

CANCER DES OS

Suivre les cellules à la trace

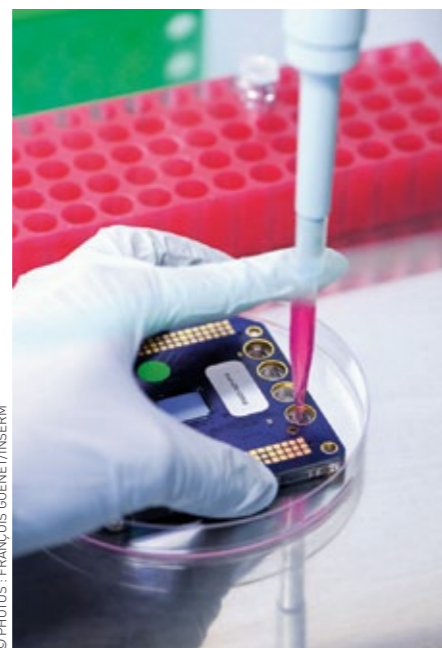
Isoler les cellules tumorales qui circulent dans le sang des patients victimes d'un cancer de l'os, c'est la mission de la plateforme de tri cellulaire unique en France, DEPArray™. À la clé : la prévention des métastases et le développement de thérapies ciblées.

À première vue, rien de bien original en arrivant à la faculté de médecine de Nantes : des locaux, un peu vieillissants, qui grouillent d'étudiants à l'heure du déjeuner, si ce n'est le choix du jaune et du bleu pour les peintures murales, emblèmes de l'université. Arrivé à l'étage qui héberge le laboratoire Inserm de Physiopathologie de la résorption osseuse

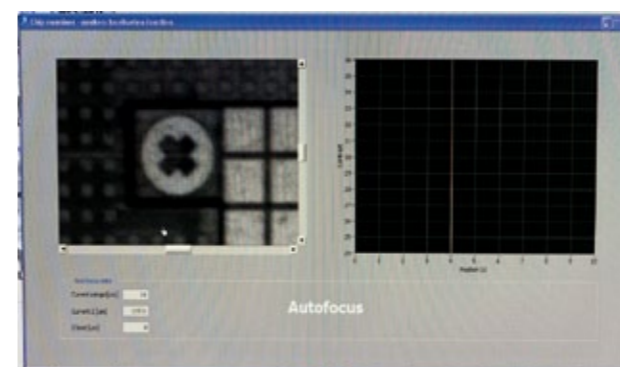
le bout de leur nez, ce qui éveille notre curiosité. Et plus encore, lorsqu'on nous demande d'enfiler blouse et surchaussures. Nous y sommes ! Derrière la dernière porte se trouve ce pour quoi nous sommes venus. La tension monte, on nous ouvre, nous entrons et tombons nez à nez avec... un gros cube ! Une machine à l'esthétisme proche de celui d'un réfrigérateur américain. Lisant peut-être notre déception sur notre visage, « le plus extraordinaire se passe à l'intérieur, s'empresse de dire de concert Dominique Heymann et son équipe.

LA MANIPULATION PAR ÉTAPE

1. Injection de la solution tampon (liquide rose) qui permettra de récupérer les cellules isolées, puis de l'échantillon de sang purifié.



2. Régis Brion, ingénieur hospitalier, insère la cassette dans la plateforme.



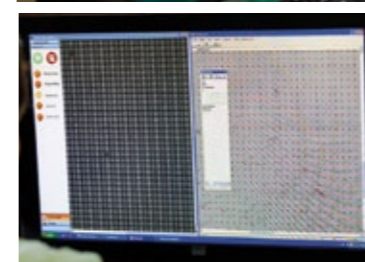
3. À gauche, mise au point des microscopes et préparation des champs électromagnétiques. Calibrage de l'appareil sur la lumière émise par la GFP (à droite)

Regardez l'écran, vous allez voir... » La démonstration commence, commentée par les chercheurs.

Prévenir la récurrence

« Au laboratoire, nous étudions les tumeurs osseuses primitives (tumeurs d'origine osseuse), plus précisément les cellules tumorales qui circulent dans le sang et peuvent aller s'implanter dans d'autres organes pour former des métastases », rappelle Dominique Heymann. Ce type de cancer, qui touche surtout les jeunes, est assez rare (environ 300 nouveaux cas par an en France dont 50 % d'ostéosarcome) et son traitement repose sur une exérèse chirurgicale associée à la chimiothérapie. Mais, les récurrences avec métastases, surtout pulmonaires, sont fréquentes. Le taux de survie à cinq ans peut alors chuter à seulement 30 %, l'enjeu est donc de taille ! « C'est là que DEPArray™ révèle tout

son intérêt, s'enthousiasme le chercheur. À partir d'un simple échantillon sanguin, nous pouvons isoler les cellules tumorales circulantes et déterminer les mécanismes qui leur permettent de quitter leur site d'origine (l'os) pour passer dans le sang et ensuite s'implanter dans un autre organe pour y former des métastases. » Seulement une sur 1 000 donne naissance à une métastase. Si l'on savait pourquoi et comment, cela aiderait à prédire et prévenir les récurrences. Pour cela, l'équipe de Dominique Heymann travaille sur des modèles de souris qui ont développé des tumeurs osseuses humaines, modifiées génétiquement afin de produire la protéine fluorescente verte GFP (☺) qui rend les cellules tumorales visibles par microscopie. La première chose à faire, avant même d'allumer la plateforme, est donc de prélever et purifier un échantillon de sang. Il est ensuite injecté dans une petite



4. L'échantillon est chargé dans la chambre principale de la cassette, on aperçoit déjà sur l'écran les cellules (petits points blancs).

5. Les champs électromagnétiques sont appliqués, ils répartissent et isolent une à une les cellules, les emprisonnant dans de véritables cages.

cassette, assez proche d'un mini labyrinthe, préalablement remplie d'une solution tampon qui permettra de récupérer les cellules isolées à la fin de la manipulation. Au centre, se trouve la chambre principale, une sorte d'échiquier où les cellules pourront être emprisonnées une à une dans des cages électromagnétiques. « On peut y isoler jusqu'à 100 000 cellules », précise Régis Brion, l'ingénieur hospitalier de l'équipe.

Le tri sélectif des cellules

Pendant ce temps-là, la plateforme DEPArray™ est mise en route. Différents paramètres sont réglés (température, type de solution tampon) et le nombre de cages à construire est déterminé. La cassette est ►►

« À partir d'un simple échantillon sanguin, on peut isoler les cellules tumorales circulantes »

Dominique Heymann, directeur du laboratoire nantais

Hotte à flux laminaires

Qui permet de réaliser des manipulations expérimentales en condition stérile.

Protéine fluorescente verte GFP

Découverte en 1962 chez la méduse *Aequorea victoria*, elle a la propriété d'émettre une fluorescence verte.

☛ Laboratoire de Physiopathologie de la résorption osseuse et thérapie des tumeurs osseuses primitives : unité 957 Inserm - Université de Nantes

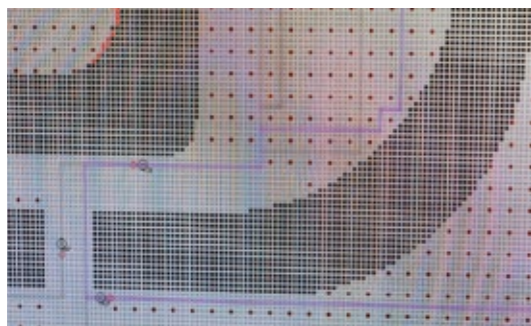
►► alors insérée dans la machine qui va se calibrer pour détecter la lumière émise par la GFP. Puis, l'échantillon est chargé dans la chambre principale. « On aperçoit déjà les cellules », nous indique l'ingénieur en pointant du doigt des petits points blancs sur l'écran d'ordinateur. Là, des champs électromagnétiques se forment et isolent chaque cellule en construisant de véritables cages autour d'elles. « C'est ici que peut se faire le tri des cellules, il suffit d'entrer dans l'ordinateur les critères de sélection, poursuit l'ingénieur. Nous pouvons alors choisir uniquement celles qui émettent une lumière verte fluorescente due à la GFP - les cellules tumorales circulantes - et laisser de côté les autres, ainsi que les amas de cellules et les cellules à cheval sur des

“ Le but est de comprendre pourquoi certaines cellules forment des métastases ”

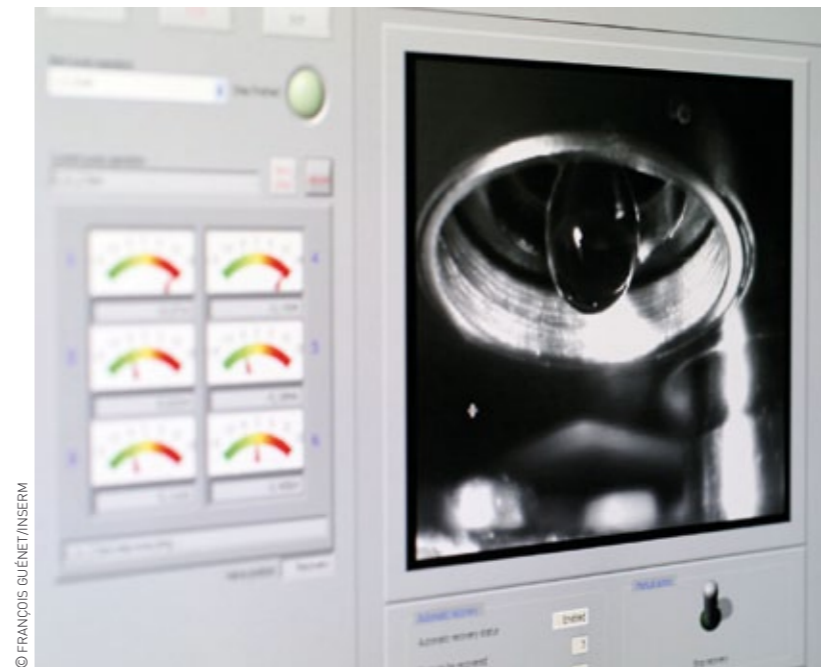
cages qui ne peuvent être isolées. » Le jeu des champs électromagnétiques fait le reste en déplaçant une à une les cages où sont emprisonnées les cellules sélectionnées, en direction d'une zone de « parking ». « C'est là que nous pouvons mettre en contact les cellules circulantes avec d'autres types de cellules présentes habituellement dans leur environnement immédiat dans l'organisme, et voir plus tard les conséquences de cette interaction au niveau génétique et moléculaire. » Objectif : caractériser sur un plan moléculaire les cellules cancéreuses circulantes, étudier comment les cellules tumorales communiquent avec leur environnement et, ainsi, comprendre pourquoi certaines forment des métastases. Les cellules isolées sont ensuite déplacées vers une



© FRANÇOIS GUÉNET/INSERM



- 6. Sélection des cellules :** on peut choisir uniquement celles bien placées et qui émettent une lumière verte fluorescente tandis que les cellules à cheval sur des cages et les amas cellulaires sont discriminés.
- 7. Par le jeu des champs électromagnétiques,** les cellules sélectionnées bougent une à une en direction d'une zone de « parking ». On peut visualiser leur chemin (en violet) et ainsi s'assurer qu'elles ne se perdent pas en route ou qu'elles ne rencontrent pas d'obstacles.



© FRANÇOIS GUÉNET/INSERM



8. Grâce aux champs électromagnétiques, les cellules sélectionnées sont dirigées vers la zone de récupération où elles pourront être évacuées une à une dans une goutte de solution tampon, puis déposées dans un cône d'analyse ou directement dans une boîte de Pétri pour la culture cellulaire.

zone de récupération toujours par le jeu des champs électromagnétiques. Là, elles sont évacuées une à une dans une goutte de solution tampon, puis déposées dans des microtubes pour analyses ou directement dans une boîte de Pétri en prévision d'une culture cellulaire. Les mains de l'expérimentateur les attendent à la sortie. « Le DEPArray™ permet, en effet, d'isoler des cellules tout en les conservant vivantes. On peut donc les cultiver en laboratoire afin d'en avoir une quantité suffisante pour les analyses génétiques et moléculaires, même si certaines peuvent être effectuées à partir d'une seule cellule isolée », précise Régis Brion, qui s'empare enfin des précieuses gouttes.

“ Le DEPArray™ permet de conserver vivantes les cellules et donc de les cultiver en labo ”

Vers une thérapie ciblée

Ces analyses auront pour but d'identifier de nouveaux marqueurs spécifiques de ces cellules circulantes, telles que certaines protéines présentes au niveau de leur membrane. Actuellement, la cytométrie en flux (☞) permet déjà de détecter les protéines membranaires et de dénombrer dans un échantillon de sang les cellules qui les expriment. Cependant, s'il faut seulement quelques minutes à la cytométrie pour compter des centaines de milliers de cellules, cette technique, largement utilisée dans les laboratoires hospitaliers et de recherche, n'est pas adaptée à la détection de cellules rares dans le sang comme les cellules circulantes, ce que permet une analyse avec le DEPArray™. Grâce à ces nouveaux marqueurs et à cette nouvelle approche technologique, il sera alors possible d'établir un pronostic de récurrence précis et donc d'apprécier le risque de métastases bien avant leur formation, ce qui n'est pas encore possible.

La médecine personnalisée sera elle aussi gagnante, puisque la plateforme de tri permettra à terme d'isoler et d'analyser les cellules tumorales circulantes chez les patients, et donc de définir non seulement une thérapie ciblée, mais aussi de suivre l'efficacité du traitement dans le temps afin de pouvoir l'adapter au besoin. « Et tout ça de manière très peu invasive puisqu'une simple prise de sang suffit, contrairement à une biopsie (☞) », souligne Dominique Heymann.

À terme, le laboratoire nantais souhaite développer ses collaborations, notamment avec divers centres français de cancérologie, mais aussi avec les membres du réseau européen sur les tumeurs osseuses et métastases associées, dont il fait partie. « Nous sommes les premiers à posséder une plateforme DEPArray™ en France, les troisièmes en Europe. Et nous souhaitons qu'elle puisse bénéficier au plus grand nombre. » Par ailleurs, cette technologie sera également utile à l'étude d'autres types de cancer, ainsi qu'à d'autres problématiques médicales, notamment celle du diagnostic prénatal (☞). « Là encore, notre plateforme de tri peut permettre d'isoler les cellules fœtales en utilisant un simple échantillon de sang prélevé sur la mère », avance Dominique Heymann. Oubliés alors les risques liés à l'amniocentèse (☞), habituellement nécessaire pour ce type de tests. Finalement, à défaut d'être spectaculaire, cette machine devrait bien tenir ses promesses et devenir un outil incontournable de la cancérologie et de la médecine de demain. ■

Yann Cornillier

 www.u957.univ-nantes.fr

☞ Cytométrie en flux (CMF)

Technique qui permet de faire défiler des particules, molécules ou cellules à grande vitesse dans le faisceau d'un laser, en les comptant et en les caractérisant.

☞ Biopsie

Prélèvement d'un échantillon de tissu afin de le soumettre à des analyses.

☞ Diagnostic prénatal

Ensemble des techniques qui ont pour but de détecter *in utero* les anomalies génétiques ou malformations dont pourrait être victime le fœtus.

☞ Amniocentèse

Prélèvement d'un échantillon de liquide amniotique dans lequel baigne le fœtus.