



Aix-Marseille Université

Ecole Doctorale des Science de Vie et de la Santé
Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille

Thèse de Doctorat spécialité Pathologie Humaine

Option Oncologie

Présentée et soutenue publiquement par

Khedidja BENSEDDIK KAHIA

Le 30 octobre 2012

En vue d'obtenir le grade de Docteur de l'Université Aix-Marseille

**Etude des voies de signalisation
associées à la stabilité des microtubules et au chimiotactisme
induits par le récepteur à tyrosine kinase ErbB2,
dans le cancer du sein**

Directeur de thèse

Dr. Ali BADACHE

Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille

Directeur de thèse

Membres du Jury

Dr. Danijela VIGNJEVIC

Institut Curie



Rapporteuse

Dr. Peter COOPMAN

Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier

Rapporteur

Pr. Daniel OLIVE

Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille

Président de jury

Dr. Isabelle ARNAL

Grenoble Institut des Neurosciences

Examinatrice

Pr. Jean-Paul BORG

Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille

Examinateur

Table des matières

Introduction : notions générales	1
1. Le cancer du sein	1
1.1. Progression et classification du cancer du sein	1
1.2. Hétérogénéité tumorale : Classification des carcinomes mammaires basée sur le profil d'expression génique	3
1.3. Les outils thérapeutiques	5
1.4. Dynamiques des cibles thérapeutiques	6
1.5. L'évolution vers la métastase	7
1.5.1. Les étapes de la formation d'une métastase	7
2. La polarité cellulaire	10
2.1. La polarité et l'intégrité épithéliale	10
2.2. Les structures associées à la polarité apico-basale	10
2.2.1. Les adhésions cellule-cellule	10
2.2.2. Les adhésions cellule-matrice	13
2.3. Influence des adhésions sur la polarité cellulaire	15
2.4. La signalisation associée à la polarité apico-basale	15
2.5. La division cellulaire asymétrique et l'intégrité épithéliale	17
2.6. La rupture de la polarité et le cancer	18
2.7. La signalisation associée à la transition épithélio-mésenchymateuse	19
3. L'invasion cellulaire	21
3.1. La matrice extracellulaire	21
3.2. La dégradation des protéines de la matrice extracellulaire	21
3.2.1. Les métalloprotéases	21

3.2.2.	<i>Le système uPA/uPAR/plasminogène</i>	22
3.2.3.	<i>Protéases lysosomales : cystéine et aspartyl protéases</i>	22
3.3.	<i>L'invadosome et son rôle dans l'invasion cellulaire</i>	23
3.3.1.	<i>Structure de l'invadosome</i>	24
3.3.2.	<i>Molécules de signalisation associées aux invadopodes</i>	24
4.	<i>La migration cellulaire</i>	26
4.1.	<i>Les cellules migratrices professionnelles</i>	27
4.2.	<i>Les cellules migratrices transitoires</i>	27
4.3.	<i>La migration collective</i>	27
4.4.	<i>Présentation des acteurs de la migration : le cytosquelette</i>	29
4.4.1.	<i>Les filaments intermédiaires</i>	29
4.4.1.1.	<i>Structure des filaments intermédiaires</i>	29
4.4.1.2.	<i>Les différents types de filaments intermédiaires</i>	30
4.4.1.3.	<i>Filaments intermédiaires et cancer</i>	30
4.4.2.	<i>Les microfilaments d'actine</i>	31
4.4.2.1.	<i>L'actine, unité de base des microfilaments</i>	31
4.4.2.2.	<i>Les isotypes et isoformes d'actine</i>	31
4.4.2.3.	<i>Structure des filaments d'actine</i>	32
4.4.2.4.	<i>Les protéines régulatrices de l'actine</i>	32
4.4.2.5.	<i>Actine et cancer</i>	34
4.4.3.	<i>Les microtubules</i>	35
4.4.3.1.	<i>La tubuline, unité de base des microtubules</i>	35
4.4.3.2.	<i>Les isotypes de la tubuline</i>	35
4.4.3.3.	<i>Les modifications post-traductionnelles</i>	36
4.4.3.4.	<i>Structure des microtubules</i>	37
4.4.3.5.	<i>Caractéristiques de la dynamique des microtubules</i>	41
4.4.3.6.	<i>Implication des microtubules dans la migration cellulaire</i>	53
4.4.3.7.	<i>Microtubules et cancer</i>	55
4.5.	<i>Les étapes de la migration cellulaire</i>	57
4.5.1.	<i>Formation de la protrusion</i>	58
4.5.2.	<i>Stabilisation de la protrusion et mise sous tension du corps cellulaire</i>	64
4.5.3.	<i>Désassemblage des plaques d'adhérence à l'arrière et translocation du corps cellulaire</i>	64

4.6.	Les facteurs environnementaux guidant la migration	66
4.6.1.	Le chimiotactisme	66
4.6.2.	L'haptotactisme	71
4.6.3.	Le méchanotactisme	72
4.7.	Chimiotactisme et cancer	72
4.7.1.	L'échappement immunitaire	74
4.7.2.	L'angiogenèse	74
4.7.3.	La dissémination tumorale	75
Introduction : Contexte de l'étude		77
1.	Présentation du récepteur tyrosine kinase ErbB2	77
1.1.	La famille des récepteurs à l'EGF	77
1.2.	La régulation des protéines ErbB	79
3.1.	Les pathologies infectieuses	83
3.2.	Les pathologies cancéreuses	83
4.	Implication d'ErbB2 dans la migration des cellules cancéreuses	84
5.	Les voies de signalisation contrôlées par ErbB2	85
5.1.	La signalisation PI3K/Akt	86
Objectif du projet		94
Article 1		96
Article 2		118
Discussion		161
1.	Memo : une protéine qui contrôle plusieurs voies de signalisation	162
2.	PLC γ 1/PKC et chimiotactisme	165
3.	La stabilisation des microtubules :	167
nouvelle fonction de la voie PI3K dans le chimiotactisme		167
4.	Les microtubules sont indispensables au chimiotactisme : une évidence ou une nouveauté ?	170

Conclusion _____ **171**

Bibliographie _____ **173**

Résumé

ErbB2/Her2 est un récepteur à activité tyrosine kinase dont la surexpression dans le cancer du sein est corrélée à un mauvais pronostic. Son activation aberrante conduit à une prolifération cellulaire accrue, la survie et la migration cellulaire. L'activation d'ErbB2 induit de nombreuses voies de signalisation. Cependant, la contribution exacte des différentes voies à la motilité cellulaire et au processus métastatique reste à explorer. L'objectif de notre travail était d'étudier le réseau de signalisation associé à la migration chimiotactique dépendante d'ErbB2 et de déterminer la contribution des microtubules à ce processus.

Nous avons déjà identifié une nouvelle voie de signalisation par laquelle ErbB2 contrôle la capture des microtubules au cours de la migration cellulaire. ErbB2 recrute un module de signalisation qui comporte l'effecteur d'ErbB2 Memo, la GTPase RhoA, et la formine mDia1. Ce complexe réprime l'activité de GSK3, pour permettre la localisation à la membrane plasmique d'un complexe de capture des microtubules comprenant le suppresseur de tumeur APC et la spectraplakine ACF7.

Dans ce travail, nous avons étudié le mécanisme par lequel ErbB2 contrôle la dynamique des microtubules et le chimiotactisme.

Nous avons montré que la voie Memo/ACF7 est impliquée dans le chimiotactisme via la capture des microtubules, et que la phospholipase PLC γ 1, un autre effecteur d'ErbB2, participe également à la capture des microtubules. Sa signalisation rejoint la voie Memo en amont de GSK3 via les PKC classiques. PLC γ 1 agit aussi indépendamment de la voie Memo via aPKC ζ .

Nous avons également montré que la voie de signalisation PI3K est impliquée dans le chimiotactisme grâce à la stabilisation des microtubules. Nos résultats suggèrent que la stabilisation des microtubules dépendante de PI3K implique l'inhibition de GSK3 et la phosphorylation de la Stathmine une protéine déstabilisatrice des microtubules, par la kinase PAK1.

Nous avons constaté, tout au long de ce travail que les défauts dans la capture et/ou stabilité des microtubules sont en corrélation étroite avec la perturbation du chimiotactisme et que la restauration des microtubules dans la protrusion rétablit l'orientation des cellules.

Sur la base de ces résultats, nous avons proposé un modèle, basé sur un processus en deux étapes, qui décrit la régulation de la dynamique des microtubules en aval du récepteur ErbB2. Tout d'abord, les microtubules sont capturés lors de la formation de la protrusion cellulaire. Puis, ils sont stabilisés à l'avant des cellules. Ces deux étapes sont régies par des voies de signalisation différentes. Ces voies complémentaires coordonnent la capture des microtubules et la stabilité des microtubules pour contrôler la réponse chimiotactique.

Mots clés : signalisation ErbB2, chimiotactisme, microtubules.