



Cellules de cancer du sein, vues au microscope électronique. Celles en violet sont encore actives, celles en jaune sont en train de mourir.

Khuloud T. Al-Jamal, David McCarthy & Izzat Suffian

UN NOUVEAU REGARD

Le cancer résulte certes de mutations génétiques, mais est-ce suffisant pour expliquer son apparition et son développement ? Non. Depuis quelques années, les biologistes envisagent la maladie sous d'autres angles, souvent complémentaires de la génétique, qui permettent de résoudre certaines énigmes. Ainsi, on découvre le rôle des contraintes mécaniques, des processus épigénétiques, du microenvironnement cellulaire, des cellules souches, de la compétition entre cellules cancéreuses... dans le déclenchement et la dynamique des tumeurs. À chaque fois, le changement de point de vue ouvre des pistes pour de nouvelles voies thérapeutiques.

EMMANUEL FARGE



« L'émergence des organes chez l'embryon révèle le rôle des contraintes mécaniques dans le cancer »

Quand a-t-on découvert les liens entre contraintes mécaniques et cancérogenèse ?

Emmanuel Farge : Dans le domaine, un des travaux pionniers a été mené dans les années 1990 par Valerie Weaver, à l'université de Californie à San Francisco, et Mina Bissell, du Berkeley Lab. Elles ont montré que les cellules réagissent à l'augmentation de la rigidité de leur substrat en multipliant le nombre de leurs points d'adhésion à ce substrat. En conséquence, les cellules placées sur un substrat rigide interagissent préférentiellement avec ce dernier plutôt qu'avec leurs voisines. Ainsi, des cellules qui normalement coopèrent pour former des épithéliums bien organisés se désolidarisent et s'étalent sur un substrat rigide.

Pour relier ces travaux au cancer, on doit rappeler que les tumeurs bien développées créent une fibrose qui est en soi un support rigide pour les cellules. Cette

BIO EXPRESS

22 MARS 1966
Naissance à Paris.

1992
Thèse de biophysique moléculaire.

1993
Maître de conférences à l'université Paris-Diderot et à l'institut Pasteur.

1996
Responsable du groupe Mécanique et génétique du développement embryonnaire et tumoral, à l'institut Curie, à Paris.

2006
Directeur de recherche à l'Inserm.

fibrose est constituée de la matrice extracellulaire, riche en collagène. Dans une tumeur bien installée, elle se densifie. Les médecins le savent bien : lors d'une palpation, ils traquent les zones dures, signe d'une tumorigenèse avancée. Ainsi, dans une tumeur rigide, les cellules cancéreuses s'émancipent de leurs voisines

Les cellules cancéreuses choisissent donc d'interagir avec le substrat plutôt qu'avec leurs congénères ?

Emmanuel Farge : La cellule sonde en permanence la rigidité de son substrat grâce à un réseau de protéines (l'actine et la myosine) contractile et connecté aux jonctions qui ancrent les cellules entre elles (*voir les Repères, page 6*). Quand les cellules tirent sur un substrat mou, celui-ci suit le mouvement et les jonctions se déforment peu : les molécules qui les composent ne changent pas de conformation. Ce n'est pas le cas avec un substrat dur. Parmi les protéines des jonctions, la taline adopte une nouvelle

conformation, ce qui a pour effet, après une cascade de réactions biochimiques, l'ajout d'autres jonctions dans la cellule et de favoriser son interaction avec le substrat plutôt qu'avec ses semblables.

C'est assez frappant. Quand on cultive des cellules épithéliales de la glande mammaire sur un substrat, elles s'assemblent en feuillets et forment des petits canaux (par où normalement circule le lait). Lorsqu'on augmente la rigidité du substrat, les cellules perdent leur cohésion et préfèrent adhérer au substrat rigide. À l'inverse, des cellules tumorales cultivées sur des substrats mous redeviennent normales. Ainsi, une compétition a lieu entre la tendance des cellules à adhérer ensemble pour former des structures physiologiques et celle à adhérer avec un substrat pour finalement former des structures pathologiques, invasives, tumorales.

Ce que vous décrivez s'applique pour des tumeurs déjà installées, qu'en est-il en amont ?

Emmanuel Farge : En effet, l'influence de la rigidité de l'environnement ne peut pas se faire sentir durant les étapes les plus précoces de la tumorigenèse. À ce stade-là, nous avons récemment mis en évidence le rôle de la pression de croissance tumorale. Dans une tumeur qui démarre, l'hyperprolifération anarchique des cellules, dans un environnement géométrique constant et contraint, génère de la pression. Nous avons découvert que cette pression induit l'activation de voies biochimiques tumorigènes dans les tissus sains qui environnent le foyer tumoral. En d'autres termes, des cellules saines dépourvues de mutations mais comprimées deviennent tumorales !

Cette fois, cette transformation requiert la bêta-caténine, une autre protéine des jonctions qui assure le relais mécanique entre l'extérieur et le cytosquelette intracellulaire. Soumise aux contraintes mécaniques, elle changerait de forme et rendrait accessible un site où une autre protéine, nommée SARC, fixe un groupe chimique phosphorylé. La bêta-caténine ainsi modifiée n'interagit plus avec les jonctions et devient un facteur de transcription qui peut rejoindre le noyau et y déclencher l'expression de gènes tumoraux...

On distingue deux situations selon la présence de mutations ou non. C'est que, dans le cytoplasme, veillent des gardiens, en l'occurrence des complexes nommés GSK 3APC chargés d'envoyer sur la voie de dégradation la bêta-caténine phosphorylée avant qu'elle n'entre dans le noyau. Dans

une cellule dépourvue de mutations, ce processus est efficace, même si quelques molécules de bêta-caténine relarguées des jonctions après sollicitation mécanique parviennent tout de même au noyau. Il y a alors hyperprolifération cellulaire, mais pas de tumorigenèse. Ce serait l'équivalent du déclenchement de tumeurs bénignes.

Toutefois, quand l'un des gènes codant la protéine APC (un élément du complexe GSK 3APC) est muté, l'efficacité des gardiens est réduite de moitié. Cette fois, la quantité de bêta-caténine qui atteint le noyau est suffisante pour déclencher la tumorigenèse.

On est au carrefour de la mécanique et de la génétique...

Emmanuel Farge : Tout à fait. Deux types de paramètres différents, l'un mécanique et l'autre génétique, doivent être anormaux et pathologiques pour mener vraiment à la tumorigenèse. Deux points intéressants sont à mentionner. D'abord, une seule mutation sur une copie du gène APC (nos cellules ont deux exemplaires de chaque gène) suffit pour développer une tumorigenèse (après stimulation mécanique) alors que le plus souvent, plusieurs mutations sont nécessaires.

Ensuite, cette mutation constitue une prédisposition pour 80 à 85% des tumeurs du côlon chez l'humain comme chez la souris. Un individu ayant hérité ou acquis cette mutation pourrait alors être particulièrement sensible aux contraintes mécaniques anormales, tumorigènes, mais aussi à celles résultant d'un transit intestinal difficile.

D'un point de vue général, ces observations rejoignent les résultats de beaucoup d'études épidémiologiques montrant que la carte génétique des individus ne suffit pas toujours à prédire l'apparition de tel ou tel type de tumeur. Elle doit être associée à l'examen de l'environnement, c'est-à-dire du mode de vie, pour prétendre renseigner sur les risques de développer des tumeurs. L'approche épidémiologique est le plus souvent complexe, car on doit évaluer l'effet de

nombreux facteurs, tels la pollution, le tabac et même le chlore des piscines.

Notre cas est plus simple, parce qu'il relève du microenvironnement : une contrainte mécanique, due à une tumeur existante et une mutation unique. Mais nos observations coïncident bien avec les modèles qui émergent à un niveau beaucoup plus macroscopique, comportemental.

Pour aller au bout de l'idée, rappelons que par le passé, deux écoles de pensée se sont succédé en biologie. Avant le milieu du xx^e siècle, les scientifiques tel D'Arcy Thompson étaient très focalisés sur la mécanique du développement des formes. Et puis, l'avènement de la génétique, de la biochimie et de la biologie moléculaire a orienté la discipline vers la génétique.

Ce n'est qu'aujourd'hui que les deux visions commencent à se réconcilier. Et de fait, on le voit ici, ce rapprochement est indispensable pour bien comprendre les phénomènes en jeu dans la tumorigenèse, en particulier ceux résultant du couplage fort entre paramètres pathologiques physiques et génétiques.

À propos de morphogenèse, quels liens unissent les mécanismes que vous mettez en évidence et l'embryogenèse ?

Emmanuel Farge : Il se trouve que la bêta-caténine, dont on a vu le rôle clé de messenger entre contraintes mécaniques et tumorigenèse, a d'abord fait parler d'elle en embryogenèse, il y a une quinzaine d'années. À l'époque, quand je suis arrivé à l'Institut Curie, on savait qu'un certain nombre de gènes régulent les changements de forme de l'embryon, par exemple pour créer un tube digestif. Il me semblait difficile d'imaginer que le génome régisse cette morphogenèse sans aucun « contrôle qualité » : à des moments clés du développement, le génome devait être « informé » de l'état d'avancement de la forme qu'il régule.

J'avais alors proposé que l'expression des gènes du développement embryonnaire

➤ puisse être mécanosensible et ainsi dépendre de l'état d'élaboration de la morphologie de l'embryon. L'embryogenèse serait alors le fruit de cette interaction permanente entre l'expression des gènes du développement et le développement de la forme physique. C'est bien le cas, nous l'avons montré, et le capteur mécanique, le messenger entre la mécanique et la génétique n'est autre que la bêta-caténine. Elle fonctionne ici de la même façon: phospho-

tique, par exemple en perturbant le réseau de collagène qui la constitue.

Toutefois, quand la tumeur est vraiment installée, un tel traitement accélère paradoxalement l'invasivité et la progression tumorale. On ne comprend pas bien pourquoi. Peut-être qu'en relâchant la matrice extracellulaire, les «médicaments» ont pour effet de libérer les cellules tumorales de leur carcan: elles peuvent aller faire des métastases.

« On freine l'invasivité de la tumeur en diminuant la rigidité de la matrice de collagène qui l'entoure »

rylée en réponse aux sollicitations mécaniques, elle est libérée des jonctions et rejoint le noyau où, dans le cas de l'embryogenèse, elle régule l'expression de certains gènes du développement embryonnaire.

Par exemple, le gène *twist* est mécanosensible sous contrôle de la bêta-caténine dans le développement embryonnaire et est aussi un gène impliqué dans l'invasivité tumorale. Plus important, la présence de bêta-caténine dans le noyau est un signe de développement tumoral dans un très grand nombre de tumeurs solides (de la prostate, du côlon, du sein...). C'est un élément diagnostique important de tumorigenèse.

Pour résumer, les contraintes mécaniques pathologiques dans le tissu adulte réactivent accidentellement des programmes embryogéniques *via* la bêta-caténine et induisent une croissance et une invasivité cellulaires qui n'ont normalement plus lieu d'être à l'âge adulte. La perte d'adhésion cellulaire et l'invasivité qui en découlent sont de fait utiles durant l'embryogenèse, mais ces phénomènes sont dangereux à l'âge adulte.

À partir de ces liens mis au jour, peut-on imaginer des pistes thérapeutiques ?

Emmanuel Farge : Oui, au stade pré-clinique sur des souris, on parvient à freiner l'invasivité tumorale en diminuant la rigidité de la matrice extracellulaire fibro-

Cette voie reste néanmoins très intéressante, et l'on doit continuer d'expérimenter pour comprendre les effets secondaires auxquels on ne pense pas *a priori*. Dans un système aussi complexe qu'une tumeur, perturber la structure physique n'est pas anodin.

D'autres expérimentations explorent, de façon plus classique, le blocage par voie pharmacologique des voies mécanosensibles tumorigènes. Nous travaillons sur ce sujet, et j'espère un jour avoir de bonnes nouvelles à annoncer.

Puisque cette voie de la bêta-caténine n'a plus de rôle physiologique chez l'adulte, peut-on imaginer, en théorie, des effets secondaires minimes ?

Emmanuel Farge : Cette voie joue très probablement un rôle physiologique dans certains organes. En ciblant bien la tumeur, on peut espérer une bonne spécificité et peu d'effets secondaires, mais c'est un peu tôt pour le dire.

Notre objectif n'est pas uniquement d'avoir une meilleure connaissance du processus, nous voulons aussi contribuer à la lutte contre la maladie. Cependant, ces mécanismes de mécanosensibilité n'ont jamais vraiment été pris en compte, à la fois pour des raisons pratiques (la manipulation mécanique des tissus *in vivo* est très difficile), mais aussi historiques,

les approches mécanique et génétique commençant juste à s'associer.

En conséquence, il est encore difficile d'évaluer l'impact de ces mécanismes dans le processus de développement tumoral. Mais si la bêta-caténine est vraiment centrale dans beaucoup de types de cancer, nous aurions alors l'espoir d'être utiles dans la lutte contre cette maladie de façon assez large.

Peut-on dire quelques mots sur le rôle de la chromatine et des microARN, que vous décrivez dans un article récent ?

Emmanuel Farge : Nous avons jusqu'ici décrit ce qui se passe dans les jonctions pour ce qui est du rôle de la fibrose dans l'induction tumorale dans les stades tardifs et celui de la pression de croissance tumorale dans les stades précoces. Mais il y a un lien mécanique direct entre les jonctions et la chromatine, c'est-à-dire l'ensemble de l'ADN dans le noyau.

Pour comprendre, on doit voir la cellule comme un système intégré, mécaniquement couplé à toutes les échelles. Le cytosquelette est associé *via* la bêta-caténine aux jonctions, celles-ci reliant ensemble les cellules. À l'intérieur, le cytosquelette est par ailleurs lié à la membrane du noyau par d'autres types de jonctions elles-mêmes connectées à la chromatine. Au final, des contraintes mécaniques appliquées aux cellules se répercutent jusqu'à la chromatine.

On peut donc imaginer que des sites d'interaction de facteurs de transcription avec certains gènes, d'ordinaire cachés, se découvrent lorsque la cellule est soumise à des contraintes. Tout est couplé ! Aujourd'hui, beaucoup de recherches sont menées dans ce domaine. Et l'on découvre des mécanismes de contrôle de l'expression des gènes fondés sur l'interaction du cytosquelette et du noyau, qui font par exemple intervenir la lamine, une protéine qui tapisse l'intérieur de la membrane des noyaux.

Quant aux microARN, ils ajoutent une couche supplémentaire de régulation dans l'expression génique et protéique. De fait, ces molécules jouent un rôle essentiel dans le contrôle de la synthèse des protéines et de l'expression des gènes. Or un certain nombre d'entre eux seraient produits en réponse à des sollicitations mécaniques. C'est tout un champ d'investigations qui s'ouvre encore, révélant la très grande complexité du problème.

Dans ce même article, vous évoquez la pression interstitielle et celle du sang, qu'en est-il ?

Emmanuel Farge : Effectivement, à des stades de développement tumoral avancés, les tumeurs sont caractérisées par une pression interne importante, de 5 à 10 fois celle qui règne dans les tissus. Cette surpression résulte de l'hyperprolifération des cellules dans un contexte fibrotique assez rigide : les cellules se multiplient dans un espace contraint. La conséquence est la fermeture partielle des vaisseaux sanguins.

Plusieurs phénomènes s'ensuivent. D'abord, la tumeur est moins bien alimentée en oxygène, cette hypoxie activant des voies de transduction tumorigènes qui se traduisent par un ralentissement du flux sanguin. Or des expériences de microfluidique ont montré qu'une tumeur soumise à des flux hydrodynamiques sanguins réduits active des programmes tumorigènes, en l'occurrence la création de nouveaux vaisseaux sanguins. La tumeur s'en trouve hypervascularisée et mieux nourrie qu'au départ. La boucle est bouclée.

Par ailleurs, les cellules baignent dans un liquide dit interstitiel. Au centre de la tumeur, la pression de ce liquide augmente à mesure de la prolifération cellulaire. Les flux hydrodynamiques qui en résultent ont pour effet de déclencher, grâce à un signal mécanique, diverses réactions en particulier de la part des fibroblastes. Dans ces cellules qui produisent la matrice extracellulaire, la voie dite du TGF bêta est activée. La conséquence ? Les fibroblastes migrent et participent au remodelage de la matrice extracellulaire, favorisant ainsi l'invasivité tumorale et la vascularisation.

De façon imagée, la tumeur réagit à des stress (hypoxie, pression...), qu'ils viennent de l'extérieur ou qu'elle les génère elle-même, et en tire parti. C'est en fait une sorte de réaction en chaîne.

N'y a-t-il aucun élément mécanique qui aille en sens contraire, qui nuirait à la tumorigénèse ?

Emmanuel Farge : Le seul élément de ce type que l'on connaisse a été repéré dans les années 1970. À cette époque, les biologistes ont constaté que les cellules à confluence, quand elles se touchent toutes, arrêtent de croître. Lors d'une culture cellulaire en deux dimensions, les cellules se multiplient, de façon exponentielle, jusqu'à ce qu'elles tapissent la surface. Une des hypothèses avancées pour expliquer ce comportement invoquait un signal mécanique : la pression inhiberait en fait le cycle cellulaire, tumoral ou normal.

Et en effet, cela a été récemment démontré en trois dimensions, la pression exercée sur les cellules cancéreuses pourrait inhiber la croissance tumorale. Cependant, ce phénomène est bien seul à côté de tous ceux qui amplifient la tumorigénèse. La question est de savoir dans quelles conditions les freins pourraient dominer les accélérateurs. La réponse sera sans doute difficile à obtenir *in vivo*, mais c'est une piste intéressante à suivre.

Comment testez-vous *in vivo* le rôle des contraintes mécaniques ?

Emmanuel Farge : Nous avons mis au point une technique qui consiste à magnétiser les tissus. Nous parvenons à insérer des petits aimants (des liposomes magnétiques) dans certaines cellules du côlon où ils restent stables jusqu'à deux mois.

Nous avons été surpris de voir chez un arthropode, la drosophile, que l'activation mécanique de l'expression du gène *twist* par le biais de la mécanosensibilité de la bêta-caténine était requise de façon vitale pour la formation du tube gastrique antérieur, mais aussi le mésoderme, un feuillet embryonnaire à partir duquel tous les autres organes se développent.

Pour vérifier l'ubiquité du mécanisme, nous l'avons recherché dans un vertébré, le poisson zèbre. Là encore, la bêta-caténine est activée de façon identique, par la phosphorylation du même site, en réponse à un des premiers mouvements au sein de l'embryon, et détermine de même le mésoderme. Les mouvements initiateurs sont distincts chez les deux espèces, mais la chaîne des événements est commune.

« Plus elle grossit, plus la tumeur doit réagir à des stress. Mais elle en tire parti, comme dans une réaction en chaîne »

Avec des champs magnétiques, on peut alors mimer la pression de croissance tumorale et observer l'hyperprolifération cellulaire qui en découle.

Quel est l'impact de la mécanosensibilité de la voie de la bêta-caténine dans l'ensemble du vivant ?

Emmanuel Farge : Le site mécanosensible de la bêta-caténine, impliqué dans la régulation mécanique de l'embryogenèse et la dérégulation mécanique dans la tumorigénèse est conservé chez tous les êtres multicellulaires depuis 800 millions à 1 milliard d'années. C'est très étonnant. Un tel site est nécessairement crucial pour le développement.

Il est indispensable pour former un être adulte chez qui il reste ensuite potentiellement mécanosensible en réponse à des contraintes pathologiques. Sa nécessité dans le développement embryonnaire serait donc une des causes inévitables de son rôle dans l'amplification du processus tumoral.

Nous sommes intimement convaincus que mieux on comprend comment la bêta-caténine est impliquée dans le développement embryonnaire qui conditionne l'émergence des organes, mieux on comprendra comment elle est dérégulée dans des structures où les contraintes sont pathologiques, notamment dans le cas de la tumorigénèse.

Que déduire de la conservation de ces mécanismes chez la plupart des espèces animales ?

Emmanuel Farge : On pourrait en déduire que les processus pathologiques associés à cette mécanosensibilité de la bêta-caténine sont potentiellement à l'œuvre dans tous les épithéliums, dans toute espèce animale et donc dans tout type de cancer. Ainsi, ce que l'on découvre à propos d'un cancer du côlon chez la souris pourrait s'appliquer à tout organe et tout organisme, y compris humain. ■

PROPOS RECUEILLIS PAR LOÏC MANGIN

