

Avant de décrire ces développements, rappelons quelques connaissances de base sur les tumeurs cancéreuses et leurs métastases.

La plupart des cancers impliquent des tumeurs solides, c'est-à-dire des amas de cellules localisés dans un tissu ou un organe tels que le sein, la prostate, le colon, le poumon... L'apparition *in situ* de nouveaux vaisseaux sanguins favorise la croissance de la tumeur primaire. Puis certaines cellules, plus agressives que les autres, se décrochent de la tumeur par divers mécanismes (diminution de l'expression de protéines d'adhésion, sécrétion d'enzymes lytiques...). Devenues mobiles et invasives, ces cellules gagnent la circulation sanguine ou lymphatique, de façon isolée ou en petits groupes, atteignent des organes distants (la moelle osseuse, le foie, les poumons, le cerveau...) et y constituent de nouveaux foyers ou micrométastases. Ces «cellules tumorales circulantes», ou CTC, deviennent ainsi des «cellules tumorales disséminées» (CTD). Elles s'épanouissent dans leurs nouveaux environnements et peuvent rester dans un état de dormance durant de nombreuses années, bien après l'élimination chirurgicale de la tumeur primaire.

QUAND LA TUMEUR ESSAIME

Parfois, à la faveur d'événements non totalement élucidés, les CTD se développent sur place et donnent lieu à des métastases macroscopiques. Mais les CTD peuvent aussi circuler de nouveau sous la forme de CTC, essaimer, coloniser d'autres organes et être à l'origine de métastases secondaires, voire retourner sur le site de la tumeur primaire et engendrer des clones métastatiques agressifs.

Dans différents types de cancers, la moelle osseuse apparaît comme un organe de prédilection pour les CTD, c'est-à-dire un «réservoir-étape» avant une nouvelle colonisation d'organes distants. Aussi, dans le passé, pour comprendre les mécanismes biologiques régulant les CTD, les cancérologues effectuaient des prélèvements de moelle osseuse. Or il s'agit là d'actes invasifs. Aujourd'hui, la détection de CTC dans le sang se révèle plus pertinente, non seulement pour étudier et évaluer la progression tumorale, mais aussi parce qu'elle est prometteuse en termes de pronostic et de suivi thérapeutique.

Cette nouvelle approche, assimilable à une «biopsie liquide», expression introduite en 2010 par Catherine Alix-Panabières (l'une d'entre nous) et son collaborateur Klaus Pantel, du CHU de Hambourg, en Allemagne, se définit donc comme un test sanguin non invasif, très sensible, réalisable facilement et de manière répétée. Surtout, elle permet d'analyser à n'importe quel moment des CTC issues de la tumeur primaire ou des métastases. La définition de la biopsie liquide s'élargit de nos jours à l'analyse de l'ADN tumoral circulant

(ADNtc), des vésicules extracellulaires (exosomes), des microARN circulants et des plaquettes, sans oublier le microenvironnement circulant que constituent les cellules du système immunitaire du patient.

Plus précisément, à partir d'un simple prélèvement sanguin, on peut séparer les cellules sanguines et les CTC du plasma, le composant liquide du sang. Et dans ce dernier, il est possible de détecter l'ADN tumoral circulant provenant de cellules tumorales mortes. On dispose en effet aujourd'hui de méthodes ultrasensibles pour détecter, dans un «océan» d'ADN circulant normal, des quantités infimes d'ADNtc, et l'on est aussi capable d'identifier des mutations et autres changements dans ce dernier. Cela permet de détecter précocement un cancer ou une récurrence.

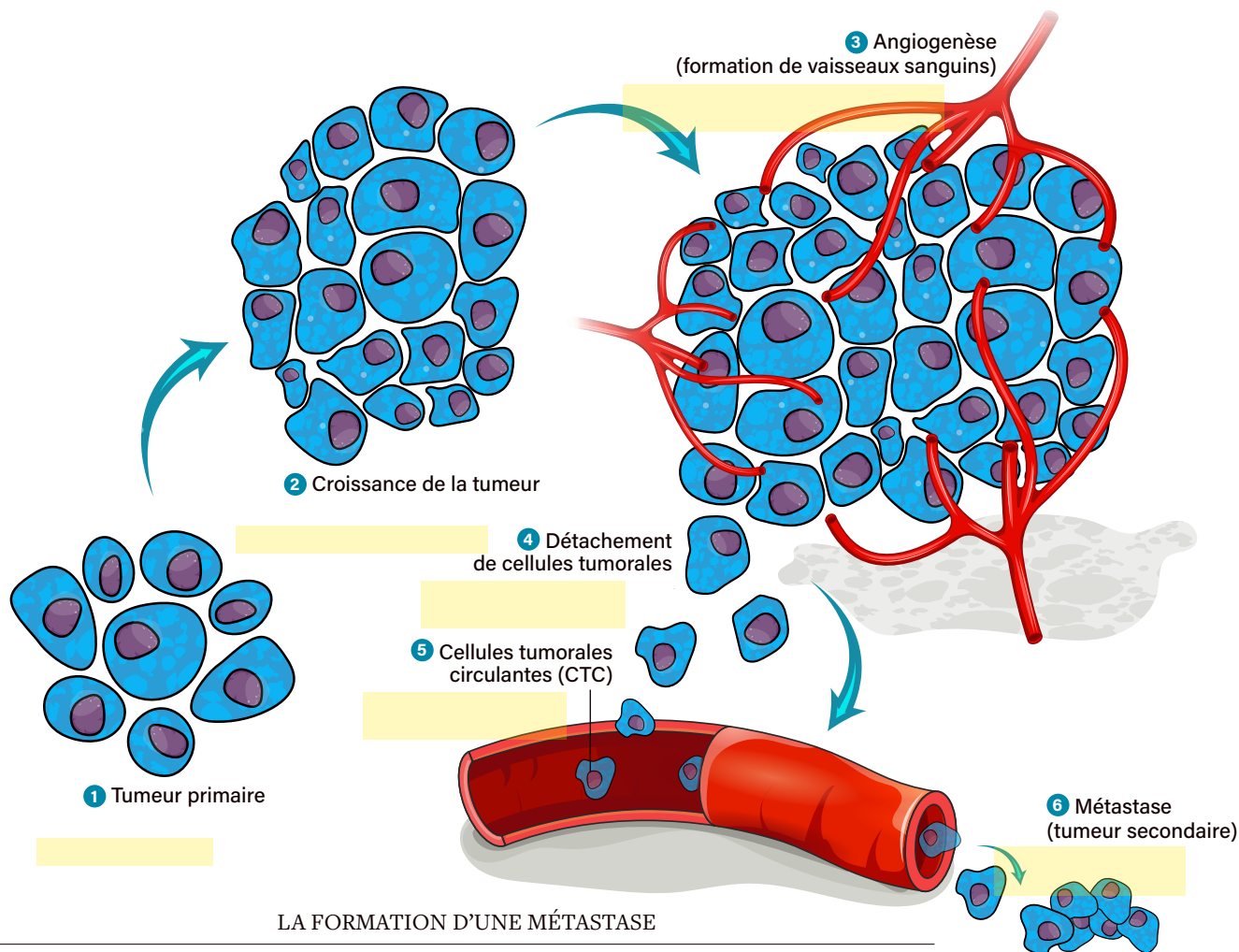
En 2020, Rossa Chiu, de l'université chinoise de Hong Kong, et ses collègues ont mis en avant une nouvelle approche pour étudier l'ADNtc, la «fragmentomique». Lors de l'apoptose (phénomène naturel de mort cellulaire programmée) de cellules, l'ADN est dégradé en de nombreux fragments et se retrouve dans le sang. L'ensemble de ces fragments constitue une véritable signature du tissu d'origine et devrait aider à mieux comprendre la biologie de l'ADN circulant, dont résulteront probablement des applications cliniques.

Venons-en maintenant aux cellules tumorales circulantes. Dans le sang des patients atteints d'un cancer, les CTC se trouvent à des concentrations infimes : 1 à 10 cellules dans



Dans 7,5 millilitres de sang, on trouve moins de 10 cellules tumorales circulantes

7,5 millilitres de sang. Pour les détecter et les isoler, une étape d'enrichissement est donc indispensable. Elle fait appel à un large éventail de techniques, fondées à la fois sur des propriétés physiques (taille, densité, charge électrique, déformabilité) et biologiques (expression de protéines de surface, viabilité). Après cette étape d'enrichissement, il reste encore, dans l'échantillon obtenu, un nombre considérable



LA FORMATION D'UNE MÉTASTASE

Un cancer affectant un organe solide débute par la transformation, dans ou sur cet organe, de cellules qui se mettent à proliférer de façon non contrôlée : c'est la tumeur primaire **1**. Cette tumeur grossit **2** et s'implante durablement grâce à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins, qui l'alimentent en oxygène et en nutriments **3**. Quelques cellules peuvent se détacher de la tumeur primaire **4** et gagner la circulation sanguine **5**. Parvenues à un autre endroit de l'organisme où elles rencontrent des conditions propices, ces cellules se fixent et donnent naissance à une tumeur secondaire, ou métastase **6**. Cette métastase peut à son tour libérer des cellules tumorales qui vont circuler et essaimer.

de cellules sanguines. Il faut donc distinguer de façon univoque les CTC de ces dernières.

Les deux grandes stratégies pour la mise en évidence des CTC se fondent sur la détection de protéines ou d'ARN messagers (ARNm) spécifiques de ces cellules. Actuellement, la seule technique de détection des CTC homologuée par la FDA (Food and Drug Administration, l'autorité aux États-Unis en matière d'aliments et de médicaments), est la technique CellSearch, commercialisée par la société italienne Menarini Silicon Biosystems. Elle consiste à extraire les CTC *via* le marqueur membranaire épithélial EpCAM (pour « molécule d'adhésion cellulaire épithéliale ») à l'aide d'anticorps spécifiques, puis à les marquer de façon que l'on puisse visualiser ces cellules par fluorescence.

Le Laboratoire des cellules circulantes rares humaines (LCCRH), que dirige Catherine Alix-Panabières, utilise ainsi quotidiennement deux systèmes CellSearch. Par ailleurs, depuis 2002, ce laboratoire utilise aussi un test fonctionnel (nommé Epispot) *in vitro* qui permet de détecter uniquement les CTC vivantes. Actuellement, cette technique de pointe s'oriente vers le

concept de détection de cellules uniques, en collaboration avec l'ESPCI (École supérieure de physique et de chimie industrielles de la ville de Paris). Ainsi, l'Epidrop (pour *Epispot in a drop*, « Epispot dans une goutte ») permettra de détecter les CTC fonctionnelles une par une, dans des microgouttelettes. À l'avenir, grâce à cette technique innovante, on devrait être en mesure d'évaluer rapidement l'impact de médicaments sur ces cellules et ainsi d'établir leur profil de sensibilité à un médicament donné.

IDENTIFIER LES CELLULES SOUCHES CANCÉREUSES

Depuis des années, de nombreuses équipes de recherche s'efforcent de développer des protocoles pour cultiver *in vitro* des CTC provenant de patients souffrant d'un cancer solide à un stade avancé (cancers du sein, de la prostate, du poumon, du côlon...). L'objectif est notamment d'identifier la sous-population de CTC les plus agressives, capables de se renouveler et à l'origine des métastases chez le patient. Les cellules de cette sous-population sont appelées « cellules souches