

# Microparticules et cancers

Auréli S. Leroyer, Romaric Lacroix, Françoise Dignat-George

Laboratoire de physiopathologie de l'endothélium, Inserm UMR-S 608, Faculté de Pharmacie, Marseille

<aurelie.leroyer@univmed.fr>

Les interactions cellulaires jouent un rôle crucial dans la progression, la croissance vasculaire et l'invasion des tumeurs. Ces interactions mettent en jeu principalement des gradients de ligands solubles, reconnus par des récepteurs associés aux cellules. Des résultats récents suggèrent cependant l'existence d'un autre mode de communication intercellulaire, où les « vecteurs » de l'information sont des microvésicules [1].

Les vésicules membranaires ont suscité, ces dernières années, un intérêt croissant dans différents domaines de la biologie, incluant la biologie vasculaire, la thrombose, la transfusion et le cancer. Considérées, au départ, comme de simples poussières cellulaires, elles sont désormais reconnues comme de véritables entités subcellulaires, dénommées « microvésicules ». Ce terme générique regroupe toutes les vésicules membranaires de taille inférieure au micron. En effet, tous les types cellulaires sont capables de relarguer différentes vésicules membranaires telles que les microparticules, les exosomes ou les corps apoptotiques. Ces vésicules se distinguent les unes des autres par leur origine, taille, composition, mécanisme de formation et mode d'obtention. Parmi elles, les microparticules sont des structures vésiculaires complexes qui sont libérées par les cellules au cours de processus d'activation ou d'apoptose. Elles sont composées d'une double couche de phospholipides qui expose des protéines transmembranaires et des récepteurs et qui renferme des composants cytosoliques provenant de leurs cellules mères. Ainsi, les microparticules se comportent comme des vecteurs d'informations biologiques qui participent de manière active à la régulation de l'homéostasie vasculaire [2].

Ces microvésicules sont retrouvées dans le sang de sujets sains et leur concentration augmente dans de nombreuses situations pathologiques où elles apportent des informations diagnostiques ou pronostiques utiles dans la prise en charge des patients [3]. Au-delà de ce rôle de biomarqueurs, il est également admis que les activités biologiques disséminées par les microparticules leur confèrent un rôle pathogène. De façon intéressante, la mise

en évidence d'oncogènes associés aux tumeurs, dans les microvésicules isolées du sang périphérique de patients atteints de cancer, a ouvert de nouvelles perspectives sur l'intérêt de ces microvésicules en oncologie [4, 5].

## Mécanismes de vésiculation

Les connaissances acquises sur les mécanismes de formation des microparticules reposent essentiellement sur des expériences effectuées *in vitro*, en présence de stimuli. Ainsi, la majorité des mécanismes de génération des microparticules *in vivo* reste à déterminer. La formation des microparticules est associée à un remaniement de la membrane plasmique. L'asymétrie phospholipidique qui caractérise les cellules quiescentes est maintenue par les activités combinées de la translocase/flippase, la floppase et la scramblase. L'activation cellulaire ou l'apoptose sont associées à une élévation du taux de calcium intracellulaire qui, d'une part, dérégule ces protéines membranaires et, d'autre part, participe au clivage des éléments du cytosquelette. Tous ces événements conduisent à l'externalisation de la phosphatidylsérine et au bourgeonnement de la cellule qui libérera ensuite des microparticules dans l'espace extracellulaire.

Le processus de vésiculation est favorisé dans certaines parties de la membrane plasmique telles que les « radeaux lipidiques ». En conséquence, les microparticules sont considérées comme des entités biologiques uniques par leur capacité à enrichir des molécules spécifiques de leur cellule d'origine. Ainsi, les microparticules exposent, à leur surface, tout un panel de phospholipides et de protéines incluant des lipides oxydés, des récepteurs et des molécules d'adhésion. Les microparticules contiennent également des éléments du cytosol tels que des enzymes, des facteurs de transcription, des microARN et de l'ARNm. La vésiculation se produit au cours de processus biologiques divers et variés, y compris la différenciation cellulaire, le stress, l'activation, la sénescence, la stimulation par des cytokines ou les forces de cisaillement, une exposition à l'ATP, ou l'apoptose

cellulaire. En conséquence, les propriétés et les rôles biologiques des microparticules générées dans ces différents contextes peuvent être très différents. Les microparticules pourraient ainsi servir de mécanisme de libération rapide pour éliminer les protéines, libérer des cytokines ou d'autres effecteurs biologiques. Elles pourraient également participer à des mécanismes de défense en relarguant le complexe d'attaque du complément [6], ou en déployant des activités immunomodulatrices [7].

La transformation oncogénique, les stimuli micro-environnementaux, les traitements ou les autres événements liés au cancer pourraient affecter le processus de vésiculation. Ainsi, la vésiculation peut se produire au cours de la transformation maligne, due, par exemple, à l'action d'oncogènes activés, tels que K-RAS [6] et le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) [4], ainsi que l'activation [7], ou la perte [6] du suppresseur de tumeur p53 dans différents contextes tumoraux.

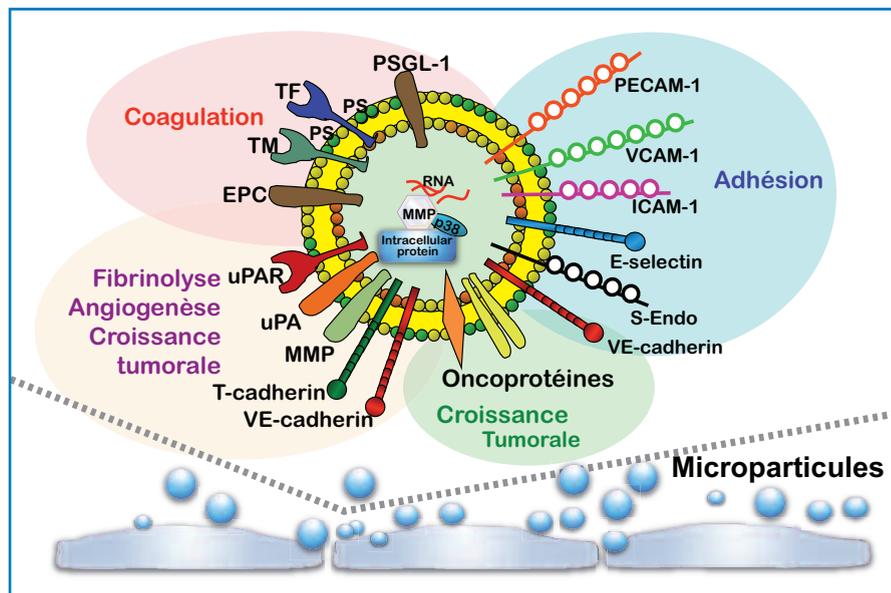
## Rôles des microparticules dans la progression tumorale

Les microparticules ont la capacité de transférer du matériel biologiquement actif entre les cellules et ainsi jouer un rôle dans les processus physiologiques et pathologiques, y compris le cancer.

Certains récepteurs oncogéniques peuvent être incorporés dans les microvésicules au moment de la vésiculation et promouvoir ainsi une activité oncogénique, en transférant leur contenu dans d'autres cellules [4]. Par exemple, les microvésicules plasmiques isolées à partir de modèle murin de pathologie cancéreuse contiennent des transcrits ARN qui participent à l'amplification des séquences oncogéniques [8]. Les microvésicules isolées à partir de tumeurs peuvent stimuler la prolifération des cellules U87 de gliome malin [5]. Ces mêmes lignées de gliomes, ainsi que des lignées de cellules de cancer du sein humaines, relarguent des microparticules qui induisent la transformation cancéreuse de cellules environnantes *via* un transfert de transglutaminase et de fibronectine [9].

Les microparticules d'origine cancéreuse montrent également une activité pro-coagulante dépendante du facteur tissulaire. Ainsi la problématique du lien entre les microvésicules et les thromboses associées aux cancers est un sujet important dans la littérature [10]. Davila *et al.* ont montré que l'injection de microparticules dérivées de cellules cancéreuses portant une activité dépendante du facteur tissulaire très élevée chez la souris, provoque un syndrome proche d'une coagulation intravasculaire disséminée *in vivo* [11]. Cette étude montre également qu'un taux minimal de microparticules injectées est nécessaire pour dépasser les mécanismes protecteurs anti-thrombotiques. Ces conclusions concordent avec celles de Thomas *et al.* qui ont montré que l'injection de microparticules de lignées tumorales pancréatiques humaines et murines induit, dans un modèle de thrombus chez la souris, un raccourcissement du temps d'occlusion veineux et artériel [12]. Ce même travail montre, par microscopie intra-vitale, que les microparticules spécifiquement dérivées de la tumeur se lient au thrombus de manière dépendante de la PSGL-1. La contribution relative des microparticules dérivées de la tumeur ou celles dérivées des cellules de l'hôte dans la formation du thrombus *in vivo*, ainsi que la démonstration formelle du rôle du facteur tissulaire, restent cependant à déterminer.

Les cellules tumorales malignes possèdent un potentiel protéolytique important, caractérisé par la production de MMP et d'uPA, nécessaires à leur dissémination et à l'invasion tissulaire. La présence de ces enzymes protéolytiques a été identifiée, *in vitro* et *in vivo*, sur la membrane de microparticules tumorales isolées de surnageants de culture de lignées tumorales humaines ou de liquides d'ascite obtenus chez des patientes atteintes de cancer ovarien [13]. La détection de l'activité enzymatique par zymographie et de la protéine support par empreinte a permis d'identifier, sur ces microparticules, l'uPA et son récepteur uPAR, la proMMP-2, la proMMP-9 et leurs formes actives, ainsi que des complexes entre les MMP et leur inhibiteur TIMP-1. Une bande protéolytique ayant la masse moléculaire du tPA a été également détectée par zymographie dans des microparticules provenant d'une lignée de carcinome de la prostate. Une action concertée entre l'uPA et les pro-MMP dans la dégradation de protéines matricielles en présence de plasminogène a ainsi été montrée. Le mécanisme proposé suggère que la membrane des microparticules



**Figure.** Représentation schématique du panel de molécules transportées par les microparticules et les effets biologiques qui leur sont associés. Adapté de Dignat-George, ATVB 2011.

fonctionnerait en offrant une large surface d'activation de MMP via la formation de plasmine par l'uPA. Ces résultats ont été confirmés plus récemment par l'étude des microvésicules isolées à partir du liquide d'ascites prélevées chez des sujets atteints de cancer de l'ovaire. Ces microparticules pourraient favoriser la migration de cellules endothéliales et moduler leur capacité angiogénique, comme cela a été montré pour les microparticules endothéliales [14].

Les microvésicules générées par les cellules cancéreuses jouent un rôle important dans l'angiogenèse tumorale en véhiculant et en transférant des oncoprotéines telles que EGFRVIII aux cellules endothéliales environnantes [4]. Le transfert d'EGFRVIII stimule l'activation des voies MAPK et AKT, et déclenche ainsi la production de VEGF. De manière intéressante, l'utilisation de la diannexine, qui bloque l'interaction microvésicules/cellules, diminue significativement l'angiogenèse tumorale et la progression des tumeurs dans un modèle murin de pathologie cancéreuse [15]. Ce dernier résultat peut suggérer que les agents capables de bloquer l'absorption de microvésicules pourraient posséder des propriétés anticancéreuses et anti-angiogéniques. Il est possible que l'absorption, par les cellules environnantes, de microvésicules relarguées par une tumeur entraîne une production plus élevée du VEGF en reprogrammant les cellules endothéliales via un transfert d'oncogènes. Cet échange micro-

vésiculaire pourrait contribuer à l'angiogenèse tumorale par des mécanismes dépendants du transfert d'oncogènes (par exemple, EGFRVIII), mais éventuellement aussi par le trafic bidirectionnel d'autres molécules (par exemple, VEGF-R, TIE, NOTCH, DLL4, éphrines). Ce modèle a déjà été validé dans le cas de l'émission microvésiculaire des facteurs de coagulation [16] (par exemple, le facteur tissulaire), des récepteurs de chimiokines, de molécules d'adhésion [17], des immunomodulateurs [18] et des antigènes de surface cellulaire.

## Les microparticules : nouveaux biomarqueurs de cancer

La détection, à partir du sang périphérique ou dans d'autres liquides biologiques, des microparticules produites par les cellules, offre une occasion unique d'accéder, de manière non-invasive, à la diversité des informations relatives à leurs cellules productrices. Dans le cas du cancer, le profilage moléculaire des cellules cancéreuses est d'une importance capitale en termes de pronostic, de prévision et d'utilisation personnalisée de thérapies ciblées. Malheureusement, un accès direct à l'information moléculaire contenue dans les cellules tumorales est, par définition, de nature invasive, c'est-à-dire, se fait par biopsie ou ablation chirurgicale du tissu tumoral. De plus, un prélèvement de tissu tumoral repose sur l'hypo-

