

Cours n°3 UE bio cell : CTC

Cellules Tumorales Circulantes : CTCs

Circulating Tumor Microemboli : CTM

Cellules Epithéliales Circulantes : CEC

Cellules Endothéliales Circulantes : Cen-C

Cellules Souches Circulantes : CSC

Toutes ces cellules sont des CCNH : Cellules Circulantes Non Hématologiques

Il s'agit d'un sujet très polémique et un concept très ancien.

Aux USA, la FDA a autorisé une seule technique pour la recherche des CTCs (Cellsearch). En France, les CTCs intéressent peu.

Les CTCs peuvent circuler seules ou de manière groupées (CTM). Attention : La présence de CTCs dans le sang ne signifie pas qu'elles produiront obligatoirement une tumeur.

L'ADN ou l'ARN ou les microARNs libres circulants et les biomarqueurs protéiques circulants ne font pas parti des CTCs.

1. Histoire naturelle des carcinomes :

- ✓ 1. Croissance tumorale : angiogenèse, invasion, EMT (épithélial -> mésenchymateux).
- ✓ 2. Intravasation : CTCs et CTMs dans la circulation avec un haut pouvoir métastatique.
- ✓ 3. Extravasation vers les tissus à distance (CTCs) ou Prolifération intravasculaire (CTMs).
- ✓ 4. Dissémination des cellules tumorales dans le tissu : prolifération, angiogenèse, MET (mésenchymateux -> épithélial)...
- ✓ 5. Métastase

N.B : Une cellule tumorale peut revenir coloniser l'organe d'où elle est partie (=niche), il y a une sorte de « homing ».

2. Méthodes de détection :

Toutes les méthodes se basent sur trois principes pour identifier les CTCs : leur densité, leur taille, et la détection de leurs marqueurs protéiques de manière immuno-magnétique.

- Méthodes indirectes : Méthodes d'immuno-détection ou méthodes de biologie moléculaire.

Exemple de technique indirecte : technique CellSearch :

Immuno-détection : repose sur la reconnaissance sur des galeries d'images d'immunofluorescence caractéristique des CTCs (verte avec noyau rose).

- Anti-EpCAM : sur toutes les cellules
- Anti-CK-PE : sur les CTCs et les CECs (filaments de cytokératine)
- Anti-CD45-APC : sur les leucocytes uniquement
- Noyau coloré au DAPI : CTCs uniquement

N.B : Cette technique peut poser des problèmes de spécificité. En effet, des cellules épithéliales bénignes peuvent circuler chez des patients sans cancer, certains macrophages expriment des cytokératines, certaines CTCs perdent leurs marqueurs épithéliaux.

- Méthodes directes : Séparation des cellules mononuclées par gradient de densité ou enrichissement direct en cellules épithéliales par filtration.

Exemple de méthode directe : la technique ISET (Isolation by Size of Epithelial Tumor cells) : On filtre le sang et on ne garde que le CCNH car elles sont plus grandes que les autres. Puis, on observe les cellules restantes au microscope pour les classer en trois groupes : cellules malignes, bénignes ou douteuses.

Méthodes	Avantages	Limites
CellSearch	<ul style="list-style-type: none">- Technique quantitative et sensible- Technique déjà largement développée en Europe et aux USA- Conservation du sang jusqu'à 90h	<ul style="list-style-type: none">- Possibilité de variation inter-observateur- Volume du prélèvement doit être important- Coût élevé des consommables- Spécificité ?
ISET	<ul style="list-style-type: none">- Analyse visuelle- Coût faible et rapidité- Spécificité- Analyse moléculaire potentielle	<ul style="list-style-type: none">- Possibilité de variation inter-observateur- Quantification ?- Analyse du sang dans les 2h

3. Caractérisation des CTCs :

- Les CTCs sont-elles malignes ?
- Les CTCs sont-elles viables ou potentiellement invasives ?

On retrouve des marqueurs d'apoptose au niveau de certaines CTCs et des fragments de CTCs.

- Les CTCs ont-elles un phénotype d'organe ?

Il y a une perte fréquente des marqueurs spécifiques d'organe. De plus, on n'a pas d'orientation vers un sous type histologique de tumeur.

- L'analyse des CTCs peut-elle prévoir une réponse aux thérapeutiques ciblées ou personnalisées ?

On peut détecter des mutations activatrices et de résistance de certains gènes (EGFR, K-ras, HER2).

4. Les cellules endothéliales circulantes :

Lors de la néo-angiogenèse, il y aurait passage de cellules endothéliales néoplasiques dans le courant circulatoire.

Ces Cen-Cs seraient des marqueurs pour déterminer la réponse aux agents anti-angiogéniques utilisés dans les stratégies anti-cancéreuses.

N.B : CTC : forme ronde // Cen-C : forme faucille

5. Impact clinique : à la croisée des promesses et des déceptions :

La détection des CTCs est à la lisière entre la recherche et l'offre de soin.

Promesses : la présence de CTCs dans les cancers du poumon est un nouveau marqueur pronostique (survie sans récurrence et survie spécifique moins bonnes lorsque la détection est positive).

Limites actuelles : - multiplicité des méthodes et absence de consensus sur la méthode optimale

- hétérogénéité des populations de patients d'une étude à l'autre
- coût important
- faux positif et faux négatif

Les mêmes problèmes se posent pour la détection des Cen-Cs en oncologie.

6. Perspectives :

- Les CTCs peuvent se cultivées et développées des tumeurs.
- Les CTCs peuvent permettre de développer des thérapies ciblées et personnalisées
- Les CTCs pourraient permettre de suivre l'évolution d'un traitement
- Les CTCs pourraient permettre d'établir des profils d'expression génomique afin d'obtenir des dépistages fiables et moins invasifs.
- Les CTCs pourraient amener à une modification de la classification des tumeurs intégrant leur notion.