

## RÉFÉRENCES

- Golembeski SM, West J, Tada Y, Fagan KA. Interleukin-6 causes mild pulmonary hypertension and augments hypoxia-induced pulmonary hypertension in mice. *Chest* 2005 ; 128 : S572-3.
- Steiner MK, Syrkin OL, Kolliputi N, et al. Interleukin-6 overexpression induces pulmonary hypertension. *Circ Res* 2009 ; 104 : 236-44, 28p following 44.
- Le Hires M, Tu L, Ricard N, et al. Proinflammatory signature of the dysfunctional endothelium in pulmonary hypertension. Role of the macrophage migration inhibitory factor/CD74 complex. *Am J Respir Crit Care Med* 2015 ; 192 : 983-97.
- Hashimoto-Kataoka T, Hosen N, Sonobe T, et al. Interleukin-6/interleukin-21 signaling axis is critical in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015 ; 112 : E2677-86.
- Jasiewicz M, Knapp M, Waszkiewicz E, et al. Enhanced IL-6 trans-signaling in pulmonary arterial hypertension and its potential role in disease-related systemic damage. *Cytokine* 2015 ; 76 : 187-92.

## NOUVELLE

### Retournement de situation dans la dissémination des cancers colorectaux

Olivier Zajac<sup>1</sup>, Fanny Jaulin<sup>2</sup>

➤ Les métastases, tumeurs secondaires formées à distance, sont responsables de 90 % des décès de patients atteints de cancer. La compréhension des mécanismes de dissémination des cellules tumorales est donc une priorité si nous voulons interférer avec cette cascade métastatique.

Les carcinomes sont des cancers formés à partir de tissus épithéliaux. Ils représentent environ 85 % des tumeurs recensées. Les épithéliums, à l'interface entre les organes et le milieu extérieur, assurent la protection et l'homéostasie des individus. Ils sont constitués de cellules épithéliales étroitement cohésives et hautement polarisées. Les jonctions intercellulaires adhérentes, organisées autour de la E-cadhérine, et jonctions serrées, organisées autour des claudines, contrôlent la perméabilité de la monocouche épithéliale. Chaque cellule est polarisée, son pôle apical faisant face à la cavité luminale de l'organe alors que le pôle basolatéral est au contact du milieu interne, notamment de la lame basale (Figure 1). Les carcinomes se développent à partir d'une cellule unique qui prolifère initialement de façon localisée, constituant un cancer *in situ*. Lorsque la maladie progresse, les cellules tumorales quittent le tissu épithé-

lial pour envahir le microenvironnement péritumoral principalement constitué de collagène-I et de fibroblastes. Elles y atteindront différentes voies de dissémination, comme les vaisseaux lymphatiques et sanguins, ou encore certaines cavités qu'elles emprunteront pour accéder à des organes secondaires.

La locomotion des cellules tumorales dans leur microenvironnement est une étape cruciale de la cascade métastatique et une cible thérapeutique attrayante. Les mécanismes d'invasion des cellules tumorales ont fait l'objet de nombreuses études, dont la majorité portent sur la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT) [1] (→).

Ce programme transcriptionnel module certaines étapes du développement embryonnaire comme la gastrulation et la formation du tube neural [2]. L'EMT peut être activée par différentes voies de signalisation, notamment celle du TGF- $\beta$  (*transforming growth factor- $\beta$* ). Ce processus peut participer à la dissémination des carcinomes en permettant l'individualisation des cellules épithéliales transformées grâce à la répression de l'expression du gène codant l'E-cadhérine, entraînant la dissolution des jon-

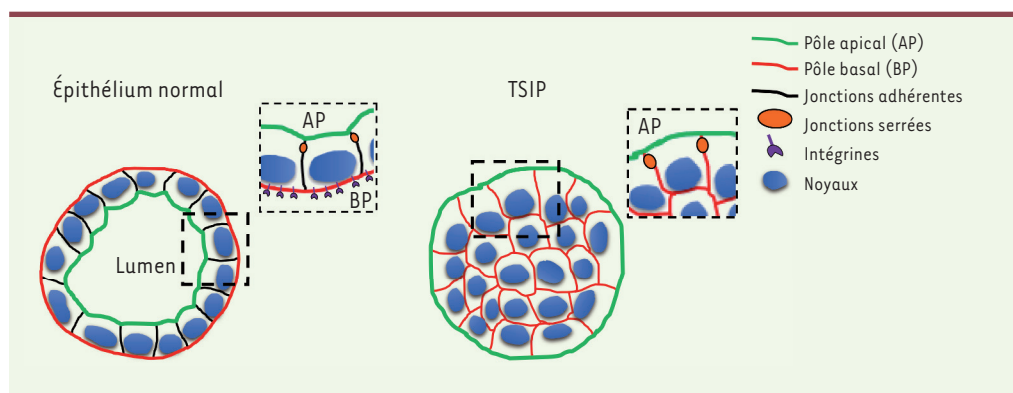
<sup>1</sup>Institut Curie, 26, rue d'Ulm 75005 Paris, France.

<sup>2</sup>Institut Gustave Roussy, 114, rue Édouard Vaillant, B2M, 94800 Villejuif, France.

[fanny.jaulin@gustaveroussy.fr](mailto:fanny.jaulin@gustaveroussy.fr)

tions intercellulaires. Les cellules perdent alors leur architecture épithéliale, leur polarité apico-basolatérale, et gagnent des capacités migratoires et protéolytiques leur permettant d'envahir les tissus sains du patient [2]. En observant des explants de tumeurs *ex-vivo*, Peter Friedl avait montré, dès 1995, la capacité des cellules tumorales à envahir collectivement les tissus [3]. Non spécifique des cancers, la migration collective orchestre de nombreuses étapes du développement embryonnaire. Elle est caractérisée par une coopération entre les cellules de la cohorte migrant grâce au maintien de leurs jonctions intercellulaires. Récemment, l'utilisation des modèles murins de cancers du sein a permis de démontrer que des cohortes de cellules tumorales atteignent la circulation hématogène et initient la formation de métastases [4-6]. La contribution respective des cellules isolées et des cohortes à la formation de métastases est actuellement très débattue [7, 8]. La nature du modèle expérimental choisi semble fortement influencer le mode d'invasion emprunté par les cellules cancéreuses, mais l'acquisition des propriétés invasives semble toujours associée à une perte de l'architecture épithéliale [9]. Au-delà des modèles, les mécanismes entraînant la dissémination

(→) Voir la Synthèse de C. Moyret-Lalle et al., *m/s* n° 8-9, août-septembre 2016, page 725



**Figure 1. Organisation d'un épithélium normal ou transformé.** Les cellules épithéliales sont polarisées et leur pôle basal (BP) est tourné vers la matrice extracellulaire. Dans les sphères tumorales à polarité inversée (TSIP), c'est le pôle apical (AP) qui est en contact avec l'extérieur.

métastatique chez les patients restent peu étudiés et donc méconnus. Étant de nature hétérogène, de par l'organe dans lequel elles sont nées ou leurs profils moléculaires, les cellules tumorales utilisent probablement diverses stratégies pour conquérir, coloniser et former des métastases dans les organes secondaires. L'enjeu est donc de déterminer les modalités de dissémination des différents types de cellules cancéreuses afin d'envisager des thérapies ciblées.

Le cancer colorectal (CCR) est la seconde cause de mortalité liée au cancer. Ces tumeurs métastasent vers le foie, les poumons et le péritoine, une membrane séreuse tapissant la cavité abdominale et recouvrant les viscères. Les cellules tumorales colonisent la cavité péritonéale par voie transcœlomique<sup>1</sup> ou systémique et envahissent le péritoine pour y former des tumeurs secondaires, appelées carcinomes péritonéaux (CP), qui représentent un facteur de très mauvais pronostic pour les patients. Afin de comprendre les mécanismes à l'origine de ce processus, nous avons entrepris une étude prospective analysant la nature et le comportement des intermédiaires tumoraux prélevés sur plus de 50 patients ayant une CP dérivant d'un CCR. De façon inattendue, nous avons identifié un mode de dissémination collective inconnu à ce jour, durant lequel les caractéristiques épithéliales sont maintenues, mais détournées [10].

Afin de caractériser et d'étudier les intermédiaires tumoraux responsables du développement des métastases chez ces patients, nous avons collecté de façon systématique le liquide contenu dans la cavité, désigné effusion péritonéale (EP), au cours des chirurgies de résection combinées à des chimiothérapies intra-péritonéales (CHIP). Nous avons pu identifier des cellules tumorales d'origine colorectale dans 80 % des EP. Les cellules tumorales y étaient organisées sous forme de cellules indépendantes (13 % des EP) ou bien en groupes (41 % des EP) ; 27 % contenaient les deux. Comportant 250 cellules en moyenne, les groupes de cellules représentent le compartiment tumoral le plus fréquent et le plus abondant. Chez 88 % des patients, ces groupes de cellules tumorales prennent la forme de sphères régulières. De façon intrigante, ces sphères tumorales sont retrouvées dans les EP de patients présentant des CRC de types histologiques de mauvais pronostics (mucineux [MUC], micropapillaires et cribriformes), soit environ 50 % des patients de notre cohorte, et sont corrélées à l'abondance des métastases. Ces sphères présentent l' $\epsilon$ -cadhérine et ZO-1 (*zonula occludens-1*) au niveau des contacts cellule-cellule, démontrant une forte cohésion cellulaire et l'absence d'EMT. La présence de marqueurs apicaux, tels que l'ezrine<sup>2</sup>, et de marqueurs basolatéraux, comme

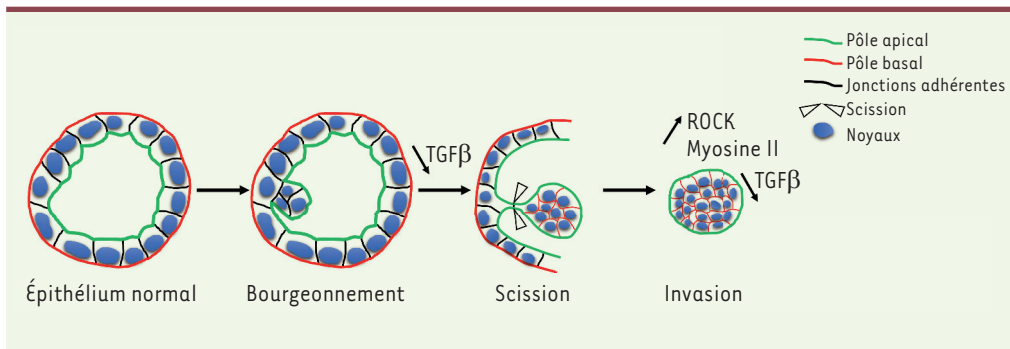
*scribble*<sup>3</sup> ou des intégrines, démontrent que la polarité apico-basolatérale (AB) est maintenue, malgré l'avancement de la maladie. Cependant, contrairement aux tissus épithéliaux normaux, le pôle apical est orienté vers l'extérieur du groupe de cellules, en contact avec les fluides et les tissus des patients. Le pôle basolatéral est quant à lui ségrégué à l'intérieur du groupe de cellules cancéreuses. Inconnus à ce jour, nous avons appelé ces intermédiaires tumoraux « sphères tumorales à polarité inversée » (TSIP, Figure 1). Pour déterminer si les TSIP sont des intermédiaires tumoraux bénins ou malins, nous les avons injectées dans la cavité péritonéale de souris immunodéprimées. Tout en conservant leur polarité AB inversée, les TSIP sont capables d'induire la formation de métastases au niveau du péritoine et sont même plus efficaces que les cellules individuelles.

Nous avons ensuite souhaité comprendre les mécanismes de formation des TSIP. Nous avons tout d'abord testé si les cellules indépendantes collectées à partir des effusions péritonéales pouvaient s'agréger et/ou proliférer pour former les TSIPs. Dans ces expériences, en suspension ou dans un gel 3D de matrice extracellulaire (MEC), ces cellules meurent très rapidement et sont incapables de former des TSIP. Nous avons alors recherché les TSIP au niveau des tumeurs primitives. Une analyse histologique nous a permis non seulement d'identifier les TSIP au

<sup>1</sup> Les cavités cœlomiques et leurs parois forment les cavités pleurales des poumons, la cavité péricardique qui abrite le cœur, et la cavité péritonéale qui renferme les viscères.

<sup>2</sup> Protéine d'ancrage direct de la membrane plasmique au cytosquelette d'actine, qui appartient à la famille ERM (ezrine, radixine et moésine).

<sup>3</sup> *Scribble* a été identifié comme un suppresseur de tumeur chez la drosophile et participe au maintien du pôle apical.



**Figure 2. Schématisation de la biogenèse des sphères tumorales à polarité inversée.** Les sphères tumorales à polarité inversée (TSIP) se forment par bourgeonnement du côté luminal, et s'accompagnent d'une diminution de la signalisation TGF- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ).

La migration des TSIP est liée à une activité contractile de la myosine II via l'activité de Rock (*Rho-associated coiled-coil-containing protein kinase 2*).

sein des CCR, mais également d'envisager leur mécanisme de biogenèse. Souvent localisées à proximité de vestiges glandulaires de morphologie festonnée, il semble que les TSIP puissent être formées par bourgeonnement et scission à partir de l'épithélium transformé (Figure 2). Nous avons confirmé cette hypothèse à partir d'une lignée cellulaire de CCR de type histologique MUC, capable de bourgeonner *in vitro* et de libérer des TSIP en suspension. Afin d'identifier les mécanismes moléculaires régulant ce processus, nous avons comparé les profils d'expression génique des CCR produisant ou non des TSIP. Ces analyses bioinformatiques ont révélé que les CCR formant des TSIP présentent une forte diminution de la signalisation du TGF- $\beta$ . Utilisant ces cultures cellulaires, nous avons pu démontrer que l'inhibition des voies canonique et non-canonique du TGF- $\beta$  promeut la biogenèse des TSIP par bourgeonnement, alors que la voie non-canonique maintient seulement l'inversion de la polarité AB après formation des TSIP. Comment les TSIP peuvent-elles envahir les tissus alors que leur topologie est inversée, le pôle basolateral spécialisé dans la migration étant sans contact avec la MEC ? Nous avons pu démontrer que les TSIP envahissent des explants de péritoine de patients aussi aisément que des gels de MEC. L'inhibition de protéines impliquées dans la migration des cohortes de cellules normales, telles

que FAK (*focal adhesion kinase*), Rac1<sup>4</sup> (petite GTPase) ou les intégrines, n'a aucune incidence sur le déplacement des TSIP. Par contre, en ciblant la myosine-II ou la kinase ROCK (*Rho-associated coiled-coil containing protein kinase*), nous avons pu réduire la contractilité périphérique des TSIP et diminuer très fortement leur vitesse de migration. Contrairement aux autres modes de migration collective décrits à ce jour, le mouvement des TSIP semble indépendant de l'adhérence et repose principalement sur un cortex contractile.

Ainsi, nous avons identifié un nouvel intermédiaire tumoral malin, les TSIP, dont la structure et le comportement étaient imprédictibles à partir des modèles expérimentaux. Les TSIP maintiennent une architecture épithéliale robuste, même dans des CCR métastatiques très avancés. Leur topologie inversée et leur pôle apical périphérique isolent les cellules tumorales du microenvironnement normal du patient. Cette topologie unique leur procure certainement de nombreux avantages sélectifs, mais impose un mode de migration collective différent de ceux décrits à ce jour. Des questions restent néanmoins en suspens : les TSIP sont-elles spécifiques de la dissémination des CCR vers le péritoine ? Ont-elles la capacité de coloniser d'autres organes secondaires, notam-

ment par la circulation hématogène ? Les TSIP peuvent-elles être formées par des carcinomes nés dans d'autres organes ? Des approches du lit du patient à la paillassette (*bedside to bench*) complémentaires devraient permettre de répondre à ces questions.  $\diamond$

### Upside-down topology in metastatic colorectal carcinomas

#### REMERCIEMENTS

Nous remercions l'ensemble de l'équipe et le comité de pathologies digestives pour de stimulantes interactions qui nous ont permis d'entreprendre et de développer ces travaux de recherche. Nous remercions le programme ATIP/AVENIR (CNRS/Inserm), la Fondation Gustave Roussy, Natixis, le programme Émergence du cancerpôle et la campagne « Mars bleu » sans qui cette étude n'aurait pu aboutir.

#### LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

- Morret-Lalle C, Pommier R, Bouard C, et al. Plasticité des cellules cancéreuses et dissémination métastatique. *Med Sci (Paris)* 2016 ; 32 : 725-31.
- Thiery J P, Acloque H, Huang RYJ, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 2009 ; 139 : 871-90.
- Friedl P, Noble PB, Walton PA, et al. Migration of coordinated cell clusters in mesenchymal and epithelial cancer explants in vitro. *Cancer Res* 1995 ; 55 : 4557-60.
- Aceto N, Bardia A, Miyamoto DT et al. Circulating tumor cell clusters are oligoclonal precursors of breast cancer metastasis. *Cell* 2014 ; 158 : 1110-22.
- Cheung KJ, Gabrielson E, Werb Z, et al. Collective invasion in breast cancer requires a conserved basal epithelial program. *Cell* 2013 ; 155 : 1639-51.
- Cheung KJ, Padmanaban V, Silvestri V, et al. Polyclonal breast cancer metastases arise from collective dissemination of keratin 14-expressing tumor cell clusters. *Proc Nat Acad Sci USA* 2016 ; 113 : E854-63.

<sup>4</sup> Rac1, comme les autres membres de la famille Rho (Rho/Rac/Cdc42), appartient à la superfamille des GTPases Ras.



## RÉFÉRENCES

- Fischer KR, Durrans A, Lee S, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition is not required for lung metastasis but contributes to chemoresistance. *Nature* 2015 ; 527 : 472-6.
- Zheng X, Carstens JL, Kim J, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition is dispensable for metastasis but induces chemoresistance in pancreatic cancer. *Nature* 2015 ; 527 : 525-30.
- Feigin ME, Muthuswamy SK. Polarity proteins regulate mammalian cell-cell junctions and cancer pathogenesis. *Curr Opin Cell Biol* 2009 ; 21 : 694-700.
- Zajac O, Raingeaud J, Libanje F, et al. Tumour spheres with inverted polarity drive the formation of peritoneal metastases in patients with hypermethylated colorectal carcinomas. *Nat Cell Biol* 2018 ; 20 : 296-306.

## NOUVELLE

### Un sommeil paradoxal agité peut refléter l'émergence de maladies neurodégénératives

Sara Valencia Garcia, Patrice Fort

Centre de recherche en neurosciences de Lyon (CRNL),  
équipe SLEEP, CNRS UMR5292, Inserm U1028,  
université Claude-Bernard-Lyon-1, 7 rue Guillaume Paradin,  
69372 Lyon, France.  
[patrice.fort@univ-lyon1.fr](mailto:patrice.fort@univ-lyon1.fr)

► Un phénomène qui a depuis des millénaires fasciné les humains est l'immobilité qui donne au corps cette apparence de « petite mort » à notre vie nocturne endormie. La science n'a que récemment apporté une explication à ce phénomène qui est spécifique du sommeil paradoxal (SP), l'état d'inconscience pendant lequel se joue la majorité des rêves et qui se caractérise par une très importante activité cérébrale étonnamment associée à une atonie musculaire généralisée. Ce dernier signe distinctif est loin d'être anecdotique, puisqu'il nous protège de mouvements inconscients issus de l'activité onirique potentiellement dangereux pour le dormeur, comme en témoigne le syndrome neurologique du RBD (*rapid eye movement sleep behavior disorder*). Les patients souffrant de RBD perdent en effet l'atonie musculaire du SP, et, n'étant plus paralysés, deviennent alors capables de mouvements complexes, violents, agressifs et de vocalisations [1, 2]. Au-delà de la parasomnie délétère sur la qualité de vie des patients qu'il faut comprendre pour la traiter, le RBD s'avère également être étroitement lié à des maladies neurodégénératives sévères de type  $\alpha$ -synucléinopathique (une accumulation intraneuronale de corps de Lewy formés d'agrégats toxiques de la protéine  $\alpha$ -synucléine mal conformée),

comme la maladie de Parkinson (MP) [3] (→). Plusieurs études longitudinales ont établi que le RBD est le meilleur marqueur diagnostique précoce de la MP, avec une fenêtre temporelle d'une dizaine d'années [4]. Mais comment expliquer le lien entre ces deux maladies, *a priori* si distinctes ? Une théorie actuelle propose que les aires cérébrales responsables de l'atonie seraient atteintes par une  $\alpha$ -synucléinopathie, provoquant le RBD et qui se propagerait au cours des années à l'ensemble du cerveau, provoquant la MP [5]. Placées dans ce contexte, nos études récentes ont visé à décrypter le réseau neuronal responsable de l'atonie musculaire du SP et à démontrer que son dysfonctionnement provoquerait un RBD. Il est admis que le mécanisme sous-jacent de l'atonie musculaire est une inhibition spécifique durant le SP des motoneurons spinaux, les unités fonctionnelles contrôlant l'activité des muscles somatiques. Pendant le SP, ces motoneurons sont soumis à un intense bombardement synaptique par l'intermédiaire de la glycine, un puissant neurotransmetteur inhibiteur, provoquant l'hyperpolarisation de leur potentiel de membrane [6]. Nous avons récemment

(→) Voir la nouvelle de P. Fort et S. Valencia Garcia, *m/s* n° 10, novembre 2017, page 828

démonstré qu'une petite région du pont dorsal, le noyau sublatérodorsal (SLD) formé de neurones glutamate excitateurs, est le générateur de l'atonie [7]. Dès lors, l'objectif de la présente étude publiée dans *Nature Communications* [8] a été de circonscrire la population de neurones GABA/glycine placée sous le contrôle de ce générateur et capable dès lors de promouvoir l'inhibition des motoneurons somatiques spécifiquement pendant le SP. Il existe, depuis plus de 30 ans, un débat scientifique acharné sur la localisation de ces neurones inhibiteurs : dans le bulbe rachidien à l'arrière du cerveau, ou directement dans la moelle épinière à proximité des pools motoneuronaux [9]. Pour faire progresser cette question, nous avons réalisé une série d'expériences anatomo-fonctionnelles couplant l'utilisation de marqueurs moléculaires, de traceurs rétrogrades, et des tâches comportementales chez le rat [8]. Nos résultats montrent clairement que seule la partie ventro-médiane du bulbe rachidien (vmM) contient des neurones glycine qui sont recrutés pendant le SP et sont connectés aux motoneurons lombaires. D'autres neurones glycine se distribuent effectivement dans les couches VII et VIII de la moelle épinière, mais pratiquement aucun n'est activé pendant le SP, une condition *sine-qua-*