Les "Nouveaux Médicaments du Cancer" - les Thérapies Ciblées - n'ont pas guéri grand monde. On voit déjà se dessiner les limites de l"Immunothérapie". Après plus d'un demi-siècle de génétique, de biologie moléculaire et d'immunologie il faut se rendre à l'évidence : les lois de la biologie ne suffisent pas à expliquer la naissance d'un cancer ni à proposer une solution thérapeutique. Aujourd'hui, guérir d'un cancer c'est encore et d'abord un parcours associant chirurgie, radiothérapie et, parfois, des médicaments. Même la chronicisation de certains cancers du sein, de la prostate,... tient plus de la meilleure utilisation de procédés anciens que de l'innovation thérapeutique. Le coût énorme de ces traitements médicamenteux rend l'échec encore plus cuisant. Forces & Cancer pose un principe : les lois de la physique, et notamment de la mécanique, s'appliquent aussi aux tissus vivants. Cette redécouverte a donné naissance à l'Oncologie Physique, le sujet de cet ouvrage : comment intégrer les lois de la mécanique au formidable acquis de la biologie contemporaine.



Rémy Brossel, Oncologue Médical et Physicien, Directeur Médical et Scientifique de Cell Constraint & Cancer



978-3-330-87874-7





Rémy Brossel

Forces & Cancer

De la Biologie à la Physique, du Laboratoire au Patient

Rémy Brossel

Forces & Cancer

Rémy Brossel

Forces & Cancer

De la Biologie à la Physique, du Laboratoire au Patient

Éditions universitaires européennes

Impressum / Mentions légales

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek: Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über http://dnb.d-nb.de abrufbar.

Alle in diesem Buch genannten Marken und Produktnamen unterliegen warenzeichen-, marken- oder patentrechtlichem Schutz bzw. sind Warenzeichen oder eingetragene Warenzeichen der jeweiligen Inhaber. Die Wiedergabe von Marken, Produktnamen, Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen u.s.w. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutzgesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Information bibliographique publiée par la Deutsche Nationalbibliothek: La Deutsche Nationalbibliothek inscrit cette publication à la Deutsche Nationalbibliografie; des données bibliographiques détaillées sont disponibles sur internet à l'adresse http://dnb.d-nb.de.

Toutes marques et noms de produits mentionnés dans ce livre demeurent sous la protection des marques, des marques déposées et des brevets, et sont des marques ou des marques déposées de leurs détenteurs respectifs. L'utilisation des marques, noms de produits, noms communs, noms commerciaux, descriptions de produits, etc, même sans qu'ils soient mentionnés de façon particulière dans ce livre ne signifie en aucune façon que ces noms peuvent être utilisés sans restriction à l'égard de la législation pour la protection des marques et des marques déposées et pourraient donc être utilisés par quiconque.

Coverbild / Photo de couverture: www.ingimage.com

Verlag / Editeur: Éditions universitaires européennes

ist ein Imprint der / est une marque déposée de OmniScriptum Publishing Group 17 Meldrum Street, Beau Bassin 71504, Mauritius Email: info@omniscriptum.com

Linan. imo@ominiscriptum.com

Herstellung: siehe letzte Seite / Impression: voir la dernière page ISBN: 978-3-330-87874-7

Copyright / Droit d'auteur © Rémy Brossel Copyright / Droit d'auteur © 2017 OmniScriptum Publishing Group Alle Rechte vorbehalten. / Tous droits réservés. Beau-Bassin 2017

FORCES & CANCER

De la Biologie à la Physique, du Laboratoire au Patient

Sommaire

CHAPITRE 1 : LES ACQUIS

Introduction à l'Oncologie Physique (OP)p 3					
L'Echelle de temps	p 6				
Les Stades du Cancer	p 6				
La Place de l'OP	p 7				
Une Science Emergente, Une Echelle Spécifique	p 8				
Les acquis de la recherche en OP	p 10 camètresp 11p 12p 12p 13				
Convergence avec la Mécanobiologie - L'In Vivo - Faisabilité	p 19				
Le Champ de Contrainte comme agent thérapeutique	n 22				

CHAPITRE 2 : LE PASSE & LE FUTUR

Les grands ancêtres
La guerre contre le cancerp 24
Et maintenant ?
Après la recherche viendra le développement. Aujourd'hui il faut 'Faire Savoir'
La poursuite de la recherche In Vivo dans la continuité de la Preuve de Concept (voir pages 19 à 22)p 27
Rendre disponible, à court terme, un nouveau traitement du cancer du pancréas ; une étape décisive pour l'approche In Vivop 29
Au-delà du cancer du pancréasp 29
Vers une fréquence de résonnance ?
Vers un paradigme prenant en compte les signaux mécaniquesp 30
Une revisite de la cancérogénèsep 30
Depuis la surface de la cellulep 30
Le champ de contrainte et sa mesurep 32
La Fractalité du Cancerp 32
Le métabolisme du Cancerp 33
Les abréviations utiliséesp 34
Glossaire
Référencesp 40

CHAPITRE 1: LES ACQUIS

Introduction à l'Oncologie Physique (OP)

L'étude des signaux mécaniques en cancérologie connaît un renouveau spectaculaire depuis la fin des années 1990.

Les causes en sont multiples :

- L'épuisement du modèle basé sur la génétique et la biologie moléculaire est évident, et la question est cruelle quand on pense aux espoirs déçus :
 « combien les thérapies ciblées ont-elles guéri de patients cancéreux¹ » ?
- Le développement des techniques de culture cellulaire en 3 dimensions (3D), plus proches du tissu vivant que les cultures en 2D.
- La prise en compte de la matrice extracellulaire comme acteur incontournable de la cancérogénèse et de la réponse aux traitements.

Ces deux derniers points se rejoignent pour imposer de nouveaux modèles, in vitro ou in vivo, d'étude de la cancérogénèse et de l'impact des traitements qui tiennent compte de ce qu'est un cancer: les 'Tumeurs Solides' - par opposition aux maladies malignes hématologiques - sont des organes composés d'un tissu tumoral proprement dit entouré d'un autre tissu, la Matrice ExtraCellulaire (MEC) souvent appelée Stroma².

¹ En gros les Leucémies Myéloïdes Chroniques ont été non pas guéries mais ont vu leur vie prolongée jusqu'à si longtemps qu'on peut assimiler cela à une guérison. Dans les « tumeurs solides », les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées en adjuvant par le trastuzumab quand la tumeur surexprime HER2, voient leur pourcentage de récidive divisé par deux. Ce qui représente 3% des cancers du sein. C'est tout. On doit, pour être exhaustif, souligner la part - minime - des thérapies ciblées à la « chronicisation » de quelques cancers comme le sein ou la prostate.

² MEC ou stroma, les deux termes sont équivalents. On trouve aussi 'Tissu Conjonctif'.

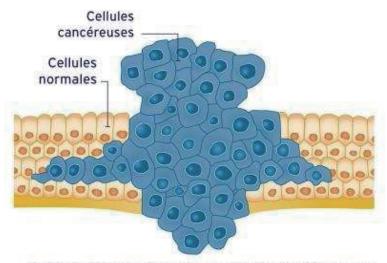


Schéma montrant une tumeur envahissant les tissus sains

Figure 1

Ce schéma montre un 'épithélium' seul type de tissu d'origine des cancers que nous prendrons en compte ici, et qui représente plus de 90 % des tumeurs solides.

Les cellules normales sont de géométrie Euclidienne de même que le tissu normal.

La définition médicale d'un cancer est le franchissement d'une barrière, la membrane basale ici en bas.

Les cellules tumorales et le tissu qu'elles forment ont une géométrie différente, fractale, moins familière à nos représentations mentales, d'où la description par les histologistes quand ils décrivent des cancers d'un désordre, d'une anarchie, alors que cette géométrie est parfaitement organisée et analysable. Sous la membrane basale se situe le stroma qui contient les vaisseaux qui vont nourrir et oxygéner l'épithélium. En atteignant ce stroma le cancer va rapidement constituer une MEC autonome autour de lui, avec ses propres vaisseaux (néovaisseaux) pour se nourrir et s'oxygéner. Cette vascularisation tumorale est appelée néovascularisation. Le cancer devient alors autonome, histologiquement en constituant un 'organe-cancer' et métaboliquement en développant une machinerie énergétique qui lui est propre.

Pour la suite nous considèrerons que l'addition de la membrane basale et du stroma situé en dessous sont de même nature que la MEC et nous ne ferons pas de distinction entre les deux.

Les métastases sont générées par des cellules cancéreuses qui quittent la tumeur primitive et vont dans différents organes pour y constituer d'autres organes-cancer à distance.

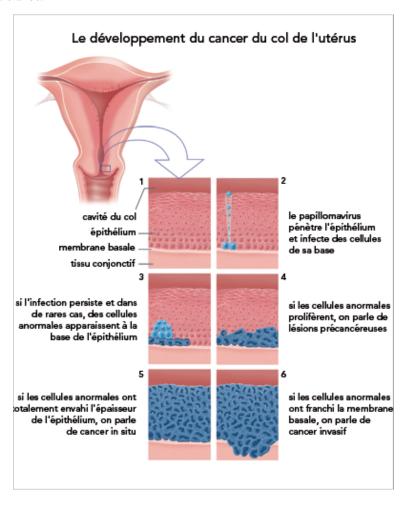


Figure 2

Les étapes de la cancérisation dans le cas du cancer du col de l'utérus sont montrées dans la figure 2. Des progressions de même type sont connues dans les cancers du côlon, de la bronche, et dans de nombreux épithéliums de recouvrement. On trouve aussi des états pré-cancéreux dans de nombreux épithéliums glandulaires comme le sein ou la prostate.

La cancérisation se constitue sur un temps long et est longtemps réversible.

L'exemple ci-dessus montre le passage très progressif, sur des années, d'une anomalie bénigne de l'épithélium du col de l'utérus entraînée par une infection virale (HPV ou Human Papilloma Virus) : une dysplasie légère. Le plus souvent elle disparaît de même que l'étape d'après, la dysplasie sévère. Mais plus la dysplasie persiste et augmente, moins elle est réversible. Elle peut alors déboucher sur un 'cancer in situ' qui n'est pas un cancer au sens médical (pas de franchissement de la membrane basale) mais en possède toutes les autres caractéristiques (sauf la MEC).

L'Echelle de temps

En réponse aux questions des patients 'mais depuis combien de temps ?' les médecins ont appris à répondre 'depuis plusieurs années' et même depuis de très nombreuses années quand la maladie suit la séquence la plus commune : dysplasie avec ou sans métaplasie, in situ, tumeur primitive puis métastases.

Prenons l'exemple de l'augmentation de la rigidité de la MEC d'un épithélium normal, qu'elle soit due à l'inflammation ou à une autre cause. A cette modification lente de son environnement la cellule va répondre par une déformation élastique rapide qui va accompagner l'augmentation de rigidité. Puis elle s'adaptera pour conserver son intégrité architecturale en générant une force d'attraction (pull) qui va contrebalancer l'action de la MEC. Ceci sur un temps plus long. Et puis un jour les distorsions géométriques vont atteindre une intensité suffisante pour que le fuseau mitotique jusque-là strictement parallèle à la membrane basale finisse par dépasser un seuil et entraîner une division cellulaire asymétrique avec perte de la polarité. Ensuite les divisions cellulaires vont empiler des cellules formant un tissu fractal.

Les Stades du Cancer

Pour des raisons très pratiques on parle de Stade III pour décrire les cancers qui sont 'Localement Evolués' (III) qui pourront encore être traités pour être guéris. Mais pour cela il faudra un traitement médical avant la chirurgie (et/ou

radiothérapie). Si ce traitement médical ne suffit pas ils rejoignent alors les IV - ceux qui sont métastatiques d'emblée ou par rechute – et que nous ne savons pas guérir : on rentre alors dans les traitements palliatifs pour au mieux obtenir une rémission complète avec disparition de tous les signes ou un contrôle qu'on espère le plus long possible sur la croissance de la tumeur.

La Place de l'OP

La BioMécanique cancérologique doit sa récente progression à l'application à la cancérologie de l''Oncologie Physique' (Physical Oncology) comme nouveau moyen d'étude du cancer.

L'oncologie physique se définit comme l'étude des signaux physiques et plus spécialement mécaniques dans le fonctionnement du cancer depuis la dysplasie, l'in situ, jusqu'à la diffusion métastatique, donc dans tout le spectre de la cancérogénèse.

Dans sa partie encore la plus active, in vitro ou ex vivo, l'OP n'a pas de prétention à avoir un rôle thérapeutique. En revanche sa récente orientation vers l'in vivo l'oblige à penser son rôle comme traitement possible et le choix du cancer du pancréas comme première cible correspond à un besoin médical patent.

Un système présent dans tout l'organisme

On voit donc se dessiner une entité organique - la MEC - qui envoie des informations mécaniques à tous les tissus de tous les organes, comme un système nerveux décentralisé qui enverrait des impulsions mécaniques et non pas électriques, assurant ainsi une coordination et un contrôle du comportement entre toutes les cellules/tissus des organes et de l'organisme. Les cellules sont, elles, en charge de distinguer le bruit mécanique (dont celui lié à la gravité) des signaux de changement de l'environnement. Elles doivent aussi distinguer les signaux variables ou périodiques des constants, les 'outputs' étant différents.

Dans le phénomène de cancérisation il est logique de penser que l'action prédominante est celle de signaux constants ou quasi constants comme une augmentation lente de la rigidité et des transformations lentes de la composition fibrillaire ou cellulaire de la MEC, plutôt que comme une accumulation mémorisée de signaux transitoires.

En oncologie physique le cancer n'est plus seulement une machinerie génétique et biologique 'dérèglée' mais aussi et peut être surtout le résultat d'un changement

progressif d'architecture du tissu, du normal Euclidien au cancéreux fractal. Et c'est ce changement de la répartition des forces, pressions, contraintes... dans le cancer qui va modifier le fonctionnement de la machinerie génétique et moléculaire par l'intermédiaire des changements conformationnels imposés à l'ADN (et à l'épigénétique) par ces forces transmises au noyau depuis l'extérieur de la cellule.

Une Science Emergente, une Echelle Spécifique

L'OP est une science émergente à l'interface de la mécanique et de la cancérologie, donc de la physique et de la biologie. Les signaux biologiques et physiques présents dans les tissus cancéreux comme dans les tissus normaux sont très différents. Et, bien qu'ils interférent en permanence entre eux, les lois qui les gouvernent sont disjointes.

Tableau 1

Différence entre les signaux biologiques et physiques

	Support	Transmission du signal	Modulation du signal	Nature du Signal	Action	Réversibilité dans l'espace
Biologique	Liquide Incompressible	Lente De proche en proche	Difficile	Biochimique	Lente	Non Unidirectionnel
Physique	Semi-solide (20% du volume cellulaire) Compressible	Rapide Quasi instantanée	Facile	Mécanique	Rapide	Oui Bidirectionnnel

L'OP étudie l'impact des signaux mécaniques sur l'apparition du phénotype cancéreux. Le phénotype pertinent en OP est celui des cellules et des tissus. Néanmoins le phénotype tissulaire est plus complexe que le phénotype cellulaire.

Donc par phénotype tissulaire nous entendrons le phénotype - cellulaire - différentiation, croissance, apoptose, mort cellulaire et aptitude à migrer auxquels nous ajouterons l'architecture tissulaire.

Et impossible ici de ne pas citer Mina Bissell : « en oncologie le phénotype tissulaire est dominant par rapport au génotype cellulaire ».

Les signaux mécaniques spontanément présents dans les tissus ou utilisés en OP pour modifier le phénotype cellulaire ou tissulaire sont faits de forces, de pressions dirigées vers l'intérieur de la cellule ('pull') ou vers l'extérieur ('push') ou tangentielles (cisaillement [shear]), forces à l'interface MEC/tissu et aux interfaces cellule/cellule. La généralisation conduit à parler de l'application d'un champ de contrainte (ou mieux d'un champ tensoriel). On voit donc que l'OP se situe à l'échelle mésoscopique, celle des cellules et des tissus. L'évolution a produit une hiérarchie de structures pour répartir les signaux mécaniques selon l'échelle de la structure en cause, comme des poupées russes emboîtées : à l'échelle mésoscopique, les pressions en jeu sont de l'ordre de quelques à quelques centaines ou milliers de Pascal (Pa).

La génétique et la biologie moléculaire sont à l'échelle des molécules et de gènes, donc microscopique.

La cancérologie et son imagerie sont à l'échelle macroscopique, sauf le diagnostic qui est microscopique, sur la biopsie.

Enfin un point doit être rappelé qui conditionne toute approche ambitieuse de l'OP: nous savons guérir les cancers localisés (avec quelques exceptions comme le glioblastome, cancer du cerveau). Nous ne savons pas guérir les cancers métastatiques, à quelques exceptions près comme les cancers du testicule. Les cancers 'localement évolués' (Locally Advanced) sont un réel challenge. Et, ne l'oublions pas, la grande majorité des guérisons sont obtenues par la chirurgie et/ou la radiothérapie qui ont un long passé derrière elles.

Le rôle des médicaments datant d'un demi-siècle, comme les hormono/chimiothérapies, ou plus récents comme les thérapies ciblées et depuis peu l'immunothérapie, est encore marginal si on parle de guérison. Et le restera.

Mais ils jouent un rôle fondamental dans la 'chronicisation' de certains cancers, notamment hormono-dépendants comme le cancer du sein et de la prostate.

L'OP doit également se situer entre la biologie (biologie moléculaire, génétique, immunologie) et la mécanique, comme le montre le tableau 2 ci-dessous.

Tableau 2

	Signal d'entrée ('input')	Signal de sortie ('output')
Biologie	Biologique	Biologique
Mécanobiologie	Mécanique	Biologique
Oncologie Physique	Mécanique	Mécanique

Dans le processus de reconnaissance de cette nouvelle branche de la biologie, l'OP a sans doute bénéficié de l'approche très mécanistique de l'apparition des métastases, comme l'illustre le nombre des articles sur le « voyage de la cellule métastatique » qui doit changer tous ses paramètres physiques pour partir de la tumeur primitive, franchir de nombreuses barrières mécaniques avant d'arriver dans l'organe où elle trouvera un terrain favorable pour former une métastase. Mais nous ne nous attarderons pas sur cet aspect de l'OP qui amène plus à des développements diagnostiques sur les cellules circulantes qu'à des développements thérapeutiques. L'intrication entre les signaux mécaniques et biologiques fait partie du fonctionnement du vivant mais on voit que seule l'OP s'étudie indépendamment des lois de la biologie.

Les acquis de la recherche en OP

La rigidité cellulaire

L'OP a d'abord progressé par l'abord direct de la mesure des propriétés mécaniques intrinsèques de la cellule : la détermination systématique des Modules de Young – ou module d'élasticité - des cellules normales, des cellules de tumeurs bénignes et des cellules de tumeurs malignes ainsi que des tissus du 'microenvironnement' des tumeurs, en fait la MEC dans ses diverses composantes incluant la néoangiogénèse tumorale. L'abord in vitro ou en milieu liquide sur cellules isolées a été récemment complété par des études ex vivo, sur biopsies.

L'OP cellulaire/tissulaire : à la recherche des paramètres physiques

C'est à cette échelle que la recherche est encore la plus active, qu'il s 'agisse de la cellule isolée, de la culture en 2 Dimension (2D) (de moins en moins) ou de la culture 3D.

Il a d'abord fallu poser des hypothèses reposant sur l'analyse des résultats de la mise en tension des composants intracellulaires.

L'étude de l'impact des forces appliquées aux structures les plus rigides des tissus et cellules dont le CytoSQuelette (CSQ) sur des cellules a reposé sur plusieurs techniques dont le micropatterning. Une cellule est fixée sur un support dont on peut faire varier la rigidité (stiffness) et la surface d'adhésion. Le support peut être très rigide comme dans les boites de culture en plastique (traction exercée > 10 000 Pa) ou être modulable de quelques Pa à plusieurs milliers de Pa comme avec les milieux de type « gels ». Ceci a permis de comprendre comment l'environnement physique - ici la traction exercée par la seule surface adhérente - modifie le CSQ, et le phénotype cellulaire. La 'traction force microscopy' et surtout le Microscope à Force Atomique (MFA) permettent de mesurer la rigidité, les forces en jeu.

Le 'micropatterning' ne s'est d'abord appliqué qu'à une ou quelques cellules. C'est la 3D qui a permis de passer à l'échelle d'un équivalent de tissu organisé dans l'espace et de s'intéresser à la cellule et au tissu globalement sans prendre en compte les mécanismes biochimiques et génétiques sous-jacents. Mais l'étude des complexes supramoléculaires comme l'organisation des intégrines en points de jonction et des structures d'organisation cellulaire comme le CSQ et ses composants - microtubules, filaments d'actine et filaments intermédiaires - ont été des étapes nécessaires à la compréhension du maintien ou non de l'intégrité architecturale de la cellule et du tissu et ont permis d'imaginer des hypothèses quant à la cancérogénèse.

Le 'micropatterning' cellulaire nous a aussi beaucoup appris sur l'organisation du CSQ quand on fait varier les contraintes appliquées à une face de la cellule (celle qui adhère au support) et met en évidence la transmission des signaux mécaniques depuis l'environnement de la cellule jusqu'au noyau, par l'intermédiaire du CSQ. Mais la limitation à une ou quelques cellules et le caractère unidimensionnel de l'application des contraintes sur une seule face, en a longtemps limité l'intérêt pratique.

Pour les cellules 'dépendantes de l'ancrage' (normales) la croissance, la division suppose une augmentation de la tension du CSQ qu'on obtient quand la cellule s'étale sur un support rigide, équivalent à une MEC très rigide.

A l'inverse diminuer la rigidité de la MEC au point de ne plus pouvoir compenser la traction cellulaire, amène la cellule à une différentiation ou à l'apoptose et arrête la division.

Les mécanorécepteurs

Le meilleur exemple sont les intégrines, récepteurs transmembranaires —qui traversent la membrane basale- et relient la cellule à la MEC.

La mécanotransduction est le terme adopté pour décrire toutes les réponses cellulaires/tissulaires à des forces imposées de l'extérieur et passant par les mécanorécepteurs.

Mais ce terme doit rester neutre et ne pas impliquer systématiquement une réponse biologique, comme une cascade de réactions biochimiques vers le noyau, la transduction.

C'est la prise de conscience du caractère très artificiel des conditions de culture dans les 'Boîtes de Pétri' en verre ou en plastique qui a amené à la prise en compte du rôle des rigidités très importantes de ces supports. Bien sûr des supports rigides, plats et vastes ont permis de stimuler la culture des cellules normales et cancéreuses in vitro en dehors de leur environnement; or cet environnement - la MEC et les cellules voisines organisées dans l'espace - vont imposer l'organisation dans l'espace des tissus, la polarité des cellules et leur phénotype, tout ceci par les signaux mécaniques.

Le Module de Young in vitro

Les mesures faites ont montré que les cellules normales sont plus rigides (environ 1,2 kPa) que leurs homologues malignes (environ 0,8 kPa) et que la MEC est encore plus rigide (environ 2,5 kPa).

Quand un médecin, ou une patiente, palpe une 'boule dans le sein', ce qui est dur c'est la MEC. La tumeur, à l'intérieur, est moins dure que la glande mammaire normale.

Les cultures cellulaires en deux dimensions (2D) ne reflètent pas la situation du in vivo et sont de très mauvais prédicteurs de l'effet des traitements du cancer.

C'est la principale raison pour laquelle le NCI a lancé en 2009 un programme d'étude sur les modèles cancéreux in vitro centré sur la 3D. Le programme de 'Physical Sciences in Oncology' du NCI associe douze universités aux USA dans le but de faire travailler ensemble des physiciens et des oncologues, des gens qui ne parlent pas le même langage.

De très nombreuses lignées cellulaires, normales, transformées (première étape vers la cancérisation) ou cancéreuses ont été mesurées. Le module de Young des cellules cancéreuses est du même ordre de grandeur que les valeurs déjà citées, soit un peu inférieur à 1 kPa et le ratio normal/cancer est en règle > 1,5. La corrélation entre la diminution de rigidité - et donc l'augmentation de la déformabilité - et le potentiel métastatique est très fort.

On a pu ainsi en tirer des informations pronostiques ou chercher à utiliser les biopsies liquides pour mesurer la rigidité des cellules cancéreuses circulantes avec là encore une très forte corrélation entre la diminution de rigidité et le pronostic.

Il est important de souligner combien l'OP renoue avec une conception uniciste du cancer: il y a finalement peu de variation quantitative physique entre les différents cancers. Contrairement à l'approche génético-moléculaire, les traitements utilisant l'approche de l'OP ont toutes les chances de ne pas être 'personnalisés'.

Dans tous les cas il faut tenir compte de la méthodologie utilisée, avec des valeurs absolues qui varient entre l'utilisation du Microscope à Force Atomique, les pinces optiques, la microfluidique...

L'Ex Vivo

Quelques études ont mesuré les rigidités tissulaires sur des biopsies, soit des morceaux de tumeur prélevées, maintenues vivantes et analysées par microscopie à force atomique. L'étude la plus représentative est celle de M Plodinec (2012) qui confirme les grandeurs obtenues sur des cellules in vitro en 2 et 3 dimensions.

La mesure par AFM du module de Young sur des biopsies de cancer du sein humain révèle une signature propre à chaque stade du cancer. En comparant un tissu sain et un tissu cancéreux issu d'une tumeur bénigne, la distribution du module de Young (représentatif de l'élasticité) se situe entre 1,9 kPa et 3,7 kPa pour la tumeur bénigne et entre 1,1 kPa et 1,8 kPa pour le tissu sain. Les tissus provenant de tumeurs pré-métastatiques plus invasives montrent un pic dominant

entre 0,3 et 0,8 kPa. Pour métastaser, la cellule doit avoir un certain degré de flexibilité et de déformabilité lui permettant de se mouvoir dans son environnement, son module de Young est donc plus faible que celui des cellules saines.

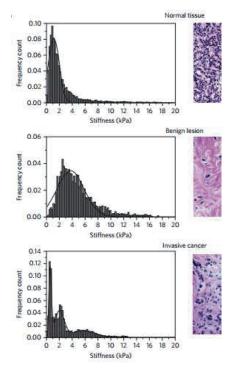


Figure 3

Un échantillon des valeurs de rigidité de tissus présents dans des biopsies de sein (M Plodinec et al)

La réponse cellulaire

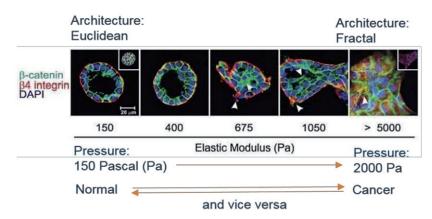
Enfin vinrent les expérimentations destinées à pouvoir quantifier les réponses des cellules, par exemple en culture 3D, à des stimulations mécaniques. On y trouve le 'pull' ('traction stress') des cellules à l'interface avec la MEC, les tensions à l'interface intercellulaire et les forces intra-cellulaires générées par le CSQ.

Les premiers essais sur la 3D ont commencé en 1989 et arrivent à maturité en 1992. Cette organisation dans l'espace de cellules entre elles permet de conserver

les liaisons intercellulaires mécaniques et biologiques telles qu'elles sont présentes in vivo. Mais dans le cas de l'étude du phénomène cancéreux elle n'est représentative que du tissu cancéreux lui-même: l'organisation en organe associant la MEC entourant le tissu tumoral y est absente. Plus exactement le milieu de culture autour de la 3D va pouvoir être une MEC virtuelle à partir de laquelle on fait agir des signaux mais sans reproduire le confinement induit par la MEC. C'est ainsi que Matthew Paszek en 2005 applique une contrainte à une culture en 3D de cellules humaines en faisant varier la concentration de collagène: il induit ainsi la variation de la tension superficielle appliquée aux cellules en culture. Il part d'un 'acinus ' de sein normal et va le faire évoluer vers un tissu cancéreux du sein en utilisant exclusivement des variations de tension superficielle.

Cet article est le premier à avoir mis en évidence le rôle central de la rigidité de la MEC comme facteur de cancérisation et son maintien dans l'évolution de la maladie.

Il nous montre aussi que la tension augmentée du CSQ perturbe la 'polarité' des cellules mammaires, active leur multiplication, et distord la lumière centrale, sphérique.



(With permission of M.Paszek)

Figure 4

La rigidité tumorale, chez les patients ou dans les modèles animaux, est la somme de plusieurs facteurs : l'élévation de la pression interstitielle, l'expansion en volume de la tumeur ; la néovascularisation joue un rôle ainsi que la fibrose de la MEC et d'autres facteurs moins importants.

Mais dans cette expérimentation seule varie la rigidité du milieu de culture entourant l'acinus. En passant d'une concentration de 2 g/ml à 4 g/ml la rigidité mesurée en Pa par le module de Young passe de (en moyenne) 330 Pa à 1 590 Pa. On observe alors des changements dans le module de Young du tissu normal glandulaire mammaire (167 Pa) qui en devenant cancéreux voit son module augmenter, de 167 à plus de 2 000 Pa de façon proportionnelle à la quantité de collagène ajoutée, donc à la rigidité entourant le tissu mammaire.

Tableau 4

Tiré de l'article de M Paszek montrant les différentes valeurs du module de Young (Elastic Modulus) de différents tissus mammaires.

Tissue or Material	Elastic Modulus (Pa)
Normal Mammary Gland	167 ± 31
Average Tumor (Ras, Myc, Her2/Neu)	4049 ± 938 **
Stroma Attached to Tumor (Ras, Her2/Neu)	918 ± 269 **
Reconstituted Basement Membrane	175 ± 37
Collagen (2.0 mg/ml)	328 ± 87
Collagen (4.0 mg/ml)	1589 ± 380
Piastic (polystyrene) (Callister et al., 2000)	2.78x10 ⁸
Glass (soda-lime) (Callister et al., 2000)	69×10 ⁹

^{**} Mean + SEM, p<0.01

En fait, sans le dire, M. Paszek nous montre le passage d'une architecture Euclidienne, celle d'un épithélium normal, à une architecture fractale, celle des cancers.

La volonté de trouver un support de biologie moléculaire à ces changements rend l'article difficile à lire pour un non spécialiste et surtout obscurcit le principal résultat : en 3D, seul modèle pertinent, la compliance de la matrice est la variable principale qui va faire changer le phénotype cellulaire apprécié ici par des marqueurs de la cancérisation issus de la biologie moléculaire ainsi que le type architectural du tissu, donc au total le phénotype tissulaire. Mais si ce changement de géométrie est concomitant avec des changements biologiques qui

l'accompagnent et sont conformes à ce qu'on sait des changements au niveau de la biologie moléculaire qui accompagnent la cancérisation le plus nouveau est la réversibilité du phénomène de cancérisation. La réversion cancéreuse par des signaux mécaniques devient un objectif de l'OP.

De même une hypothèse un peu oubliée de cancérogénèse redevient d'actualité : l'équilibre entre la rigidité de la matrice (force exogène) et la tension du CSQ (force endogène) peut être perturbé par une 'irritation' locale prolongée, comme une inflammation chronique et promouvoir une transformation maligne.

D'autres auteurs ont trouvé des résultats similaires dans d'autres modèles tumoraux et avec d'autres signaux mécaniques.

Citons la publication de F Montel et al en 2011.

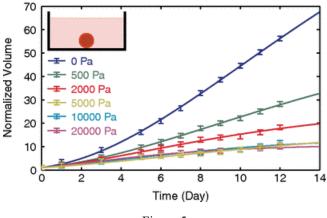


Figure 5

On voit ici la relation linéaire entre la croissance de la tumeur étudiée (un sphéroïde) et la pression appliquée.

Convergence avec la Mécanobiologie

En mécanobiologie, citons les travaux d'Emmanuel Farge. En 2003, il travaillait sur l'embryon de la mouche Drosophile, outil préféré des embryologistes.

Il a alors montré comment une pression transforme un signal génétique et moléculaire.

Reprenons sa démonstration de 2003. La constitution d'un système digestif est très précisément programmée dans cet embryon : il apparaît à un endroit bien déterminé et à un moment bien déterminé du développement de l'embryon. En appliquant une simple pression à un autre endroit et à un autre moment il a réussi à 'passer par-dessus' la programmation génétique et induire la formation d'un tube digestif à un autre endroit et à un autre moment'. Comment est-ce possible ? Parce qu'une pression exercée sur une protéine, la beta caténine, lui permet de se détacher de la paroi de la cellule où elle assure la solidité des jonctions intercellulaires, et de migrer vers le noyau de la cellule, et, là, elle entraîne l'activation du gène Twist qui va fabriquer la molécule twist qui est une molécule qui transforme des cellules embryonnaires peu différentiées en cellules du tube digestif, bien reconnaissables et 'fixées' dans cette fonction digestive.

C'était la première fois qu'on montrait l'action en embryologie d'un signal mécanique (et non pas biologique) sur un gène.

Dans La Recherche il nous propose une bonne vulgarisation d'un autre article publié en 2015 dans Nature.

Le 'chapeau' de l'article résume son propos : 'La croissance d'une tumeur comprime les cellules saines adjacentes et peut les rendre cancéreuses. Ce mécanisme met en jeu une protéine connue en embryologie'.

On se situe donc dans le cadre de la 'BioMécanique' c'est-à-dire l'impact d'un signal mécanique - une pression - quand il est traduit en message biologique, une molécule.

On n'est donc pas en 'Oncologie Physique' qui étudie la traduction d'un signal mécanique en signal mécanique.

Mais l'article de E Farge oblige les 'Oncologues Physiciens' à ne plus seulement se préoccuper des relations mécaniques entre les cellules d'un tissu cancéreux et des relations mécaniques entre ce tissu cancéreux et la Matrice ExtraCellulaire qui l'entoure. Il nous faut également prendre en compte dans le 'bilan des forces' les relations mécaniques entre la MEC et les tissus normaux qui environnent la tumeur.

Citons l'auteur : 'la pression continue exercée par une tumeur qui prolifère dans le colon transforme les cellules saines avoisinantes en cellules cancéreuses'.

On voit donc se dessiner une propagation – ou une création de tumeur à distance – qui bien sûr ne concerne pas seulement le colon mais tous les cancers pour lesquels la beta caténine est importante.

De plus, cet article apporte des données quantifiées qui vérifient le peu d'information que nous avons sur les 'Module de Young' des tissus c'est-à-dire la mesure de leur rigidité. Et on retrouve des données similaires à celles décrites sur des biopsies de cancer du sein par M Plodinec en 2011, soit environ 1,2 kPa pour la pression exercée par le tissu cancéreux.

L'In Vivo

Nous terminerons par une approche qui tient compte de toutes ces avancées et a de plus une ambition thérapeutique directe : l'application d'un champ de contrainte à une tumeur in vivo.

Les signaux mécaniques utilisés dans les modèles in vitro – tension superficielle, pression osmotique, gravité – ne sont pas utilisables in vivo.

Curieusement, l'in vivo, pourtant seul moyen d'arriver à une proposition thérapeutique, est très peu présent dans la littérature d'OP.

C'est pourtant l'étape majeure, celle qui permet d'envisager le passage d'objet de laboratoire à potentiel outil thérapeutique.

En OP, on ne trouve que l'article de R Brossel et al (2016) qui montre la possibilité d'agir sur une tumeur greffée en sous-cutané chez le rongeur en lui appliquant une contrainte.

Dans cette perspective le 'champ de contrainte' devient l'agent thérapeutique.

Cette contrainte est exercée par l'intermédiaire de nanoparticules ferriques, donc aimantables, soumises depuis l'extérieur de l'animal à un gradient de champ magnétique. Les nanoparticules agissent alors comme des 'BioActionneurs' (en anglais BioActuator) transformant une partie de l'énergie magnétique en énergie mécanique.

Il a d'abord fallu poser des hypothèses reposant sur l'analyse des résultats de la mise en tension des composants intracellulaires.

Faisabilité

En 2014, est faite une faisabilité in vivo sur souris greffée par des cellules cancéreuses humaines (MDA MB 231) mélangées à des nanoparticules ferriques : les nanoparticules ferriques (en noir) se répartissent autour de la tumeur (comme le montre la figure ci-dessous) en raison de la très grande différence d'énergie libre de surface entre les particules et les cellules.

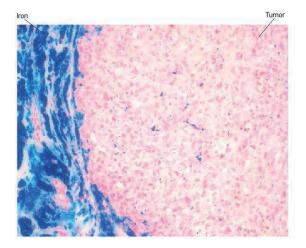


Figure 6

Elles sont utilisées comme des 'bioactionneurs' : quand un gradient de champ magnétique est appliqué à l'ensemble nanoparticules/tumeur, elles transforment une partie de l'énergie magnétique en énergie mécanique et créent un champ de contrainte localisé dans la tumeur (figure 8).

On voit donc la possibilité d'appliquer « un champ de contrainte » (qu'on peut approximer en première intention à des forces et pressions ou, en élargissant le concept, à un champ tensoriel) à un tissu in vivo. Il s'agit de positionner des nanoparticules magnétisables autour des tumeurs puis d'appliquer un gradient de champ magnétique à l'ensemble tumeur/nanoparticules, depuis l'extérieur. On sait depuis plus de 10 ans qu'une pression appliquée à une tumeur in vitro, si on applique un « champ de contrainte » suffisant, entraîne une modification du phénotype tissulaire (M Paszek 2005, déjà cité). L'innovation porte sur le passage de l'in vitro 3D à l'in vivo, c'est-à-dire du « tube à essai » à l'animal.

La Preuve de Concept in vivo a été publiée en 2016. Il s'agissait de comparer un groupe traité de souris, c'est-à-dire avec nanoparticules et gradient de champ magnétique avec trois groupes témoins. Les figures 7 et 8 montrent le dispositif expérimental et les forces générées.

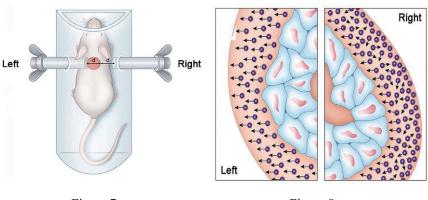


Figure 7 Figure 8

Le concept est validé. Il existe une différence significative entre le groupe traité et les groupes témoins. Cette différence porte sur le volume de la tumeur mesuré in vivo qui est très significativement diminuée (p=0.015) dans le groupe traité par rapport aux 3 groupes témoins (avec particules et sans gradient, avec gradient et sans particules, sans gradient ni particules). Il existe également une différence significative en faveur du groupe traité quand on mesure la surface de la tumeur vivante, ex vivo, sur des coupes histologiques numérisées (p=0.001).

Tableau 4 Résultats

Groupes de souris greffées	Volume Tumoral Médian (mm³)	p (significativité de la différence)
Groupes traités	529	p = 0,015
Groupes témoins*	1 334	р 0,013
Moyenne	Superficie Tumorale	p
	sur coupes histologiques	(en mm²)
	numérisés ex vivo	
Groupes traités	7,7	p = 0.001
Groupes témoins	23,1 ; 21,4 ; 26,8	p 0,001

^{*} Trois groupes de souris : avec particules seules ; avec gradient seul ; sans particules ni gradient

Le Champ de Contrainte comme agent thérapeutique

Ce champ imposé depuis la MEC se superpose à celui déjà présent dans le tissu tumoral. Notons la différence avec l'in vitro : il n'y a pas de confinement par la MEC dans l'in vitro.

Les paramétrages possibles de ce champ de contrainte portent sur l'intensité et la fréquence. Dans l'article cité l'intensité estimée est de l'ordre de 10 à 20 Pa pour un gradient de l'ordre de 5T/cm. On était aux limites physiques de la méthode.

Cette preuve de concept a utilisé des aimants permanents (NeFeB). Un électroaimant sera nécessaire pour un greffe orthotopique de pancréas chez le rongeur. Des supraconducteurs sont les seules sources de gradient de champ magnétiques compatibles avec l'épaisseur d'un patient.

Les aimants supraconducteurs n'autorisent que des fréquences inférieures à 1 kH mais peuvent générer des gradients de l'ordre de 50 T/cm.

Mais surtout il manque à ce jour une description des forces en jeu dans la tumeur en place in vivo dans sa totalité et, à une échelle inférieure, dans les structures semi-solides en cause. Il n'existe pas de technologie permettant cette avancée qui est prioritaire pour rendre cette approche thérapeutique finement modulable et porteuse de promesses comme la réversion cancéreuse.

CHAPITRE 2: LE PASSE & LE FUTUR

Commençons par construire un pont entre le 19ème et le 21ème siècle

Les grands ancêtres

Dans son essai « On Growth and Form » D'Arcy W Thompson montre des corrélations spectaculaires entre les formes prises par des organismes et des organes et des lois de la mécanique. Mais il ne va pas au-delà de cette constatation et ne propose pas d'hypothèse de relation de cause à effet.

Avant lui on retiendra également le nom de J Wolff qui a montré la relation quantifiable, contrôlable, spécifique et réversible entre les forces appliquées à un os et le développement ainsi que la structuration interne de l'os dans diverses espèces.

Bien plus tard G I Bell montrera l'influence des forces sur la dissociation intercellulaire et C Murray (1926) le principe d'optimisation dans la circulation sanguine.

Le 'Zeitgeist', l'esprit du temps, depuis les années 1960 est que la clef de la compréhension de la cancérogénèse est à trouver à l'échelle moléculaire. La découverte du code génétique reposant sur l'ADN suivi de la description de la transcription puis de la signalisation-transduction forme un ensemble cohérent à l'échelle microscopique, celle de la génétique et de la biologie moléculaire.

Une théorie du cancer -ici nous parlons des tumeurs épithéliales- doit expliquer la cancérogénèse dans toutes ses étapes depuis la dysplasie jusqu'aux métastases.

La théorie de la mutation somatique (les cellules somatiques : toutes les cellules sauf les cellules germinales) est largement dominante et le lieu de naissance du cancer est la cellule. Les faits expérimentaux contradictoires ne manquent pas : les carcinogènes ne sont pas tous mutagènes (les hormones, ...) ; la cible des carcinogènes peut être la MEC et non pas la cellule ; une MEC exposée à un carcinogène mise en contact avec un tissu non cancéreux va entraîner une cancérisation de ce tissu, mais pas l'inverse ; un tissu cancéreux mis en contact étroit avec une MEC normale peut redevenir un tissu normal.

Ces deux derniers exemples plaident de plus pour la réalité de la réversion possible du cancéreux vers le non cancéreux.

La guerre contre le cancer

La symbolique fut lourde quand le Président Richard Nixon donne ce label à un grand plan d'étude du cancer, en 1971.

L'hypothèse est alors virale : des cellules normales mises en culture sont 'transformées' (c'est une étape majeure vers la cancérisation) par le virus du sarcome de Rous.

Mais dans la vraie vie, chez les vrais patients, pas de virus.

Pourtant il fut acquis:

Qu'un génome viral, avec peu de gènes, pouvait 'forcer' toute la machinerie génétique d'une cellule de mammifère à fonctionner sur un mode cancéreux : diminution de l'apoptose, perte de la différenciation, augmentation des divisions cellulaires...

En 1975 un premier 'oncogène', le SRC, est découvert : la cellule normale porte un gène qui une fois 'activé' par un virus peut transformer la cellule en culture.

Un peu plus tard les carcinogènes chimiques mutagènes rejoignent les radiations X, UV... dans le rayon des déclencheurs de cancer, sans intervention de virus. L'amiante qui n'est ni une molécule ni mutagène sera bientôt reconnue responsable de nombreux cancers chez les personnes qui y sont exposées.

D'autres oncogènes sont décrits dont un premier chez l'homme (RAS).

Mais la cancérisation est et reste 'multistep', à plusieurs étapes, résistant à toute explication du type : 'un événement unique (une mutation) peut entraîner un cancer'.

La découverte des 'gènes suppresseurs' (de cancer) ajoute à la confusion.

En 1989 il est démontré que plus une tumeur humaine progresse, plus grand est le nombre de mutations somatiques des oncogènes et des suppresseurs. Et le nombre, la nature et l'ordre d'apparition des mutations varie d'une tumeur à l'autre dans un même tissu d'origine et d'un tissu à l'autre. La perplexité fut grande : chaque cancer semble être une expérience évolutionniste à lui tout seul.

Pour organiser cette complexité croissante, proche du chaos, des signes distinctifs du cancer (hallmarks) sont proposés qui vont évoluer en nombre et qualité au cours des ans.

Mais la tumeur cancéreuse reste une cible mouvante avec des sous-populations, des remaniements génétiques et épigénétiques permanents.

L'ère des 'omics' et du Big data (trouvons le bon algorithme pour organiser la masse des données), de la médecine personnalisée (à chaque tumeur son traitement), ressemble à une fuite en avant.

Bien évidemment le Data Mining donne des informations utiles : deux cancers de même origine présentent des jeux d'expressions géniques ('expression array') sans aucun élément – génétique ou protéique – commun mais avec des valeurs pronostiques communes. Ces 'indicateurs pronostiques' permettent de ne pas imposer des traitements inutiles à de nombreux patients, ce qui est tout à l'honneur de la médecine personnalisée.

Le péché originel est commun : il y a autour du tissu cancéreux un autre tissu, la MEC, avec ses cellules inflammatoires, ses cellules immunitaires, sa néovascularisation, ses fibres qui génèrent sa rigidité.

L'unité pertinente en théorie du cancer - au moins des tumeurs solides - est bien le couple MEC/tissu.

Et maintenant?

45 ans plus tard la guerre n'a pas été gagnée. Elle est même perdue : augmentation du nombre des cancers, pas seulement due au vieillissement, augmentation des substances et des comportements cancérogènes...

Si une nouvelle construction théorique doit émerger il est évident qu'elle doit intégrer l'énorme acquis de ces dernières décennies : les cancers d'origine génétiques sont peu nombreux mais existent. Des mutations comme le BRCA dans le sein et l'ovaire ont une influence considérable sur le comportement tumoral dans la clinique quotidienne. Des mutations peuvent à elles seules entraîner des cancers ainsi que des virus.

La biologie des systèmes nous apporte un éclairage utile : réseaux, champs, attracteurs sont des mots peu familiers aux oreilles des biologistes ou des oncologues, mais ils essayent de trouver des règles pour organiser des connaissances en croissance exponentielle. Pour l'instant on reste dans le spéculatif mais des hypothèses pertinentes y sont testées.

Après la recherche viendra le développement. Aujourd'hui il faut 'Faire Savoir'

La Cancérologie Physique attirait peu l'attention jusqu'ici et était réservée à un petit cercle de gentle(wo)men académiques.

Aux USA, le National Cancer Institute après avoir richement doté, en 2009, douze des meilleures universités américaines pour faire travailler ensemble les médecins cancérologues et les bioingénieurs dans le cadre d'un 'Office for Physical Sciences and Oncology 'a publié une revue des efforts de recherche en mécanobiologie et en oncologie physique. Il publie régulièrement des résultats d'expérimentations menées dans ces équipes. Curieusement la production reste très centrée sur le fonctionnement biologique du cancer avec une prédominance de la mécanobiologie. Ce qui amène à la publication de nombreux articles se terminant par « et ainsi l'industrie pharmaceutique pourra trouver des cibles ... », ce qui s'éloigne du but de l'OP qui devrait être de promouvoir des traitements basés sur l'utilisation des conséquences physiques des signaux mécaniques.

A Singapour, un Institut de Mécanobiologie accueille plusieurs centaines de chercheurs dédiés à cette nouvelle approche de la cancérologie.

Signe encourageant une revue dédiée vient d'apparaître : Convergent Science Physical Oncology.

En Europe, il existe quelques laboratoires académiques dispersés (France, Allemagne, Espagne...) mais l'OP n'est présente ni dans les programmes Européens ou nationaux, ni dans les congrès scientifiques.

Mais l'effort de pédagogie avance : voir les références 'Introduction à l'OP'

La cancérologie physique doit sortir de l'ombre et s'adresse à la communauté des cancérologues. Nous nous inscrivons dans cette dynamique.

La poursuite de la recherche In Vivo dans la continuité de la Preuve de Concept (voir pages 19 à 22)

La Preuve d'Efficacité in vivo de l'action d'un champ de contrainte portera sur le traitement d'un cancer du pancréas humain greffé dans un pancréas de souris.

Cette technologie implique l'association de deux Dispositifs Médicaux : un Générateur de Gradient de Champ Magnétique, similaire en coût, volume... à une

actuelle IRM, et un consommable : des Nanoparticules qui vont apporter du fer, magnétisable, autour de la tumeur.

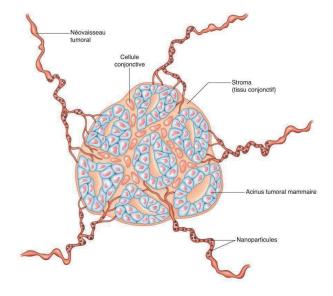


Figure 9

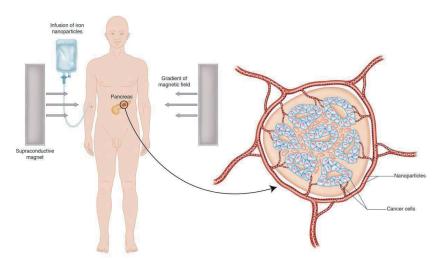


Figure 10

Le Schéma d'un futur traitement d'une tumeur profonde

Rendre disponible, à court terme, un nouveau traitement du cancer du pancréas ; une étape décisive pour l'approche In Vivo

Le projet de Preuve d'Efficacité fait suite à la Preuve de Concept commentée pages 19 à 22. Il faut d'abord construire un démonstrateur animal et l'expérimenter sur du cancer du pancréas humain greffé dans le pancréas de souris (on parle de greffe orthotopique) et montrer l'action d'un champ de contrainte dans ce cas de greffe profonde, et non plus sous cutanée; ce sera la 'Preuve d'Efficacité'. Puis un partenaire industriel sera nécessaire pour passer à l'échelle du patient.

Rappelons qu'il ne s'agit pas d'une molécule, d'un produit de type médicament mais de l'association de deux dispositifs médicaux et de l'utilisation des lois de la physique. Il n'y a donc que quelques années de développement avant l'arrivée au marché; bien moins que les sept à huit ans nécessaires pour les produits biologiques.

De plus ce procédé s'appuie sur les lois de la physique : les résultats obtenus et futurs peuvent être modélisés et sont donc prédictifs, réduisant encore l'aléa lié à la biologie.

Par ailleurs la toxicité (cause majeure d'arrêt de développement des molécules) est ici connue et à priori minime. En effet, des gradients de champ magnétiques sont utilisés chez des patients quotidiennement sans effets secondaires et des nanoparticules injectables ont été utilisés comme produits de contraste, y compris sous forme de particules vectorisées pour les cellules endothéliales de la néoangiogénèse.

Au-delà du cancer du pancréas

Ce type de traitement pourrait s'appliquer à tous les cancers dits localement évolués (locally advanced) et sans solution thérapeutique convenable à ce jour, comme le cancer du cerveau (glioblastome) ou le cancer primitif du foie non opérable.

A priori toute tumeur située dans le gradient doit pouvoir être traitée. Si la construction d'un appareil permettant d'inclure dans le volume traité les métastases n'est pas triviale sur le plan physique, elle n'est pas à exclure d'emblée.

Vers une fréquence de résonnance ?

La constance de différence de module de Young entre cellules cancéreuses et normales indépendantes du type de tissu d'origine du cancer amène à se poser la question de l'utilisation thérapeutique des ultrasons dans le domaine des très hautes fréquences. Les modèles cellulaires basées des 'springs' et des 'pots', ou des modèles plus sophistiqués, montrent la possibilité théoriques d'une discrimination par rapport au bruit et entre normal et cancéreux (M Fraldi, déjà cité). Mais pour aller plus loin il faudra penser résonnance sur l'ensemble du 'treillis' support de la mécanotransduction et sans doute sortir de la logique de destruction comme thérapeutique.

Vers un paradigme prenant en compte les signaux mécaniques

Le socle théorique de la cancérogénèse à partir des mutations cumulatives est solide et constant. Mais il est insuffisant. La première faille vient de la 'mise sous le tapis' de tout ce qui allait à l'encontre et que les premiers succès de la génétique et de la biologie moléculaire rendaient marginal.

L'autre déception vient de la grande stagnation de l'application thérapeutique des signaux mécaniques.

Une revisite de la cancérogénèse

La toute première anomalie est la perte de parallélisme du fuseau mitotique par rapport à la MEC. Mais pour la génétique, c'est l'acquisition de mutations.

Pour les physiciens, le passage du normal au cancéreux est une croissance rugueuse d'un quasi-cristal. On voit la difficulté de concilier ces deux modèles conceptuels.

Depuis la surface de la cellule

Si on fait la synthèse de ce que nous a appris l'OP:

Les cellules utilisent des récepteurs transmembranaires, comme les intégrines, pour coupler mécaniquement leur CSQ à la MEC et au noyau. Les CSQ cellulaires sont eux-mêmes reliés entre eux par d'autres récepteurs transmembranaires, comme les cadhérines, qui couplent entre elles les cellules du tissu cancéreux. L'ensemble forme ainsi un treillis de transmission des signaux mécaniques qui s'étend à travers tout l'organe cancer.

Notons que les récepteurs transmembranaires sensibles à des forces ou pressions mais qui ont peu de connections avec le CSQ ont du coup des effets purement locaux comme d'ouvrir un canal ionique, enclencher une signalisation vers le noyau donc au total transmettre des signaux biologiques.

Le CSQ joue sur ses composants, les filaments d'actine, les microtubules et les filaments intermédiaires pour contrôler un changement de rigidité -ou l'inverse-de la MEC.

Le contrôle va passer par une réaction rapide du CSQ. Précontraint, ce réseau cellulaire et transcellulaire canalise les signaux mécaniques : ceci permet la transmission d'information non seulement au noyau et à sa machinerie (épi)génétique, mais aussi aux structures intracellulaires physiquement liées au CSQ comme les mitochondries.

Cette canalisation évite les pertes d'énergie et de signal et concentre le signal vers ses cibles : production d'énergie par les mitochondries et synthèse de protéines par le noyau. L'ensemble des structures non liquides du tissu cancéreux ou non, de la matière molle en fait, représente environ 20 % du poids du tissu mais est le support exclusif de la transmission des signaux mécaniques. Il additionne les membranes cellulaires et nucléaires, les mitochondries, le CSQ cytoplasmique, le CSQ nucléaire, le réseau fibrillaire de la MEC.

La précontrainte du CSQ lui permet de réagir vite et de façon finement modulable à une force qui lui est transmise, et de la moduler en fonction de sa direction (pull, push, shear).

Cette précontrainte est liée à des équilibres entre les trois composants du CSQ qui sortent du champ d'une étude sur l'OP mais ont été l'objet d'une importante littérature. La précontrainte permet de gérer au mieux l'efficacité du maintien de l'architecture cellulaire, tissulaire et organique.

Nous n'aborderons pas ici les émissions de signaux biologiques concomitants à l'arrivée d'un signal mécanique : en effet non seulement il y a une biochimie en phase liquide mais il existe aussi une non moins importante biochimie en phase solide située au niveau de structures non solubles comme le CSQ. On pense par exemple à l'activation de Rho, petite GTPase qui va induire une contraction du CSQ par des voies génético-biochimiques quand elle est stimulée par une force appliquée à une intégrine. Cette contraction s'accompagne alors d'un assemblage

supra-moléculaire avec construction de point focaux d'adhésion qui vont renforcer la communication physique intercellulaire.

Bien sûr le système est bi-directionnel et la structure fibrillaire de la MEC va se modifier en réponse à une transmission de signaux mécaniques en provenance du tissu cancéreux, entraînant un changement de ses propriétés mécaniques. Ainsi une augmentation de la tension du CSQ intracellulaire va augmenter la tension de la MEC rétablissant l'homéostasie de l'organe.

Pour que le panorama soit complet il faut mentionner la présence en forte quantité de structures filamenteuses rigides qui triangulent la membrane cellulaire, ancrées dans la couche bilipidique membranaire. On retrouve des organisations de même nature autour du noyau et dans l'appareil mitotique au cours de la méiose.

Les grandes lignes sont tracées mais l'approche a été jusqu'ici plus qualitative que quantitative.

Le champ de contrainte et sa mesure

Les tissus des organes sont en permanence plongés dans un champ de contrainte. En tout point de l'organe cancer il existe donc des vecteurs force dont la direction et l'intensité peuvent varier à tout moment. Mais nous avons vu que ces forces sont canalisées (channelled) dans l'espace par les structures semi-solides et que ces structures sont précontraintes, assurant par cette tension isométrique la stabilité architecturale des cellules et tissus.

Les techniques de mesure des forces in vivo sont multiples avec des résultats dépendants de la technique et il manque une méthode uniciste.

Fractalité du Cancer

Toutes les structures de l'organe cancer sont fractales à l'échelle micro et mésoscopique. Sauf la tumeur elle-même qui est sphérique par défaut.

La surface des cellules cancéreuses (et ceci apparaît à un moment précis : quand la cellule 'transformée' devient cancéreuse) est fractale ainsi que la bordure de croissance de la tumeur. L'angiogénèse tumorale est fractale ainsi que le noyau et l'architecture du tissu cancéreux.

Cette dimension a été utilisée pour le diagnostic du cancer : lecture automatique des radios, des échantillons de biopsie, etc. avec une corrélation très forte entre le coefficient de fractalité et l'agressivité du cancer.

La première application semble avoir été la différence entre les microcalcifications des tumeurs bénignes et des tumeurs malignes du sein sur les mammographies : celles qui accompagnent les cancers ont une distribution fractale dans l'espace.

Ces constatations des liens entre changement de forme et évolution du phénotype n'épuisent pas de sujet : parler de fractales en biologie évoque immédiatement l'amélioration de performance énergétique liée à une géométrie fractale. Ainsi, la géométrie fractale de l'arbre bronchique optimise la dépense énergétique de la respiration.

Le métabolisme du cancer

La cancérisation et son changement progressif d'architecture modifient de nombreux fonctionnements enzymatiques dont le métabolisme qui fournit leur énergie aux cellules.

Dans une expérimentation publiée en 2011 F D'Anselmi et al ont montré un aspect original de ce 'phénomène de Warbürg' mais à l'envers : des cellules cancéreuses d'origine humaines sont réversées vers le normal. Au changement de forme vers la sphère, symétrie d'ordre un quantifié par analyse fractale, correspond un état énergétique minimal avec diminution de l'énergie de flexion (bending energy) de la membrane cellulaire. En parallèle le phénotype glycolytique cancéreux s'effondre avec diminution de l'accumulation de lactate et acides gras, puis la synthèse de citrate diminue, etc. jusqu'à atteindre le phénotype thermodynamique de la cellule normale avec une phosphorylation oxidative rétablie.

La production entropique est un index du potentiel métastatique ; la production entropique par unité de temps est corrélée à la fractalité et au taux de croissance cellulaire ; l'étude des mitochondries -véritables centrales thermiques cellulaires-dans cette optique reste très parcellaire ; le Fluor 18, support de la Tomographie par Emission de Positrons a révolutionné l'imagerie en cancérologie, le fluor marqué signant la présence d'un métabolisme de type cancéreux : l'hétérogénéité des fixation du fluor marqué à l'intérieur d'une tumeur mesurée par son coefficient de fractalité est un indicateur d'agressivité du cancer avec une corrélation avec la survie globale ; les changements de fractalité de la chromatine facilitent son accessibilité, son hétérogénéité de compaction , l'hétérogénéité du réseau des gènes et on peut ainsi dessiner une régulation de la transcription indépendante de la régulation classique du code génétique pouvant servir à tester les hypothèses d'apparition du phénomène de Warbürg.

On pourrait multiplier les exemples de l'utilisation de la fractalité du cancer mais il manque une analyse globale de l'interaction fractalité/métabolisme dans la cancérogénèse en OP.

On voit que l'OP ne se limite pas à l'application de la mécanique. L'approche thermodynamique doit converger vers cette nouvelle approche de la cancérologie.

Les abréviations utilisées

2D, 3D : En deux dimensions : culture de cellule qui s'étale et adhère au fond de la boîte de culture. A noter qu'il existe chez l'humain quelques rares épithéliums en 2D à une seule couche cellulaire.

En trois dimensions : culture de cellules qui s'organise dans l'espace pour reconstituer un tissu. On parle d'organoïdes.

CSQ: Cytosquelette

MAF: Microscope à Force Atomique

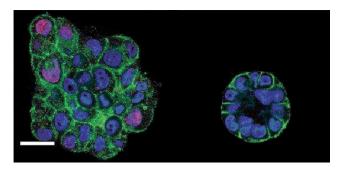
MEC: Matrice Extra Cellulaire

OP: Oncologie Physique

Glossaire

Acinus

Le terme **acinus** (au pluriel acini ou acinus) désigne une cavité épithéliale arrondie bordée par des **cellules sécrétrices** qui débouche dans le canal excréteur d'une glande.



Ici on voit un acinus cancéreux à droite redevenu normal à gauche (publication de G Venugopalan, D Fletcher, 2012, American Society for Cell Biology) après un confinement physique.

Biopsie

Une biopsie est le prélèvement d'une très petite partie d'un organe ou d'un tissu pour effectuer des examens dont le premier est l'examen au microscope après coloration. La biopsie est le préalable à tous diagnostic de cancer (d'où l'adage : pas de biopsie, pas de cancer).

Cancérogénèse

C'est tout le processus qui conduit d'un tissu normal à une tumeur cancéreuse. Les étapes de la cancérisation d'un épithélium : métaplasie, dysplasie, in situ, tumeur primitive, métastases.

Cytosquelette et ses composants

Le cytosquelette est un réseau de microfilaments (microtubules, filaments intermédiaires et filaments d'actine) présents à l'intérieur d'une cellule et qui assure sa rigidité et le maintien de ses propriétés mécaniques. Le cytosquelette se re(dé)construit constamment. Il gère les différents mouvements intracellulaires tels que le déplacement des chromosomes au cours de la division cellulaire par exemple. De même, il gère la déformation de la membrane cellulaire et la défend contre les agressions mécaniques.

Drosophile

La drosophile ou mouche du vinaigre est, en raison de sa facilité d'élevage, l'espèce modèle dans la recherche en génétique et l'outil préféré des embryologistes.

Epigénétique

L'épigénétique est l'étudie les mécanismes moléculaires qui modulent l'expression du patrimoine génétique en fonction du contexte.

Alors que la génétique correspond à l'étude des gènes, l'épigénétique s'intéresse à une « couche » d'informations complémentaires (par exemple la méthylation des gènes) qui définit comment ces gènes vont être utilisés par une cellule ou... ne pas l'être.

L'épigénétique fut d'abord mise en évidence par la différenciation cellulaire puisque toutes les cellules d'un organisme multicellulaire ont le même patrimoine génétique, mais l'expriment de façon très différente selon le tissu auquel elles appartiennent.

Epithélium

Les épithéliums sont des tissus constitués de cellules étroitement juxtaposées (ou jointives), sans interposition de fibre ou de tissus conjonctifs.

Les cellules sont associées les unes aux autres grâce à des jonctions intercellulaires. Les épithéliums ne sont pas vascularisés. L'apport des nutriments et l'export des déchets se font en relation avec le tissu conjonctif sous-jacent, par l'intermédiaire d'une lame basale (d'épaisseur variant entre 50 et 100 nanomètres) sur laquelle repose tout épithélium

Dans ce type de tissu, les cellules sont polarisées (les deux extrémités opposées sont morphologiquement et biochimiquement différentes. Dans un épithélium unicellulaire on distingue facilement la région apicale de la cellule et la région basale qui est accolée à la lame basale.

Microscope à force atomique

Le microscope à force atomique (AFM pour atomic force microscope) est un type de microscope à sonde locale permettant de réaliser la cartographie locale des grandeurs physiques caractéristiques de l'objet sondé (force, capacité, intensité de rayonnement.

Euclidien. Fractal

La géométrie Euclidienne est basée sur les postulats d'Euclide. Elle manipule des objets qui nous sont familiers : cercles, triangles, rectangles, etc.

Les fractales sont à l'image des poupées russes qui renferment une figurine identique à l'échelle inférieure. Cette conception implique cette définition tautologique : un objet fractal est un objet dont chaque élément est aussi un objet fractal (similaire).

Fibrose, Inflammation

La fibrose et l'inflammation sont deux termes vagues, aux causes multiples et aux conséquences variées. Persiste l'intuition qu'une inflammation chronique pourrait

être un élément déclencheur de la cancérogénèse, mais tout cela est encore trop imprécis pour être utile.

Fractal

Une figure fractale est un objet mathématique, telle une courbe ou une surface, dont la structure est invariante par changement d'échelle.

L'adjectif « fractal », à partir duquel l'usage a imposé le substantif une fractale pour désigner une figure ou une équation de géométrie fractale, est un néologisme créé par Benoît Mandelbrot en 1974. De nombreux phénomènes naturels – comme le tracé des lignes de côtes ou l'aspect du chou romanesco – possèdent des formes fractales approximatives.

Fuseau Mitotique

Pendant la division cellulaire les deux jeux de chromosomes sont attirés dans les deux futures cellules par un faisceau de microtubules qui vont tirer les chromosomes dans deux directions opposées

HER2

Environ 20 % des cancers du sein sont dits HER2 positifs ; les cellules cancéreuses portent à leur surface cette protéine surexprimée.

Avoir un cancer HER2 positif était un facteur de mauvais pronostic mais aujourd'hui avec l'apparition du trastuzumab qui inhibe fortement le fonctionnement de ce récepteur c'est devenu un facteur prédictif de bonne réponse au traitement.

Histologie

Pour examiner un tissu au microscope il faut le couper en fines lamelles, le 'fixer' dans la paraffine, le colorer puis l'examiner. C'est le travail de l'histologiste. L'histologiste qui examine les biopsies des patients est un anatopathologiste (pathologist en anglais).

In Vitro, Ex Vivo, In Vivo

In Vitro : 'Dans du verre' ; les premières boîtes de culture de cellules étaient en verre. Elles sont aujourd'hui en plastique.

Ex Vivo : 'En dehors du vivant' mais les tissus enlevés du patient peuvent être confiés à l'anatomopathologiste qui en fera l'analyse histologique, ou maintenu en vie pour des examens particuliers.

In Vivo: 'Chez le vivant', en pratique chez l'animal, l'homme.

Mécanotransducteur

Cadhérines, intégrines, vinculines... Ces protéines traversent les membranes entre cellules et les relient à la MEC. Un de leur rôle est de déclencher des réactions biochimiques intra-cellulaires mais elles sont aussi le chaînon de la transmission mécanique entre l'extérieur et l'intérieur de la cellule.

Intégrines

Les intégrines sont des récepteurs d'adhésion cellulaire, c'est-à-dire des protéines transmembranaires dont l'une des extrémités interagit en général avec des protéines de la matrice extracellulaire situées à l'extérieur de la cellule (quelques intégrines peuvent interagir avec des protéines transmembranaires de cellules voisines), l'autre extrémité interagissant avec des constituants intracellulaires, notamment des molécules de signalisation contrôlant la migration, la survie, la prolifération et la différenciation.

Les intégrines jouent un rôle très important dans la migration, la différenciation et la survie des cellules.

Membrane Basale

La membrane basale est une partie de matrice extracellulaire particulière qu'on trouve à l'interface entre un épithélium et le tissu conjonctif sous-jacent (souvent appelé chorion). Sa perméabilité régule les échanges de molécules, en particulier de nutriments, entre les deux tissus. Elle contient beaucoup de collagène.

Néovascularisation

Formation de nouveaux vaisseaux sanguins fonctionnels irrigant une tumeur (ou d'autres anomalies tissulaires, notamment oculaires).

Module de Young ou Module d'élasticité (en Pa)

Il relie la contrainte appliquée à un matériau et sa déformation

Matrice ExtraCellulaire (MEC) ou Stroma ou Tissu Conjonctif

La MEC représente une très grande partie du tissu cellulaire de l'organisme, essentiellement constituée par des cellules, notamment des fibroblastes qui fabriquent un autre constituant majeur, et de fibres principalement de collagène, qui lui conférent une grande résistance.

Elle est présente dans tous les organes, sauf le cerveau et relie les organes entre eux dans le cadre du tissu conjonctif.

Jusqu'à peu elle était présentée comme un 'tissu de soutien' sans rôle précis. Elle est maintenant au cœur des préoccupations pour son rôle de transmetteur de signaux vers les tissus de type épithélial.

Métaplasie, dysplasie

En anatomie pathologique, ou histologie - les deux termes seront ici utilisés indifféremment - la **métaplasie** est la transformation d'un tissu cellulaire différencié en un autre tissu cellulaire différencié. Il s'agit d'un phénomène adaptatif et réversible qui se produit le plus souvent en réponse à une agression tissulaire répétée et prolongée (inflammation, irritation mécanique ou chimique, infection). Elle accompagne de nombreux cancers.

On parle de **dysplasie** devant une altération acquise de l'architecture et de la fonction d'un tissu cellulaire à renouvellement rapide (épithélium de revêtement, etc.). La dysplasie possède une tendance globale à évoluer vers un cancer, ce qui en fait le synonyme parfois abusif d'état précancéreux.

Micropatterning

Le mot 'pattern' est très difficile à traduire. On a proposé 'patron' dans le sens que donnent les couturières à ce terme. C'est la reproduction d'une structure organisatrice. En biologie le micropatterning est l'adaptation à l'échelle de la cellule d'une application à la cellule d'un contrôle géométrique de son adhésion à un support de culture et le contrôle de la rigidité de son support.

Oncogène

Ce sont des gènes qui commandent la synthèse d'oncoprotéines, protéines stimulant la division cellulaire ou inhibant la mort cellulaire programmée (apoptose), ce qui déclenche une prolifération dite désordonnée (cancéreuse) des

cellules. Le terme oncogène peut désigner aussi des virus qui provoquent l'apparition de cancers.

Organoïde

En culture cellulaire, un organoïde est une structure multicellulaire tridimensionnelle qui reproduit *in vitro* la micro-anatomie d'un organe ; c'est donc un modèle de l'organe (ou un mini-organe). Un organoïde est généralement obtenu à partir d'une ou plusieurs cellules précurseurs d'un tissu, de cellules souches embryonnaires ou de cellules souches pluripotentes induites, qui peuvent s'auto-organiser en trois dimensions, notamment grâce à leurs propriétés d'auto-renouvellement et de différenciation.

Les techniques d'obtention et de production d'organoïdes de différents tissus se sont développées de manière accélérée depuis les années 2010.

Output, Input

Anglicismes qui en biologie désignent les signaux d'entrée et de sortie.

Pascal (Pa)

Le pascal, de symbole Pa, est l'unité de pression ou de contrainte du Système international d'unités (SI) en Newton par mètre carré.

Polarité

La polarité cellulaire se définit par rapport à la surface de l'épithélium, à la membrane basale et aux cellules adjacentes.

Le pôle apical est l'extrémité cellulaire vers le milieu extérieur.

Le pôle basal est l'extrémité cellulaire vers le milieu intérieur.

Les faces latérales sont les extrémités vers les cellules adjacentes.

La polarité cellulaire est aussi définie par une répartition caractéristique de certains organites, de certaines enzymes et de certains récepteurs membranaires au pôle apical, au pôle basal ou encore aux faces latérales.

Références

Introduction à l'OP

- Conférence TED de Mina Bissell https://www.ted.com/speakers/mina_bissell
- Article d'Erika Jonietz dans Nature http://www.nature.com/naturejobs/science/articles/10.1038/491S56a
- Article dans Biofutur, en français, par Rémy Brossel 'Du bon usage de la force en cancérologie' 4 juillet 2016

Ingber DE (2006) Cellular mechanotransduction: putting all the pieces together again.
 FASEB J 20(7): 811-827

La Mécanobiologie

E Farge (2017) Cancer: Les cellules sous Pression. La Recherche, 520, 71-75

Les Forces

B L Ricca et al (2014) To pull or be pulled: Parsing the multiple modes of mechanotransduction. Curr Opin Cell Biol 25(5) 1016/j.ceb 2013 06.002

La Liaison entre la MEC et le noyau

Wang N, Tytell JD, & Ingber DE (2009) Mechanotransduction at a distance: mechanically coupling the extracellular matrix with the nucleus. *Nat Rev Mol Cell Biol* 10(1): 75-82.

L'In Vitro

M J Paszek et al (2005) Tensional Homeostasis and the Malignant Phenotype. Cancer Cell 8: 241-254

Trepat X (2011) Forcing Tumor Arrest. Physics 4: 85.

Montel F, et al. (2011) Stress clamp experiments on multicellular tumor spheroids. *Phys Rev Lett* 107(18): 188102.

G Cheng et al. Micro-Environnental Mechanical Stress Controls Tumor Spheroid Size and Morphology by Suppressing Proliferation and Inducing Apoptosis in Cancer Cells. PloS One 4(2) doi: 101371/journal.pone.00046

Olcum M & Ozcivici E (2014) Daily application of low magnitude mechanical stimulus inhibits the growth of MDA-MB-231 breast cancer cells *in vitro*. *Cancer Cell Int* 14(1): 102.

L'Ex Vivo

Plodinec M, et al. (2012) The nanomechanical signature of breast cancer. Nat Nanotechnol 7(11): 757-765.

L'In Vivo

Un article présentant ces résultats a été publié le 21 avril 2016 par la revue PloS One par R Brossel et al. http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0152885
Une présentation a été faite en juin 2016 à Boston au congrès de l'AACR et publiée dans Cancer Research. http://cancerres.aacrjournals.org/content/77/2 Supplement/A41.short

Métabolisme

D'Anselmi et al. (2011). Metabolism and cell shape in cancer: a fractal analysis. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 43(7), 1052-1058.

Les Technologies de Mesure des Forces In Vivo

P Roca-Cusachs et al. Quantifying Forces in Cells. Nature Cell Biology 19, 742–751 (2017) doi:10.1038/ncb3564

Prospective

J Werfel et al. (2013) How Changes in Extracellullar Matrix Mechanics and Gene Expression Variability Might Combine to Drive Cancer Progression. Plos One 8 (10) e76122





I want morebooks!

Buy your books fast and straightforward online - at one of the world's fastest growing online book stores! Environmentally sound due to Print-on-Demand technologies.

Buy your books online at

www.get-morebooks.com

Achetez vos livres en ligne, vite et bien, sur l'une des librairies en ligne les plus performantes au monde!

En protégeant nos ressources et notre environnement grâce à l'impression à la demande.

La librairie en ligne pour acheter plus vite

www.morebooks.fr

OmniScriptum Marketing DEU GmbH Bahnhofstr. 28 D - 66111 Saarbrücken Telefax: +49 681 93 81 567-9

