Borbath I, Lombard-Bohas C, et al. Sunitinib malate for the treatment of pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med* 2011;364(6):501-13.
45. Pogodzinski MS, Sabri AN, Lewis JE, Olsen KD. Retrospective study and review of polymorphous low-grade adenocarcinoma. *Laryngoscope* 2006;116(12):2145-9.
46. Wahlberg P, Anderson H, Björklund A, Möller T, Perfekt R. Carcinoma of the parotid and submandibular glands--a study of survival in 2465 patients. *Oral Oncol* 2002;38(7):706-13.
47. Hay N, Sonenberg N. Upstream and downstream of mTOR. *Genes Dev* 2004;18(16):1926-45.
48. Tran H, Brunet A, Griffith EC, Greenberg ME. The many forks in FOXO's road. *Sci STKE* 2003;2003(172):RE5.
49. Ozes ON, Mayo LD, Gustin JA, Pfeffer SR, Pfeffer LM, Donner DB. NF-kappaB activation by tumour necrosis factor requires the Akt serine-threonine kinase. *Nature* 1999;401(6748):82-5.
50. Kaelin WG Jr. The von Hippel-Lindau tumor suppressor protein and clear cell renal carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007;13(2 Pt 2):680s-684s.
51. Brugarolas J, Lei K, Hurley RL, Manning BD, Reiling JH, Hafen E, et al. Regulation of mTOR function in response to hypoxia by REDD1 and the TSC1/TSC2 tumor suppressor complex. *Genes & Development* 2004;18(23):2893-2904.
52. Motzer RJ, Escudier B, Oudard S, Hutson TE, Porta C, Bracarda S, et al. Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial. *Lancet* 2008;372(9637):449-56.
53. Couderc C, Poncet G, Villaume K, Blanc M, Gadot N, Walter T, et al. Targeting the PI3K/mTOR pathway in murine endocrine cell lines: in vitro and in vivo effects on tumor cell growth. *Am J Pathol* 2011;178(1):336-44.
54. Moreno A, Akcakanat A, Munsell MF, Soni A, Yao JC, Meric-Bernstam F. Antitumor activity of rapamycin and octreotide as single agents or in combination in neuroendocrine tumors. *Endocr Relat Cancer* 2008;15(1):257-66.

55. Pitt SC, Chen H, Kunnimalaiyaan M. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling suppresses tumor cell proliferation and neuroendocrine marker expression in GI carcinoid tumors. *Ann Surg Oncol* 2009;16(10):2936-42.
56. Zitzmann K, De Toni EN, Brand S, Göke B, Meinecke J, Spöttl G, et al. The novel mTOR inhibitor RAD001 (everolimus) induces antiproliferative effects in human pancreatic neuroendocrine tumor cells. *Neuroendocrinology* 2007;85(1):54-60.
57. Zitzmann K, Rüden J von, Brand S, Göke B, Lichtl J, Spöttl G, et al. Compensatory activation of Akt in response to mTOR and Raf inhibitors - a rationale for dual-targeted therapy approaches in neuroendocrine tumor disease. *Cancer Lett* 2010;295(1):100-9.
58. Missiaglia E, Dalai I, Barbi S, Beghelli S, Falconi M, della Peruta M, et al. Pancreatic endocrine tumors: expression profiling evidences a role for AKT-mTOR pathway. *J Clin Oncol* 2010;28(2):245-55.
59. Wang L, Ignat A, Axiotis CA. Differential expression of the PTEN tumor suppressor protein in fetal and adult neuroendocrine tissues and tumors: progressive loss of PTEN expression in poorly differentiated neuroendocrine neoplasms. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2002;10(2):139-46.
60. Jiao Y, Shi C, Edil BH, de Wilde RF, Klimstra DS, Maitra A, et al. DAXX/ATRAX, MEN1, and mTOR pathway genes are frequently altered in pancreatic neuroendocrine tumors. *Science* 2011;331(6021):1199-203.
61. Yao JC, Shah MH, Ito T, Bohas CL, Wolin EM, Van Cutsem E, et al. Everolimus for advanced pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med* 2011;364(6):514-23.
62. Grozinsky-Glasberg S, Shimon I, Korbonits M, Grossman AB. Somatostatin analogues in the control of neuroendocrine tumours: efficacy and mechanisms. *Endocr Relat Cancer* 2008;15(3):701-20.
63. Florio T. Molecular mechanisms of the antiproliferative activity of somatostatin receptors (SSTRs) in neuroendocrine tumors. *Front Biosci* 2008;13:822-40.
64. Rinke A, Müller H-H, Schade-Brittinger C, Klose K-J, Barth P, Wied M, et al. Placebo-controlled, double-blind, prospective, randomized study on the effect of octreotide LAR in the control of tumor growth in patients with metastatic neuroendocrine midgut tumors: a report from the PROMID Study Group. *J Clin Oncol* 2009;27(28):4656-63.
65. Cerovac V, Monteserin-Garcia J, Rubinfeld H, Buchfelder M, Losa M, Florio T, et al. The somatostatin analogue octreotide confers sensitivity to rapamycin treatment on pituitary tumor cells. *Cancer Res* 2010;70(2):666-74.
66. Schmid HA. Preclinical evidences suggest new treatment options for endocrine disorders: Pasireotide (SOM230) and Everolimus (RAD001). *Ann Endocrinol (Paris)*. 2008;69(2):162-3.
67. Villaume K, Blanc M, Gouysse G, Walter T, Couderc C, Nejari M, et al. VEGF secretion by neuroendocrine tumor cells is inhibited by octreotide and by inhibitors of the PI3K/AKT/mTOR pathway. *Neuroendocrinology* 2010;91(3):268-78.
68. Pavel ME, Hainsworth JD, Baudin E, Peeters M, Hörsch D, Winkler RE, et al. Everolimus plus octreotide long-acting repeatable for the treatment of advanced neuroendocrine tumours associated with carcinoid syndrome (RADIANT-2): a randomised, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet* 2011;378(9808):2005-12.
69. Shah T, Hochhauser D, Frow R, Quaglia A, Dhillon AP, Caplin ME. Epidermal growth factor receptor expression and activation in neuroendocrine tumours. *J Neuroendocrinol* 2006;18(5):355-60.
70. Gilbert JA, Lloyd RV, Ames MM. Lack of mutations in EGFR in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med* 2005;353(2):209-10.
71. Hobday TJ, Holen K, Donehower R, et al. A phase II trial of gefitinib in patients with progressive metastatic neuroendocrine tumors: a Phase II Consortium study. *J Clin Oncol* 2006;24(18S):4043.
72. Kostoula V, Khan K, Savage K, Stubbs M, Quaglia A, Dhillon AP, et al. Expression of c-kit (CD117) in neuroendocrine tumours--a target for therapy? *Oncol Rep* 2005;13(4):643-7.
73. Koch CA, Gimm O, Vortmeyer AO, Al-Ali HK, Lamesch P, Ott R, et al. Does the expression of c-kit (CD117) in neuroendocrine tumors represent a target for therapy? *Ann N Y Acad Sci* 2006;1073:517-26.
74. Knösel T, Chen Y, Altendorf-Hofmann A, Danielczok C, Freesmeyer M, Settmacher U, et al. High KIT and PDGFRA are associated with shorter patients survival in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors, but mutations are a rare event. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012;138(3):397-403.
75. Chaudhry A, Funa K, Oberg K. Expression of growth factor peptides and their receptors in neuroendocrine tumors of the digestive system. *Acta Oncol* 1993;32(2):107-14.
76. Yao JC, Zhang JX, Rashid A, Yeung S-CJ, Szklaruk J, Hess K, et al. Clinical and in vitro studies of imatinib in advanced carcinoid tumors. *Clin Cancer Res* 2007;13(1):234-40.
77. von Wichert G, Jehle PM, Hoefflich A, Koschnick S, Dralle H, Wolf E, et al. Insulin-like growth factor-I is an autocrine regulator of chromogranin A secretion and growth in human neuroendocrine tumor cells. *Cancer Res* 2000;60(16):4573-81.
78. Pollak MN, Polychronakos C, Guyda H. Somatostatin analogue SMS 201-995 reduces serum IGF-I levels in patients with neoplasms potentially dependent on IGF-I. *Anticancer Res* 1989;9(4):889-91.