

La cellule cancéreuse et son microenvironnement

I/ Cancer : Généralités

- Du au dérèglement de la division de quelques unes des milliards de cellules qui constituent les êtres pluricellulaires (les tissus)
- Schématiquement on distingue 3 étapes dans la genèse du cancer :
 - **Initiation** : correspond à une lésion rapide et irréversible du DNA après exposition à un carcinogène (virus, radiothérapie ...)
 - **Promotion** : correspond à une exposition prolongée, répétée ou continue, à une substance qui entretient et stabilise la lésion initiée (stabilise la lésion mutationnelle)
 - **Progression** : correspond à l'acquisition des propriétés de multiplication non contrôlée par l'homéostasie, l'acquisition de l'indépendance, la perte de la différenciation, l'invasion locale et métastatique. La tumeur va être autonome.
- les deux premières (initiation et promotion) sont connues uniquement par les modèles expérimentaux et l'étude de l'épidémiologie des tumeurs humaines .

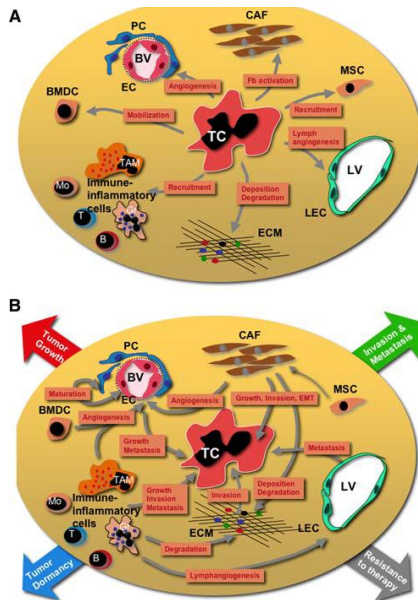
Propriété de la cellule cancéreuse :

- Invasion du tissu adjacent
- Extension locale
- Métastases à distance (car les cellules ont la propriété d'envahir les structures vasculaires).

Sur le plan histologique, un tissu cancéreux est constitué de cellules cancéreuses (composante épithéliale) et d'un tissu de soutien (stroma tumoral). Ce dernier permet la survie, la prolifération de la tumeur maligne. (diapo 4 : il s'agit d'un adénocarcinome car on voit un tissu glandulaire avec des structures tubulaires).

Le stroma (= tissu de soutien) est composé de :

- Matrice extra-cellulaire (permet la liaison avec les cellules) :
 - Glycoprotéines
 - Cytokines
- Facteurs de croissance
- Fibroblastes (s'il y a une prolifération carcinomateuse, il y a activation de ces fibroblastes qui deviennent des **myofibroblastes**)
- Cellules endothéliales (avec néoangiogénèse, pour avoir son propre apport d'afflux sanguin).



Sur ce schéma récapitulatif, on peut voir :

- La participation du système immunitaire
- Le remodelage constant de la MEC (avec protéolyse de la MEC)
- Une lymphangiogénèse

Ces processus favorisent la croissance tumorale, l'invasion métastatique.

Cellules dormantes : patient atteint d'un cancer sans métastases, il guérit, et 5 ans plus tard il a des méta dans le foie, les cellules cancéreuses étaient donc présentes mais non détectables.

Variabilité morphologique des tumeurs :

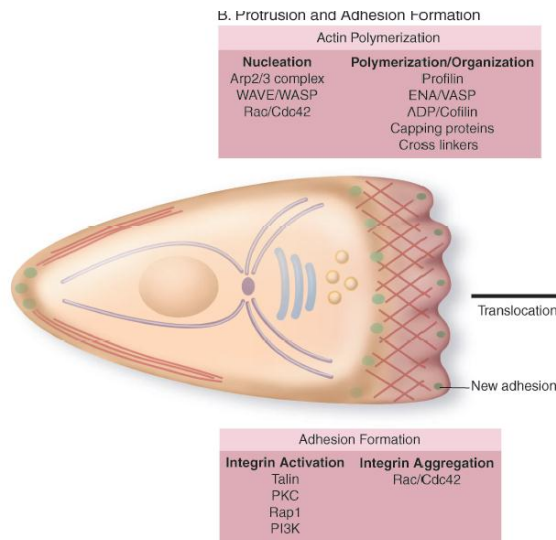
Plusieurs modes d'invasion : « Classifying collective cancer cell invasion »

Il existe une grande variabilité morphologique des tumeurs, elles sont différentes entre elles mais aussi à l'intérieur d'une même tumeur. Le comportement des cellules cancéreuses suggère que les cellules tumorales peuvent employer différents modes d'invasion cellulaires et moléculaires.

Il existe 4 catégories de migration cellulaire :

- **Migration « single-cell »** : une seule cellule migre, c'est lent, capacité de la cellule à migrer et à interagir avec la MEC (modification du cytosquelette+++), à fabriquer des enzymes etc...
- **« Multicellular streaming »** : phénomène rapide de migration par l'intermédiaire de chemokine ou facteurs de croissance (EGF). Les cellules migrent en groupe, elles sont liées. Le cytosquelette de chaque cellule agit indépendamment et réalise une force de traction sur la matrice avec adhésion intercellulaire transitoire
- **Migration et invasion cellulaire collective** : maintien de la cohésion cellulaire lors de la migration. Rôle du cytosquelette (protrusion, et

contractilité) des cellules. Le cytosquelette se modifie +++ . Importance des molécules d'adhésion cellulaire++



Modification du cytosquelette qui forme des protrusions, adhésion MEC.

- **Processus expansif** : phénomène passif, il y a un changement de positionnement des cellules par l'intermédiaire de la prolifération cellulaire puis un re-positionnement des cellules filles, l'expansion se fait au niveau du front d'invasion (c'est pas très clair tout ça mais aucune précision).

II/ La transition épithélio mésenchymateuse (TEM)

C'est un processus physiologique au cours de l'embryogenèse ou de la cicatrisation tissulaire. Il y a un changement au niveau du tissu qui est normalement un épithélium polarisé, il existe des jonctions entre cellules et cellules/MEC.

La TEM est un phénomène réversible. Les cellules acquièrent un phénotype mésenchymateux. Il y a donc une diminution des protéines responsables de l'adhésion cellulaire (cytokératines), et une augmentation de l'expression de la vimentine, de la N-cadhérine (phénotype mésenchymateux) qui permettent d'acquérir des propriétés migratoires.

Dans les processus métastatiques, le phénomène de TEM est réactivé et cela explique les propriétés invasives et de dissémination à distance.

La TEM est induite par beaucoup de choses. L'étude de ces inducteurs s'est beaucoup portée sur les récepteurs des tyrosines kinases, les facteurs de croissance (EGF, VEGF), voie de signalisation en rapport avec des molécules

d'adhésion interne cellulaire, la voie du TGF- β , certaines protéines de transcription dont l'expression va être inhibée (comme la diminution de l'expression de la E-cadhérine corrélée à l'activation du phénomène de TEM).

Dans les cancers humains, il y a énormément de biomarqueurs de la TEM (qui sont des facteurs pronostiques pour certains). **L'induction du phénomène de TEM est responsable de la chimiorésistance.**

La TEM engendre énormément d'avancées thérapeutiques. A ce jour, il existe un grand nombre de molécules thérapeutiques qui agissent surtout au niveau de récepteurs transmembranaires ou récepteurs au VEGF. Ces molécules réduisent, ralentissent ce phénomène de TEM.

III/ Cholangiocarcinomes intra hépatiques (CCIH)

Ce sont des adénocarcinomes développés aux dépens de l'épithélium biliaire. Le CCIH est le 2^e cancer primitif du foie. Il en existe 2 types :

- Périphérique : au dépens des petites voies biliaires
- CC hilaires ou péri hilaires : Voies biliaires de plus gros calibres

Ce sont des tumeurs à caractère hautement invasif et métastatique. Sa survie est < 5% à 5 ans. Le diagnostic est tardif (métastatique), et ce type de cancer a une très faible chimiosensibilité. Le seul traitement curatif est le traitement chirurgical mais la plupart des patients ne peuvent en bénéficier. Et même avec chirurgie, le taux de récurrences est très élevé.

Postulat : il y a peut-être un phénomène de TEM dans ces CCIH.

a) Les arguments morphologiques sont les suivants :

- CCs périphériques :
 - Nodules satellites (dissémination métastatiques intra-mésenchymateuse)
 - stroma tumoral très abondant
 - Emboles tumoraux endovasculaires
- CCs hilaires
 - Cellules tumorales indépendantes (peut-être un phénotype mésenchymateux).
 - Engainements périnerveux
 - Lymphophiles+++

b) Arguments phénotypiques

Plusieurs techniques utilisées :

- Tissu micro-array : bloc de paraffine, on sélectionne 3 spots à l'aide d'un système où l'on fait des carottes, et on les remet dans un bloc de paraffine vierge.
- Protéine array : on joue sur la complémentarité Ac-Ag. Permet de savoir s'il y a une différence d'expression protéique entre les 2 types de CCIH.

On remarque ainsi que dans les CC périphériques, il y a surexpression du VEGF, acquisition partielle d'un phénotype mésenchymateux (il n'y a plus d'expression de la cytokératine, augmentation de l'expression de la vimentine et de la E-cadhérine cytoplasmique qui normalement est membranaire). La perte d'expression des cytokératines est corrélée à l'invasion vasculaire, et la perte d'expression de la CK19 est corrélée à l'apparition de métastases.

c) Filamine A

Par cette approche, on a pu mettre en évidence une nouvelle protéine : la **filamine A**, identifiée par protéine array et secondairement confirmée par tissu-array.

Filamine A : protéine du cytosquelette qui se fixe aux filaments d'actine et qui participe aux modifications de conformation de la cellule

- Protéine liant les filaments non musculaire lisse d'actine
- Rôle dans la régulation dynamique de la morphologie et de la motilité cellulaire
- Implication dans la dissémination métastatique de cellules tumorales malignes (régulation de récepteurs de facteur de croissance)

La filamine A est normalement exprimée au niveau des cellules musculaires lisses. Or dans un canal biliaire intra lobulaire normal pas d'expression de cette protéine. Dans CCIH il y a expression de novo de la filamine A, et l'expression de la filamine A est corrélée à un moins bon pronostic.

- Expression de « novo » de la Filamine A dans les CC-IH
- Facteur pronostique
- Filamine A participe à l'agressivité et à la progression tumorale des CC-IH
- Perspectives de recherche:
 - Quels sont les mécanismes?
 - Rôle du VEGF? (car surexpression du VEGF dans CCIH)

Aujourd'hui, on cherche à étudier sur un modèle cellulaire de CC humains le rôle du VEGF A et de la Filamine A, pour voir si cela induit un phénomène de TEM.

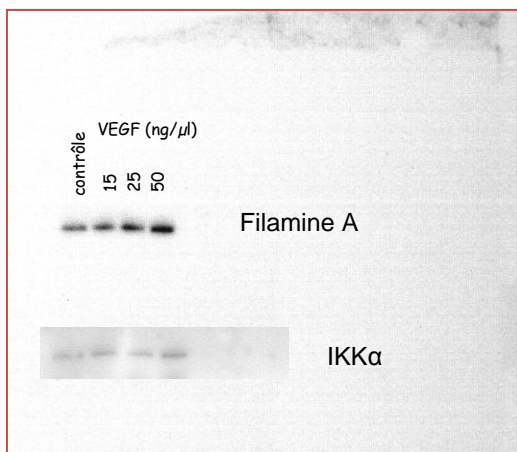
On doit sélectionner la lignée cellulaire qui s'approche le plus des lignées humaines. Pour cela, on caractérise 3 lignées d'un point de vue morphologique et phénotypique :

- Morphologique
 - Microscopie optique : aspect des cellules, polarité des cellules, espace intercellulaire,
- Phénotypique
 - Immunofluorescence : localisation E-cadhérine, B-caténine, ZO-1

Sur la lignée, on éteint l'expression de la filamine A par SiRNA.

SiRNA : transfection transitoire de SiRNA (ne va se trouver qu'au niveau du cytoplasme), SiRNA et la protéine cible (filamine A ici) vont être complémentaires. Il y a alors un système qui va venir dégrader le complexe donc on éteint la traduction de la protéine.

En l'éteignant, on souhaite étudier le rôle de cette protéine dans les phénomènes de prolifération, d'invasion des cellules. On espère qu'en l'inhibant on va observer une diminution de l'invasion, de la prolifération et de la migration.



Ici on voit qu'à 15 et 25 il y a une surexpression de la filamine A sous l'effet du VEGF (« pour l'instant on n'en est que la »... super 😊).