

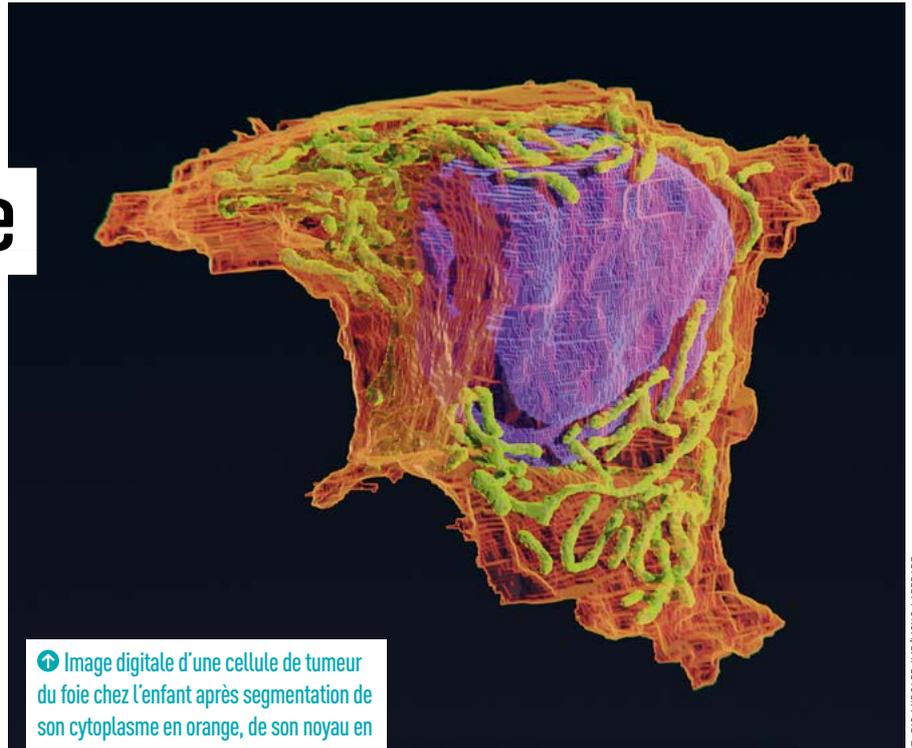
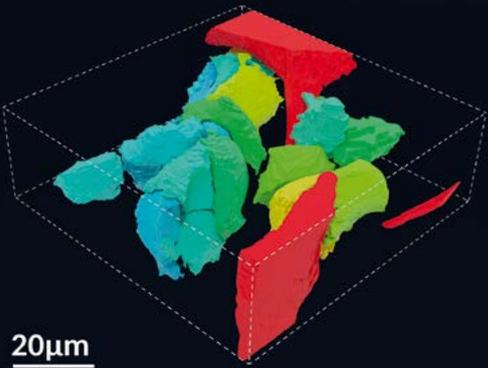
CANCER

De la carte
au territoire

Si la description des tumeurs a fait de réels progrès, leur organisation tridimensionnelle est encore mal connue. Mais récemment, une étude interdisciplinaire sur l'architecture des tissus dérivés d'hépatoblastome, une tumeur maligne du foie chez l'enfant, a permis d'éclairer sous un nouveau jour les mécanismes qui sous-tendent sa croissance pathologique et sa résistance aux traitements.

Suffit-il de connaître les briques élémentaires d'un tissu tumoral, comme les cellules et les capillaires sanguins, pour tout savoir sur une tumeur ? « Non, ce n'est qu'une première étape dans notre compréhension de ce phénomène, estime **Christophe Grosset**, directeur de recherche Inserm au laboratoire bordelais Biothérapie des maladies génétiques, inflammatoires

↓ Étude de la distance entre le capillaire sanguin (rouge) et 21 cellules tumorales segmentées par IA. Les cellules proches du capillaire sanguin (jaune ou vert) ont une taille plus importante que les cellules plus éloignées (bleu).



↻ Image digitale d'une cellule de tumeur du foie chez l'enfant après segmentation de son cytoplasme en orange, de son noyau en bleu et de son réseau mitochondrial en vert

© BIC-MIRCADE-IMB/MONC-LABE DAE

et du cancer. *Il faut imaginer un jeu de construction : connaître les pièces ne suffit pas à bâtir un château réussi. Il faut comprendre les lois qui régissent leur assemblage et leurs interactions dans l'espace.* » Le chercheur a ainsi proposé de modéliser l'organisation spatiale de la tumeur hépatique la plus fréquente chez l'enfant, l'hépatoblastome. « Notre hypothèse, poursuit-il, est que cette organisation a des effets fonctionnels – par exemple sur l'activité des cellules immunitaires du tissu tumoral, la formation de métastases, ou l'efficacité des traitements. » Pour réaliser son projet de recherche, il s'est tourné vers la société francilienne XenTech, qui dispose d'échantillons biologiques de tissus tumoraux dérivés de patients atteints d'hépatoblastome. Mais comment étudier leur structure interne ?

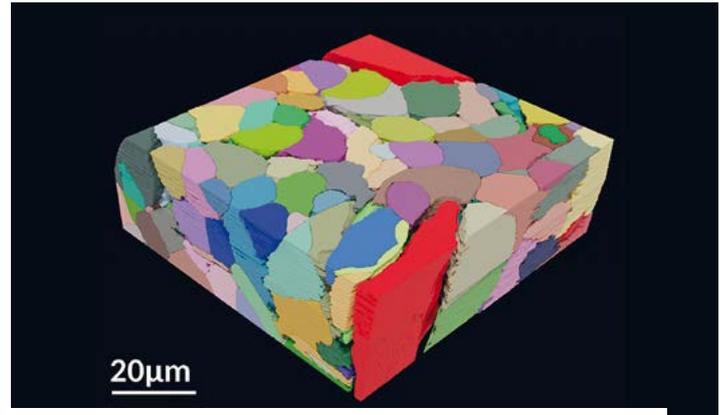
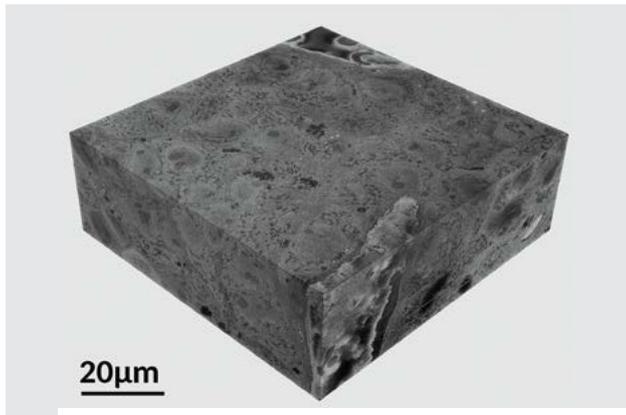
250 images pour 3 dimensions

La réponse est venue fin 2018, lorsque **Étienne Gontier**, du Bordeaux Imaging Center, lui présente une nouvelle technologie, le Serial Block-Face Imaging en MEB. Elle combine un ultramicrotome, sorte de couteau de haute précision destiné à couper de fines lamelles de tissu, et un microscope électronique à balayage (MEB), qui réa-

lise des images de chacune d'elles. Seules cinq plateformes en France possèdent ce dispositif, acquis par le centre d'imagerie de Bordeaux grâce à un contrat de plan État-région. L'ingénieur de recherche se souvient : « Le centre l'avait déjà utilisé en cardiologie et souhaitait le tester dans un autre domaine. Un premier essai a montré que les techniques d'imagerie électronique 3D étaient exploitables pour caractériser des tissus cancéreux. » Pour extraire de précieuses informations de la tumeur, l'échantillon étudié est fixé dans une résine puis coupé tous les 50 nanomètres en lamelles ultrafines, mises en images par le microscope électronique. Un pavé de tissu tumoral, à l'échelle du micromètre, est ensuite reconstitué par l'empilement de 250 images de coupes. « Aucun dispositif d'imagerie n'a de résolution équivalente sur un tel volume », précise Étienne Gontier. Ces images en haute résolution font apparaître, par différents niveaux de gris selon leur densité, les composants de la tumeur : vésicules lipidiques, zones hémorragiques, membrane cytoplasmique, noyau cellulaire,

Christophe Grosset : unité 1035 Inserm/Université de Bordeaux, Biothérapies des maladies génétiques, inflammatoires et du cancer, équipe Mircade

Étienne Gontier : US4 Inserm/Université de Bordeaux



↑ À gauche, hépatoblastome construit à partir de 246 images empilées de microscopie électronique. À droite, image digitale du même hépatoblastome après segmentation automatique par IA d'un capillaire sanguin (rouge) et de 182 cellules tumorales (multicolores)

mitochondries... Notre œil nous rend aptes à les « segmenter », c'est-à-dire à en tracer les contours, mais « cela correspond à un travail fastidieux, insiste Christophe Grosset. Sur une seule image, nous avons segmenté environ 180 zones, manuellement. Nous ne pouvions pas réaliser cette tâche pour les 250 images nécessaires à la reconstitution de l'architecture de la tumeur ! » C'est là que l'intelligence artificielle (IA) et les mathématiques appliquées entrent en scène. Les chercheurs ont entraîné des réseaux de neurones profonds^{††} sur les premières images annotées « à la main »... puis l'IA s'est chargée d'analyser les autres. « L'efficacité redoutable des algorithmes d'IA rend leur utilisation incontournable dans nos travaux », confirme **Baudouin Denis de Senneville**, de l'Institut de mathématiques de Bordeaux. En trois cycles de corrections manuelles, la fiabilité du dispositif a atteint les 99,9 %. Si bien que les chercheurs travaillent désormais sur des volumes plus grands et de meilleure résolution, empilant des milliers d'images avec des algorithmes de segmentation automatiques pour un nombre accru d'éléments biologiques. « Désormais, explique le mathématicien, ce type d'algorithmes possède de très hautes performances. Le point critique n'est plus le raffinement de la technologie, mais les données que l'on collecte et sur lesquelles sera entraînée l'IA : elles doivent être cohérentes, précises, et constituer un volume suffisant. » Ces succès appellent donc à la modération et à la prudence. « L'IA permet, poursuit-il, de traiter des bases de données gigantesques et d'en extraire des informations descriptives. Mais ce n'est qu'un outil familier, comme une clé à molette ! Elle ne se suffit pas à

elle-même. Nous ne nous contentons pas de nous réjouir des résultats obtenus sans tenter de comprendre les possibles biais et insuffisances de nos bases de données. L'IA est utile et efficace lorsqu'elle contribue à vérifier des hypothèses scientifiques de manière rigoureuse : c'est le sens clinique du projet qui fait sa valeur.* »

Un territoire prometteur

Une fois l'image 3D obtenue, place à l'interprétation. Qu'apporte à la connaissance biologique la prise en compte de l'architecture du tissu tumoral ? Mathématiques à l'appui, les chercheurs ont analysé la position des cellules tumorales, puis leur orientation géométrique, signalée par un rayon lumineux. Or, les rayons émanant des cellules se focalisaient tous sur un fin conduit intercellulaire – le canalicule biliaire –, petit canal qui a perdu ses fonctions dans le tissu tumoral. Contrairement au canal biliaire qui collecte et excrète les déchets du foie, cette structure n'était, ici, reliée à aucun système collecteur : cela signifie que les cellules tumorales déversent leurs éléments toxiques directement dans le tissu. Les chercheurs ont également mis en évidence, grâce à l'imagerie 3D, que les cellules tumorales s'organisent autour d'un capillaire sanguin. Celles qui en sont les plus proches sont aussi les plus grosses... Des études sur levures avaient déjà montré que l'alimentation en oxygène influence la taille des cellules ; ici, ce lien est confirmé au sein du tissu tumoral, pour la première

fois. Enfin, l'équipe a établi de nouvelles corrélations, par exemple entre le volume occupé par les mitochondries dans le cytoplasme, et le volume de la cellule. Dans l'espoir de faire de nouvelles découvertes, Christophe Grosset tente désormais d'obtenir un financement pour étudier le lien entre l'architecture du tissu tumoral hépatique et la réponse à certaines thérapies. On le voit, ce nouveau territoire, baptisé « onconanatomie » par le chercheur, est vaste et rempli de promesses.

Un brevet sur la méthode de caractérisation de l'organisation tridimensionnelle d'un échantillon biologique a été déposé. Pour Christophe Grosset, « le potentiel clinique des études 3D est certain : mieux comprendre l'architecture des tissus ouvre des voies scientifiques, conceptuelles et thérapeutiques inexplorées en cancérologie, en bioimpression et en médecine régénérative.

Nous sommes dans l'air du temps, avec une petite avance ! Et nous ferons tout pour la conserver. »

Nicolas Rigaud

* Voir Magazine de l'Inserm n° 53, Grand angle « Santé numérique. Peut-on tout prédire ? » p. 24-35

†† **Réseau de neurones profonds.** Réseau de neurones multicouches, support à des méthodes d'apprentissage automatique, permettant d'extraire de l'information de grands ensembles de données

Baudouin Denis de Senneville : Institut de mathématiques de Bordeaux

✉ B. D. de Senneville et al. *Commun Biol.*, 13 décembre 2021 ; doi : 10.1038/s42003-021-02919-z

« L'efficacité redoutable des algorithmes d'IA rend leur utilisation incontournable dans nos travaux »