

Modélisation des interactions lors de la migration des cellules tumorales

Marine AUBERT
IMNC, Orsay



Résumé

2.1 Introduction

Les tumeurs cérébrales primitives représentent 1,4% des cancers diagnostiqués chez l'homme et 2,3% des décès imputables à un cancer [1].

2.1.1 Les gliomes

Les gliomes sont les tumeurs primitives cérébrales les plus fréquentes. Ces tumeurs représentent plus de 40% des tumeurs du système nerveux central. Elles dérivent des cellules gliales (astrocytes par exemple) qui jouent un rôle de support, de nutrition et de transmission du signal du système nerveux. Les gliomes sont classés par grade (de I à IV) selon leur degré de malignité, c'est-à-dire selon le rythme de progression de la tumeur. Le pronostic ne laisse entrevoir aux patients atteints d'un glioblastome qu'une médiane d'espérance de vie à 12 mois [2] lorsqu'une stratégie thérapeutique a pu être mise en place. En l'absence de thérapie, la médiane de survie chute à 3 – 4 mois. Le pronostic très pessimiste des patients atteint d'un glioblastome est du au caractère très invasif de ces tumeurs. En effet, lorsque cette tumeur est diagnostiquée, les cellules tumorales ont déjà envahit une grande partie du cerveau.

2.1.2 Intérêt de la modélisation des glioblastomes

Pour les tumeurs cérébrales, il existe deux types de modélisation : microscopique et macroscopique. Les modèles macroscopiques peuvent permettre d'estimer la vitesse de croissance de la tumeur, l'espérance de vie du patient et l'étendue réelle de la tumeur. Ils peuvent également être utilisés pour prévoir la stratégie thérapeutique à adopter. Un modèle macroscopique de croissance de gliomes [3, 4] a permis de mettre en évidence l'importance de ce phénomène (figure 2.1). Grâce à ces simulations nous pouvons imaginer l'étendue réelle de la tumeur. Il est impressionnant de constater, lorsque la tumeur est détectée, à quel point son ampleur est sous-estimée (figure 2.1). Ce modèle permet donc d'expliquer les récurrences systématiques des patients après la chirurgie et de mettre en évidence le rôle important joué par la migration des cellules tumorales dans le pronostic pessimiste.

Les modèles microscopiques espèrent apporter des réponses à des questions plus fondamentales comme la

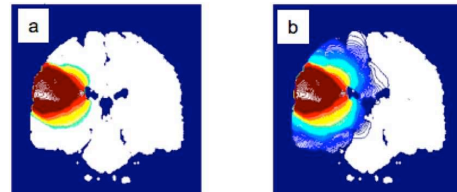


FIG. 2.1 – Simulations d'un glioblastome : 200 jours après le diagnostic, en simulant une image IRM de la tumeur (a) et la progression tumorale (b) [4].

compréhension des mécanismes impliqués dans la croissance tumorale avec comme objectif ultime de prévoir de nouvelles techniques thérapeutiques.

2.1.3 Notre choix de modélisation

Le choix de l'une ou de l'autre modélisation dépend des effets que nous souhaitons incorporer dans notre étude. En ce qui nous concerne, nous souhaitons comprendre si la migration des cellules tumorales peut se résumer ou non à une diffusion pure et si les interactions entre cellules tumorales et entre cellules tumorales et environnement sain peut modifier le comportement macroscopique de la tumeur. Pour traiter le premier problème, il est préférable d'utiliser un modèle microscopique où chaque cellule est représentée individuellement. De plus, notre but premier n'est pas de modéliser la croissance de la tumeur mais bien de commencer à étudier les phénomènes sous-jacents à la migration des cellules tumorales dans les tissus sains. C'est pour cette raison que la modélisation macroscopique n'est pas adaptée pour notre étude.

2.2 Quelques notions de biologie des cellules tumorales

La migration des cellules tumorales est un phénomène complexe et dépend de la tumeur considérée ainsi que de son emplacement. Pour les glioblastomes, les cellules tumorales sont en contact avec le tissu sain environnant constitué, entre autres, de cellules saines (astrocytes), de matrice extracellulaire, de vaisseaux sanguins. Lors de la migration les cellules tumorales subissent des interactions de contact avec d'autres cellules tumorales ou saines et la matrice extracellulaire grâce aux protéines d'adhésion (par exemple les cadhérines, intégrines et connexines). A ces interactions de contact

s'ajoutent des interactions à plus longue portée résultant de substances chimiques ou de protéines sécrétées influençant la migration des cellules tumorales.

2.2.1 Les jonctions communicantes

Les jonctions communicantes (ou *gap junctions* en anglais) sont des petits canaux transmembranaires qui se forment entre deux cellules. Cela leur permet de communiquer en échangeant des petites molécules (ions calcium par exemple). Ces jonctions peuvent se former entre cellules de différents types. On parle de jonction homotype lorsque les cellules sont du même type alors que le terme de jonction hétérotype est utilisé pour les cellules dont le type diffère. Récemment, il a été montré qu'il existe une corrélation positive entre la communication jonctionnelle et l'invasion des gliomes de haut grade [5]. De plus, il est établi, dans cette même étude, que si les jonctions communicantes homotypes limitent la migration des cellules tumorales, les jonctions hétérotypes la favorisent et prévalent lors que les deux coexistent. Cette conclusion renforce l'idée de coopération entre astrocytes sains et cellules tumorales.

2.2.2 Une interaction répulsive à plus longue portée

Cette hypothèse d'interaction répulsive a été exprimée par le groupe de Del Maestro [6]. Elle se base sur le fait que les amas de cellules (appelés sphéroïdes) de larges diamètres pourraient sécréter une substance chimiorépulsive qui dirigerait la migration des cellules tumorales pour qu'elles fuient le centre du sphéroïde. Ceci peut être expliqué par le fait que la partie centrale du sphéroïde est sous oxygénée et trop pauvre en nutriments. Ainsi, à cet endroit, les cellules entrent en état de mort cellulaire et sécrèteraient une substance dirigeant les cellules migrantes loin de cette zone hostile.

2.3 La modélisation des interactions homotypes

La première étape de modélisation consiste à simuler une série d'expériences *in vitro* de cellules issues d'une lignée de glioblastome. Ces cellules migrent sur un substrat inerte à deux dimensions. Dans ce cas, seulement les interactions homotypes entrent en jeu.

2.3.1 Le modèle

Le modèle que nous avons choisi est un automate cellulaire basé sur un réseau plus ou moins aléatoire où chaque cellule est représenté par un polygone [7]. Le centre (qui correspond au sphéroïde) peut éjecter un nombre illimité de cellules qui arrivent à la périphérie et peuvent se mettre à migrer sur le substrat. Chaque site du réseau ne peut être occupé que par une cellule. Dans notre modèle, nous nous focalisons que la migration et nous ne considérons pas la prolifération cellulaire.

La dynamique du modèle est régie par des lois de migration. Chaque cellule a la possibilité de migrer à chaque nouvelle itération de temps du modèle sur un de ses sites voisins. Les règles de migration font intervenir des probabilités d'aller ou non sur un site voisin.

Dans le cas des interactions homotypes uniquement, la loi de migration est la suivante : la cellule a une probabilité p de rester en contact avec une de ses cellules voisines. Le cas où $p = 1$ correspond à une attraction maximale entre cellules tumorales alors que la répulsion totale est modélisé par $p = 0$. Le cas $p = 0.5$ est équivalent à une diffusion pure. Les simulations de migration sont réalisées pour différentes valeurs de p . La figure 2.2 représente les courbes de densité pour les cas d'attraction maximale, répulsion totale et diffusion pure. D'après cette figure, on voit que plus p augmente, plus les cellules restent proches du centre.

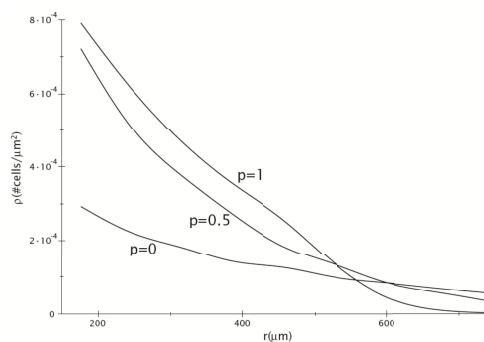


FIG. 2.2 – Profils de densité après 36 heures de migration pour différentes valeurs de la probabilité p .

2.3.2 Comparaison avec l'expérience

Une comparaison a été effectuée à partir d'expériences réalisées par C. Christov, anatomopathologiste de l'hôpital Henri Mondor de Créteil à partir de cellules issues de glioblastome humain. La figure 2.3 montre un exemple de migration pour l'expérience et la simulation (dans le cas où $p = 1$). Expérimentalement, la distribution des cellules est compacte et cela correspond bien avec le cas d'attraction maximale. Les profils de densité sont représentés sur la figure 2.4. Ces profils confirment le résultat précédant, à savoir que pour reproduire les résultats expérimentaux, nous devons considérer une attraction maximale entre cellules tumorales.

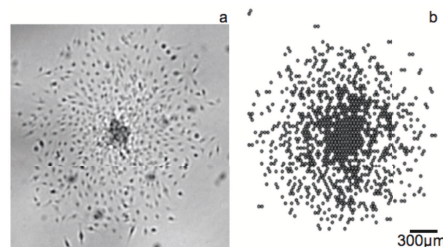


FIG. 2.3 – Motifs de migration. (a) Expérience (b) Simulation.

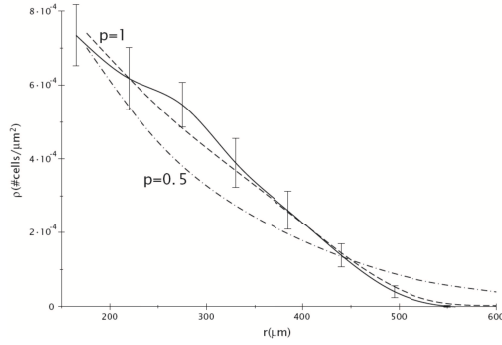


FIG. 2.4 – Profils de densité après 24 heures de migration d’après les résultats de simulation pour deux valeurs de la probabilité d’interaction p (en pointillés) et d’après les expériences (trait plein).

Une seconde série d’expériences consiste à inhiber les jonctions communicantes en diminuant la valeur du paramètre p dans notre modèle ou avec une drogue appelée carbenoxolone (CBX) expérimentalement. Nous comparons la situation témoin avec le cas où les jonctions sont inhibées en calculant la surface occupée par les cellules.

La figure 2.5 représente le rapport entre la surface occupée dans le cas où les jonctions sont inhibées et la surface des expériences témoin pour les simulations avec différentes valeurs de p et pour les expériences. Nous pouvons remarquer que ce rapport est supérieur à 1 ; cela signifie que l’inhibition des jonctions augmente la motilité des cellules tumorales. De plus, l’inhibition des jonctions communicantes revient à diminuer le paramètre p jusqu’à 0.5 – 0.6. Cela signifie que toute l’attraction disparaît [8].

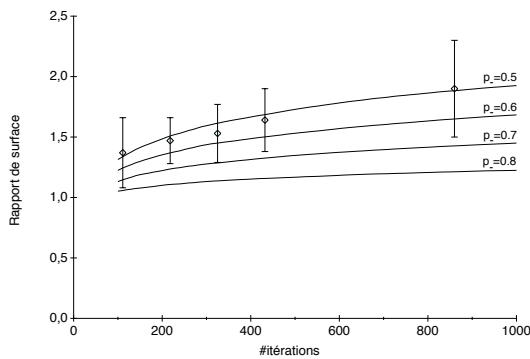


FIG. 2.5 – Comparaison entre résultats expérimentaux (diamants) et les simulations du rapport de surface entre le cas des jonctions inhibées (pour différentes valeurs de p) et non inhibées.

Ces premiers résultats montrent que les interactions de contact doivent être prises en compte pour reproduire la migration des cellules tumorales sur un substrat inerte et que la migration de ces cellules ne se résume par à un mouvement de diffusion [7].

2.4 Introduction des interactions hétérotypes dans le modèle

La partie précédente a montré que les interactions de contact modifient la migration. Nous souhaitons savoir s’il en est de même lorsque les cellules migrent sur un substrat plus proche de l’in vivo : sur une monocouche d’astrocytes.

2.4.1 Le modèle

Dans ce modèle, nous ajoutons au précédent la monocouche d’astrocytes en introduisant un nouveau paramètre (q) pour modéliser les interactions hétérotypes (entre cellules tumorales et astrocytes). Si $q = p = 1$, la cellule doit migrer sur un astrocyte ou à côté d’une cellule tumorale alors que si $q = p = 0$, la cellule évite d’aller sur les astrocytes et à côté d’une cellule [8].

2.4.2 Comparaison avec l’expérience

De même que pour les expériences sur substrat inerte, nous avons travaillé en collaboration avec l’hôpital Henri Mondor et d’après des résultats déjà publiés [5]. La figure 2.6 montre la comparaison des données simulations/expériences.

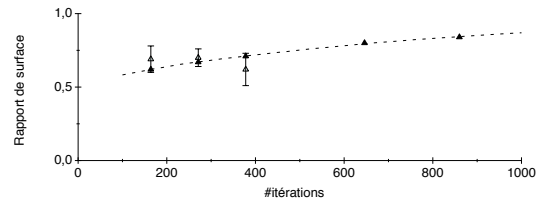


FIG. 2.6 – Comparaison entre résultats expérimentaux (triangles blancs) et les simulations (ligne pointillée et triangles noirs) du rapport de surface entre le cas des jonctions inhibées (cas où $p = q = 0.5$) et non inhibées.

D’après la figure 2.6, nous pouvons voir que le rapport reste inférieur à 1 : la migration des cellules tumorales est réduite lorsque les jonctions communicantes sont inhibées. Ce résultat est le résultat opposé obtenu sur substrat inerte. Il semblerait donc que les astrocytes interviennent lors de la migration des cellules tumorales en communiquant via ces jonctions et participent à l’invasion des tumeurs cérébrales.

2.5 Les interactions à plus longue portée

Dans les études précédentes, la taille des sphéroïdes utilisés est faible, ce qui signifie que les cellules de cet amas ont assez d’oxygène et de nutriments pour survivre. Or, lorsque cette taille augmente, il semblerait, comme expliqué dans la section 1.2.2 que les cellules sécrèteraient un chimiorépulsif [6]. Nous allons donc étu-

dier ce cas et inclure dans notre modèle la diffusion de ce chimiorépulseur.

2.5.1 Le modèle

Dans cette étude, nous revenons au cas du substrat inerte. Le modèle utilisé est donc celui expliqué dans la section 1.3.1¹. Nous y ajoutons la diffusion d'un facteur dont la concentration est la solution d'une équation de diffusion en considérant un point source et des conditions non bornées : $C = Ae^{-\frac{r^2}{4Dt}}$. Nous modifions les règles de migration pour que les cellules fuient les sites où la concentration de chimiorépulseur est la plus importante.

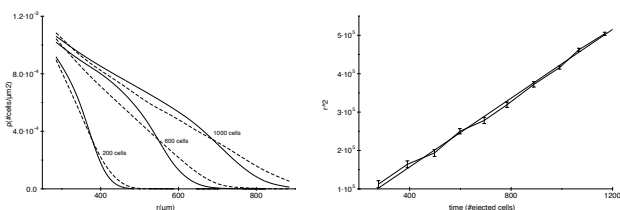


FIG. 2.7 – (a) Profils de densité pour différents nombres de cellules éjectées avec (trait plein) et sans (pointillés) chimiorépulseur. (b) Position de la cassure de la courbe de densité dans le cas avec chimiorépulseur.

D'après les figures 2.7, nous remarquons une différence dans la forme des courbes de densité : dans le cas avec interactions de contact uniquement la courbe est pratiquement linéaire alors qu'avec interactions à longue portée produite par le chimiorépulseur, nous pouvons observer une cassure dans la courbe de densité. Nous montrons une relation linéaire entre la position de cette cassure au carré et le temps : $r^2 = 2Dt$. La pente de cette droite peut alors nous donner la valeur du coefficient de diffusion.

Ainsi, si cette cassure est visible d'après les données expérimentales, nous pourrions déterminer une valeur du coefficient de diffusion de ce chimiorépulseur.

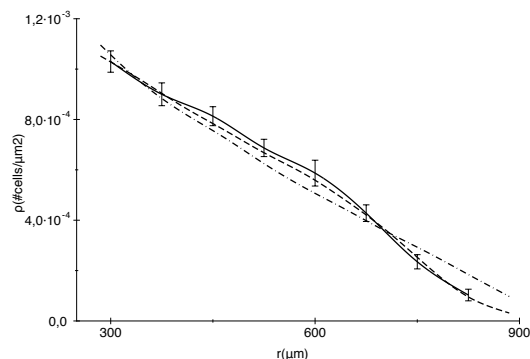


FIG. 2.8 – Comparaison entre résultats expérimentaux (trait plein) et les simulations avec (pointillés) et sans (ligne en trait-point) chimiorépulseur de la densité.

¹Nous utilisons comme définition du temps le nombre de cellules éjectées du sphéroïde qui est linéairement relié au temps physique et est facilement accessible expérimentalement.

D'après la figure 2.8, nous voyons qu'il existe une cassure sur la courbe expérimentale tracée d'après les données de [6] et nous pouvons déterminer la valeur du coefficient de diffusion : $D = 220 \pm 30 \mu\text{m}^2/\text{ejected cell}$.

2.6 Conclusion

En conclusion, nous avons, grâce à un modèle simple pu étudier différents aspects liés à la migration de cellules tumorales en interaction avec d'autres cellules tumorales mais aussi avec des cellules saines. Tout d'abord, il a été montré que les interactions de contact modifient la migration des cellules, que la communication entre cellules tumorales et astrocytes peut être établie via les jonctions communicantes et intervient dans l'invasion des glioblastomes. De plus, bien que non identifiée à l'heure actuelle, nos simulations tendent à confirmer l'existence d'un facteur chimiorépulseur sécrété par le centre du sphéroïde et ont permis de déterminer son coefficient de diffusion.

Remerciements

Je tiens à remercier, sans ordre de préférence, le maire du village, les loup-garous, les amateurs de belote coincée, les joueurs de guitare, le médecin de Dinard, les deux amateurs de baignade matinale, les coordinateurs mais surtout les organisateurs pour cette si agréable semaine. J'ai également une pensée tout particulière pour Isabelle qui a fait de nombreux voyages en voiture pour nous et à Jon pour avoir coordonné cette session 100% interface physique/biologie avec brio malgré ses maux de tête!

Références

- [1] F. Ali-Osman (Éditeur), *Brain Tumors*, Contemporary Cancer Research, Humana Press, Totowa-New Jersey, 2005.
- [2] M. Schlienger, E. Touboul, J. Balosso et M. Housset, *Tumeurs cérébrales*, 1999.
- [3] P. Tracqui, G.C. Cruywagen, D.E. Woodward, G.T. Bartoo, J.D. Murray et E.C. Alvord Jr, *Cell. Prolif.* 28 (1995) 17.
- [4] K.R. Swanson, site internet
www.pathology.washington.edu/research/labs/labpage.php?LAB=swanson&PAGE=ABOUT
- [5] R. Oliveira, C. Christov, J.S. Guillamo, S. de Bouard, S. Palfi, L. Venance, M. Tardy et M. Peschanski, *BMC Cell Biol.* 6 (2005) 7.
- [6] T. Werbowetski, R. Bjerkvig et R.F. Del Maestro, *J Neurobiol.* 60 (2004) 71.
- [7] M. Aubert, M. Badoual, S. Féreol, C. Christov et B. Grammaticos, *Phys Biol.* 3 (2006) 93.
- [8] M. Aubert, M. Badoual, C. Christov et B. Grammaticos B, *J R Soc Interface.* 5 (2008) 75.