

INVASION ET DISSÉMINATION MÉTASTATIQUES DANS LE CANCER DU SEIN : mécanismes

A. NOËL (1), CH. GILLES (1), J-M. FOIDART (1, 2)

RESUME : La formation de métastases est un phénomène complexe faisant intervenir des altérations génétiques et épigénétiques induisant des dérégulations de nombreuses voies moléculaires et des perturbations dans la production et les fonctions de nombreux médiateurs moléculaires. Les travaux récents ont également mis en lumière l'importance de multiples interactions entre les cellules tumorales et les cellules de l'hôte impliquées dans l'élaboration d'un microenvironnement favorable à la survie et à la croissance des cellules tumorales. Ces interactions hôte-tumeur semblent décisives, non seulement au site de la tumeur primaire, mais également à distance de celle-ci. Le cancer apparaît donc de plus en plus comme une maladie systémique dans laquelle la cellule cancéreuse n'est qu'un pion de l'échiquier. Les systèmes de défense sont vite dépassés et la tumeur détourne à son compte les cellules propres de l'hôte pour promouvoir sa dissémination qui se passe à un stade probablement plus précoce qu'initialement anticipé. Dans cette revue, nous présentons les nouveaux concepts de formation de métastases issus des recherches récentes basées sur des analyses transcriptomiques et sur les nouvelles connaissances acquises sur le microenvironnement des cellules tumorales, tant dans les tumeurs primaires que dans les foyers secondaires.

MOTS-CLÉS : *Métastases - Niche métastatique - Cellules souches cancéreuses - Transition épithélio-mésenchymateuse - Signature moléculaire*

INTRODUCTION

Les métastases, définies comme le développement de tumeurs secondaires à distance de la tumeur primaire, sont responsables de la morbidité et de la mortalité des patientes atteintes de cancers du sein. Les tumeurs primaires peuvent être réséquées par chirurgie, mais les cellules qui ont acquis la capacité de se disséminer dans l'organisme et de s'implanter dans un organe secondaire sont difficiles à cibler en thérapie. La dissémination métastatique est souvent définie comme une séquence d'événements se déroulant dans la tumeur primaire (angiogenèse et prolifération de la tumeur primaire, invasion locale des tissus adjacents), dans la circulation sanguine et/ou lymphatique (entrée, survie et transport dans les vaisseaux), et enfin, dans les organes colonisés à distance par les cellules cancéreuses

INVASION AND METASTATIC DISSEMINATION IN BREAST CANCER : MECHANISMS

SUMMARY : Metastases formation is a complex process involving genetic and epigenetic modifications leading to several molecular pathway dysfunctions and alterations in the production and function of a panel of molecular mediators. Recent studies have shed light on the importance of multiple interactions occurring between tumor cells and host cells involved in the elaboration of a microenvironment permissive for tumor cell survival and growth. These tumor-host interactions are decisive, not only in the primary tumor, but also in secondary sites colonized by tumor cells. Cancer appears more and more as a systemic disease in which tumor cell is one of the pawn in the game. System of defense are rapidly overwhelmed and tumor cells hijack host cells to promote their dissemination that likely occurs at earlier stages than initially anticipated. In the present review, we describe the novel concepts of metastases formation based on recent transcriptomic analyses and new insights acquired on the tumor microenvironment in the primary tumor and in secondary foci.

KEYWORDS : *Metastases - Metastatic niche - Cancer stem cells - Epithelial to mesenchymal transition - Molecular signature*

(arrêt dans le tissu, extravasation, angiogenèse et prolifération) (1, 2). Pendant des décennies, les métastases ont été considérées comme l'étape finale d'un long processus au cours duquel des mutations s'accumulent dans les gènes des cellules cancéreuses. Ainsi, les cellules tumorales présentent une instabilité génétique favorisant l'accumulation de modifications génétiques et épigénétiques. Selon cette théorie, différentes populations de cellules cancéreuses évoluent, s'adaptent et survivent dans leur microenvironnement spécifique. Les cellules métastatiques qui émergent de ce processus de sélection sont considérées comme des «super clones» capables de traverser différentes barrières physiologiques successives (membranes basales, tissus conjonctifs et parois vasculaires), et de coloniser de nouveaux organes. En 2000, Hanahan et Weinberg (3) publiaient dans la revue *Cell* un article fondamental conceptualisant les six caractéristiques déterminantes de la progression tumorale et de la dissémination métastatique : (a) indépendance vis-à-vis des signaux de prolifération; (b) insensibilité aux signaux antiprolifératifs; (c) pouvoir d'invasion; (d) stimulation de l'angiogenèse; (e) potentiel illimité de répllication; (f) acquisition d'une résistance à l'apoptose. Deux nouvelles

(1) Laboratoire de Biologie des Tumeurs et du Développement, GIGA-Cancer, Université de Liège, CHU de Liège.

(2) Département de Gynécologie et Obstétrique, CHR Citadelle, 4000 Liège.

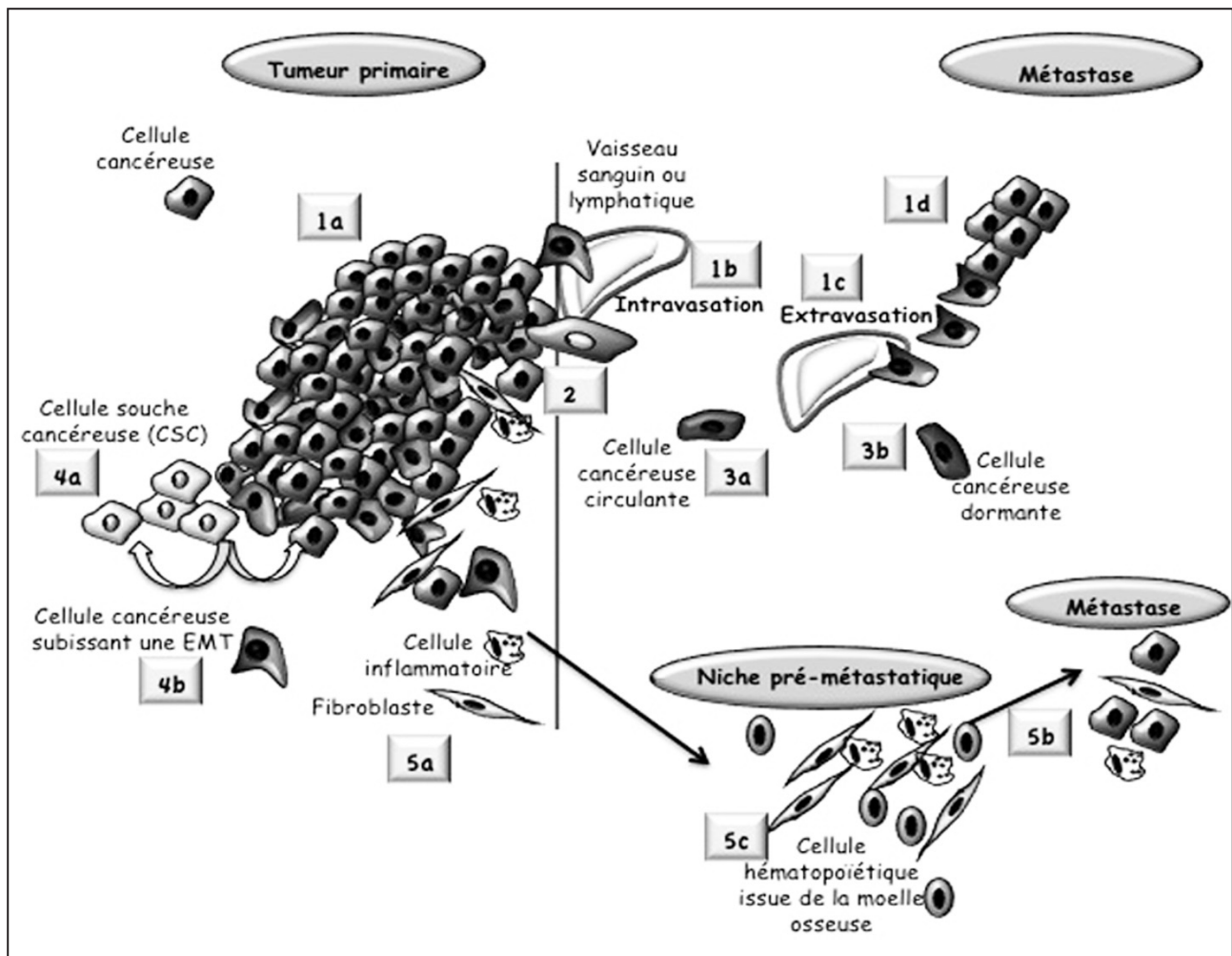


Figure 1. Les différents concepts de métastases. Des recherches menées sur les métastases découlent différents concepts qui ne sont pas mutuellement exclusifs. 1. La dissémination métastatique est souvent considérée comme une cascade d'événements impliquant l'accumulation de mutations et l'acquisition de capacités prolifératives et invasives (1a) par les cellules cancéreuses, telles que la capacité d'envahir les tissus adjacents, de traverser la paroi de vaisseaux sanguins ou lymphatiques (intravasation) (1b), de sortir dans l'organe cible (extravasation) (1c) et de former des foyers secondaires (1d). Selon cette «théorie de la sélection clonale», différentes populations de cellules évoluent, s'adaptent pour franchir ces différents obstacles et les compétences métastatiques s'acquièrent tardivement. 2. Selon la «théorie de la signature métastatique prédéterminée», il existerait un profil génétique métastatique qui est ou n'est pas présent dans la tumeur primaire. La compétence métastatique serait alors précoce et prédéterminée (2). 3. Le processus métastatique initié précocement pourrait générer des cellules cancéreuses circulantes (3a), des cellules cancéreuses dormantes (3b) disséminées dans la moelle osseuse, et d'autres organes qui peuvent rester dans un état de quiescence et de métastases occultes (voir article de Gilles et coll dans la même revue). 4. Il existe dans la tumeur différents types très hétérogènes de sous-populations cellulaires. Les cellules souches cancéreuses (CSC) (4a), à l'instar des cellules souches normales, présentent une capacité d'autorenouvellement, initieraient le développement de la tumeur et seraient à l'origine des cellules métastatiques. Les capacités métastatiques sont également attribuées à des cellules ayant subi une transition épithélio-mésenchymateuse (TEM, voir explication dans le texte) (4b). Un lien est actuellement établi entre le phénotype de type CSC et TEM. Ces aspects sont actuellement l'objet d'études intensives. 5. Le processus métastatique dépend également de facteurs extrinsèques aux cellules tumorales qui constituent le «microenvironnement tumoral» composé de différents types de cellules de l'hôte, tant dans la tumeur primaire (5a) que dans l'organe cible colonisé par les cellules métastatiques (5b). Selon le concept de «la niche pré-métastatique» (5c), en réponse à la présence de la tumeur primaire, l'organe cible dans lequel les cellules métastatiques vont s'implanter est remodelé et «préparé» pour accueillir les cellules métastatiques.

propriétés ont été ajoutées dans cette liste cette année, dans une revue actualisée par les mêmes auteurs (4). Les progrès réalisés au cours de la dernière décennie ont, en effet, mis en évidence l'importance de la reprogrammation du métabolisme énergétique et de l'échappement à la destruction par le système immunitaire (4). Cependant, le processus métastatique ne dépend pas uniquement des propriétés intrinsèques de la cellule tumorale, mais aussi des réponses et interactions établies avec les cellules de l'hôte constituant ce que l'on appelle le «microenvironnement tumoral».

EVOLUTION DES CONCEPTS DE MÉTASTASES

Selon la théorie de la sélection clonale préalalement décrite, les cellules à potentiel métastatique sont sélectionnées et «clonées» au fur et à mesure de la progression tumorale. La «compétence» métastatique s'acquiert donc tardivement au cours de la progression. Cependant, cette théorie a été remise en question suite aux progrès de séquençage du génome permettant de classer les cancers et de comparer les profils géniques de tumeurs primaires et de métastases (1, 2). Ces données issues des analyses transcriptomiques

de cancers humains confirment l'hétérogénéité histologique des tumeurs et suggèrent que l'acquisition du potentiel métastatique est un événement précoce du processus tumoral et qu'elle serait inscrite génétiquement dans la tumeur: c'est la signature métastatique (1, 5-8). Ainsi, des combinaisons particulières d'altérations géniques offrent aux tumeurs qui les expriment une propension à métastaser. Selon une nouvelle théorie dite «théorie de la signature métastatique prédéterminée», il existerait un profil d'expression génétique métastatique qui est ou n'est pas présent dans la tumeur primitive. Si les gènes d'une signature métastatique sont exprimés, la cellule peut métastaser. Dans cette théorie, la compétence métastatique est précoce et se heurte à la théorie précédente.

La nature précise des cellules capables de se disséminer à distance et de former des foyers secondaires macroscopiques demeure énigmatique. Les capacités invasives et métastatiques ont souvent été attribuées à des cellules subissant une transdifférenciation appelée «Transition Epithélio-Mésenchymateuse» (TEM) qui implique la perte de caractères typiquement épithéliaux (perte de cohésion cellulaire) et le gain de caractéristiques de cellules mésenchymateuses, telles que, notamment, la motilité et l'expression de protéases assurant le remodelage tissulaire (1, 2, 9). Ainsi, en réutilisant un processus observé physiologiquement lors de la morphogenèse embryonnaire et lors de la cicatrisation tissulaire, les cellules tumorales issues de carcinomes pourraient acquérir plusieurs propriétés permettant leur dissémination (9). Une fois établie dans son nouvel environnement, la cellule métastatique peut revenir à un phénotype non métastatique par un mécanisme inverse appelé «Transition Mésenchymato-Epithéliale». Le caractère transitoire du processus de TEM le rend particulièrement difficile à étudier, et peu de choses sont connues quant aux diverses manifestations et à la stabilité temporelle de ce statut mésenchymateux. Ce processus reflète la plasticité des cellules cancéreuses. Enfin, depuis peu, de nombreux laboratoires s'intéressent aux Cellules Souches Cancéreuses (CSC) identifiées dans divers cancers, dont les cancers du sein (10). Les CSC sont caractérisées par leur propriété d'autorenouvellement et leur capacité à initier une nouvelle tumeur *in vivo* présentant une hétérogénéité similaire à celle de la tumeur d'origine (9). Selon la théorie actuelle des CSC, ces cellules constitueraient le potentiel initiateur de la masse tumorale et pourraient représenter la source des cellules à l'origine des métastases. Dans ce contexte, seule une faible proportion de

cellules présentes dans la masse tumorale participent à l'initiation, la progression cancéreuse, et la dissémination métastatique. La résistance des CSC à la radiothérapie et à la chimiothérapie pourrait contribuer aux nombreuses récurrences observées suite aux traitements actuellement utilisés en clinique. Les recherches menées sur les CSC sont entravées par l'absence de marqueurs de surface bien définis et fiables. Notons que des données récentes suggèrent que la TEM associée à l'invasion tumorale induirait la conversion des cellules cancéreuses vers un phénotype de type cellules CSC établissant ainsi un lien entre les CSC et le processus de TEM (9).

LES FACTEURS EXTRINSÈQUES AUX CELLULES TUMORALES

Si les facteurs génétiques sont fondamentaux pour la cascade métastatique, il ne faut pas négliger l'arsenal d'éléments extrinsèques à la cellule tumorale propre (4, 11). Les carcinomes mammaires ne sont pas constitués uniquement de cellules tumorales épithéliales, mais sont infiltrés par des cellules de l'hôte, telles que des fibroblastes-myofibroblastes, des cellules inflammatoires et immunocompétentes (lymphocytes, cellules NK, plasmocytes, histiocytes, polynucléaires), et des cellules endothéliales formant de nouveaux vaisseaux sanguins (angiogenèse) et lymphatiques (lymphangiogenèse) (12). Ces cellules enrobées dans une matrice extracellulaire forment le stroma tumoral générant un microenvironnement favorable à l'expansion de la tumeur primaire. Le stroma tumoral est donc un tissu nourricier et de soutien des cellules tumorales qui est la cible de certaines thérapies ciblées telles que, par exemple, les approches anti-angiogènes (bévacicumab). Parmi les cellules de l'hôte, citons également la contribution particulière des fibroblastes à toutes les étapes de la progression tumorale. Bien qu'initialement considérés comme des acteurs passifs, les fibroblastes tumoraux sont maintenant reconnus comme des inducteurs potentiels de carcinome par le biais de signalisations paracrines. Ils produisent des facteurs de croissance, des cytokines et des composants de la matrice extracellulaire qui facilitent notamment le recrutement des cellules endothéliales et des péricytes. De nombreuses études, y compris celles de notre laboratoire, suggèrent également que les cellules souches mésenchymateuses issues de la moelle osseuse sont largement recrutées au niveau du stroma tumoral (4). Récemment, une implication surprenante des cellules souches mésenchymateuses dans la formation de métas-

tases a été rapportée (13) et confirmée dans notre laboratoire (données non publiées). En réponse à la présence de cellules tumorales, les cellules souches mésenchymateuses sécrètent une chémokine (CCL5/RANTES) qui, à son tour, agit sur les cellules tumorales en stimulant leur comportement migratoire (13).

Depuis longtemps, les pathologistes ont décrit l'infiltration des tumeurs par des cellules inflammatoires. Les progrès réalisés dans la caractérisation des différentes sous-populations de cellules inflammatoires ont permis de démontrer que, virtuellement, tous les cancers sont infiltrés par ces cellules à des degrés variables (4, 14). Cet assaut inflammatoire peut souvent être considéré comme une tentative de l'hôte d'éradiquer la tumeur. Cependant, on sait maintenant que la réponse inflammatoire associée au développement tumoral peut favoriser la tumorigenèse et la progression des tumeurs. Les données accumulées récemment démontrent le rôle clé joué par les cellules immunitaires, principalement les cellules du système immunitaire inné, dans l'évolution des cancers vers un stade invasif (14). Les cellules immunitaires contribuent aux diverses caractéristiques déterminantes de la croissance tumorale et de la dissémination métastatique citées plus haut, par divers mécanismes tels que la production de facteurs de croissance, de chimiokines, de cytokines et de protéases remodelant la matrice extracellulaire et activant des récepteurs cellulaires. Elles peuvent enfin produire des agents potentiellement mutagènes (oxygène singulet), accélérant de la sorte l'évolution génétique vers un stade malin et invasif (14).

En 1889, Stephen Paget introduisait la théorie de la graine et du sol (seed and soil hypothesis) selon laquelle les métastases ne sont pas distribuées par hasard dans l'organisme, mais ne peuvent croître que dans un environnement approprié (15). Elle postule que certains organes (le sol) offrent une niche favorable à l'implantation des cellules (les graines). La légitimité de cette théorie est supportée par une accumulation de données récentes surprenantes. Il a été récemment montré que des facteurs sécrétés par les tumeurs primaires influencent à distance l'organe cible que les cellules métastatiques vont coloniser. Les cellules métastatiques seraient dirigées vers un organe cible, par l'intermédiaire de facteurs de croissance, chimiokines et protéases produits par les cellules tumorales et probablement, les cellules du stroma qui leur sont associées dans la tumeur primaire. Ainsi, le développement d'un microenvironnement permissif dans un organe cible serait nécessaire à la réception de cellu-

les tumorales métastatiques. Selon ce concept innovateur émis par l'équipe de Kaplan (16), des cellules souches hématopoïétiques dérivées de la moelle osseuse sont mobilisées dans les organes secondaires cibles tels que le poumon. L'arrivée des cellules souches hématopoïétiques précède celle des cellules métastatiques et représente un changement précoce et local du microenvironnement des futurs foyers tumoraux secondaires appelés «niches prémétastatiques» (17). Ces niches prémétastatiques sont caractérisées par une agrégation de cellules issues de la moelle hématopoïétique, un dépôt de fibronectine et une production de métalloprotéases (16, 17).

Enfin, il est important de noter que la formation de métastases implique deux phases distinctes. La première consiste en la dissémination «physique» des cellules cancéreuses de la tumeur primaire vers des organes à distance. La seconde correspond à l'adaptation des cellules tumorales à leur nouvel environnement et à la croissance en foyers secondaires cliniquement détectables. En fait, la grande majorité des cellules tumorales qui subissent une extravasation dans l'organe cible, ne parviennent pas à le coloniser en formant des métastases macroscopiques. Il existe un certain nombre de cellules qui restent dormantes dans l'organe à distance, voire même dans la circulation sanguine (voir article de Gilles et coll, dans la même revue) (18). Les cellules tumorales pourraient rester inactives pendant des années au cours desquelles la croissance des métastases serait contrariée, notamment, par les inhibiteurs de l'angiogenèse issus de la tumeur primaire ou l'absence d'un microenvironnement favorable et/ou compatible à la croissance tumorale.

Il apparaît donc clairement que le micro-environnement tumoral, longtemps ignoré par les chercheurs intervient à toutes les étapes de la progression métastatique, tant dans la tumeur primaire que dans les sites secondaires colonisés à distance. Une meilleure connaissance de ces réseaux cellulaires complexes générés dans les différents sites de développement ou maintien de la tumeur primaire, de cellules dormantes, de micrométastases et/ou de macrométastases est indispensable pour développer des traitements efficaces contre les cancers métastatiques, en ce compris les cancers du sein.

CONCLUSION

Pour améliorer les traitements des métastases, il est essentiel de bien comprendre les mécanismes de formation de ces métastases. Les données récentes issues du séquençage des génomes ont

révolutionné le concept de métastases. Elles ont souligné l'importance de facteurs extrinsèques aux cellules cancéreuses constituant le microenvironnement de la tumeur primaire non invasive, de la tumeur primaire invasive localement, et de la tumeur secondaire. De plus, la dissémination métastatique est probablement un processus plus précoce qu'initialement anticipé. Une des avancées majeures récentes a été l'application du profil d'expression génique à la classification et au pronostic des cancers du sein. Les signatures moléculaires qui en découlent fournissent des outils précieux pour prédire l'agressivité et la prédisposition à former des métastases. Leur implication thérapeutique future est évidente, notamment pour prescrire des traitements adjuvants. Même s'il faudra encore des années avant d'avoir la «signature» moléculaire de chaque tumeur et d'individualiser ainsi le traitement de chaque patiente, on perçoit à quel point l'ajustement thérapeutique pourrait devenir précis.

BIBLIOGRAPHIE

1. Coghlin C, Murray GI.— Current and emerging concepts in tumour metastasis. *J Pathol*, 2010, **222**, 1-15.
2. Talmadge JE, Fidler IJ.— AACR centennial series : the biology of cancer metastasis : historical perspective. *Cancer Res*, 2010, **70**, 5649-5669.
3. Hanahan D, Weinberg RA.— The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000, **100**, 57-70.
4. Hanahan D, Weinberg RA.— Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011, **144**, 646-674.
5. Méjean A, Lebret T.— La cascade métastatique : angiogenèse et nouveaux concepts. *Progrès en Urologie*, 2007, **7**, S156-S166.
6. Pantel K, Brakenhoff RH, Brandt B.— Detection, clinical relevance and specific biological properties of disseminating tumour cells. *Nat Rev Cancer*, 2008, **8**, 329-340.
7. Gupta GP, Massagué J.— Cancer metastasis: building a framework. *Cell*, 2006, **127**, 679-695.
8. Nguyen DX, Massagué J.— Genetic determinants of cancer metastasis. *Nat Rev Genet*, 2007, **8**, 341-352.
9. Singh A, Settleman J.— EMT, cancer stem cells and drug resistance : an emerging axis of evil in the war on cancer. *Oncogene*, 2010, **29**, 4741-4751.
10. Patel SA, Ndabahaliye A, Lim PK, et al.— Challenges in the development of future treatments for breast cancer stem cells. *Breast Cancer*, 2010, **2**, 1-11.
11. Hunter K.— Host genetics influence tumour metastasis. *Nat Rev Cancer*, 2006, **6**, 141-146.
12. Noel A, Jost M, Maquoi E.— Matrix metalloproteinases at cancer tumor-host interface. *Semin Cell Dev Biol*, 2008, **19**, 52-60.
13. Karnoub AE, Dash AB, Vo AP, et al.— Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis. *Nature*, 2007, **449**, 557-563.
14. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M.— Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*, 2010, **140**, 883-899.
15. Paget S.— The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Lancet*, 1889, **1**, 571-573.
16. Kaplan RN, Riba RD, Zacharoulis S, et al.— VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature*, 2005, **438**, 820-827.
17. Kaplan RN, Rafii S, Lyden D.— Preparing the “soil”: the premetastatic niche. *Cancer Res*, 2006, **66**, 11089-11093.
18. Gilles Ch, Collignon J, Noël A, et al.— Cellules tumorales circulantes : détection, caractérisation et intérêts cliniques. *Rev Med Liège*, 2011, **66**, 279-284.

Les demandes de tirés à part sont à adresser à
Pr A. Noel, GIGA-Cancer, CHU de Liège, 4000 Liège,
Belgique
E-mail : agnes.noel@ulg.ac.be