



HAL
open science

Invadosomes

Cécile Gamblin, Philippe Chavrier

► **To cite this version:**

Cécile Gamblin, Philippe Chavrier. Invadosomes : Entre mobilité et invasion, naviguer dans la dualité des fonctions cellulaires. *Médecine/Sciences*, 2024, 40 (6-7), pp.515-524. 10.1051/medsci/2024080 . hal-04644262

HAL Id: hal-04644262

<https://hal.science/hal-04644262>

Submitted on 10 Jul 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

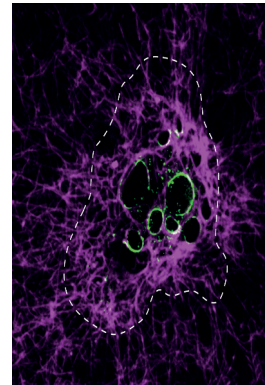
L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

> Le terme « invadosome » désigne une famille de structures cellulaires, comprenant les podosomes et les invadopodes, qui constituent des zones de contact entre la membrane plasmique des cellules et la matrice extracellulaire. Ces structures contribuent au remodelage de la matrice grâce à un enrichissement local en enzymes protéolytiques qui dégradent ses constituants fibrillaires. Les invadosomes, présents dans des types cellulaires variés, contribuent à des processus physiologiques, tels que la vascularisation, ou pathologiques, comme l'invasion des tissus par les cellules métastatiques. <

Invadosomes

Entre mobilité et invasion, naviguer dans la dualité des fonctions cellulaires

Cécile Gamblin^{1,2}, Philippe Chavrier¹



¹Institut Curie, CNRS UMR 144, PSL Research University, Paris, France.

²Sorbonne Université, Paris, France.

Philippe.Chavrier@curie.fr

Les invadosomes

L'élucidation des relations entre les cellules tumorales et leur environnement fait partie des grandes questions qui intéressent les chercheurs travaillant sur les processus cancéreux, du fait du rôle central de ces interactions dans la croissance et la progression tumorale. Ces interactions mettent en jeu de nombreuses structures cellulaires qui, pour certaines, forment un lien mécanique entre les protéines de la matrice extracellulaire (MEC) et des composants intracellulaires du cytosquelette. Les invadosomes en font partie. Leur labilité les rend difficiles à étudier et à caractériser, mais leur implication dans des processus physiologiques, tels que la vascularisation et la résorption osseuse, ou pathologiques, comme l'invasion des tissus par les cellules métastatiques tumorales, souligne les enjeux d'une meilleure compréhension de ces structures au niveau moléculaire, des voies qui contrôlent leur formation, ainsi que de leurs mécanismes d'action.

Découverts dans les années 1970-1980, dans les macrophages puis dans des fibroblastes transformés par le virus du sarcome de Rous (v-*Src*), les invadosomes, observés par microscopie électronique à

transmission, ont d'abord été décrits comme des protrusions de la membrane plasmique présentes sur la face ventrale des cellules en contact avec la MEC (Figure 1A). Dans les macrophages, ces structures ont été appelées podosomes, en référence à leur ressemblance à des « pieds cellulaires » [1]. Aujourd'hui, le terme générique « invadosome » définit une famille de structures cellulaires regroupant les podosomes et les invadopodes [1]. Alors que les podosomes se forment dans différents types cellulaires non cancéreux, où ils participent à des processus physiologiques, comme la résorption osseuse par les ostéoclastes ou la formation de nouveaux vaisseaux sanguins par les cellules endothéliales, ou encore dans des cellules du système immunitaire comme les macrophages ou les mégacaryocytes [2], les invadopodes sont présents uniquement dans les cellules tumorales. Ces zones de contact entre la membrane cellulaire et la MEC, dont la formation dépend de la polymérisation de l'actine, sont capables de dégrader les constituants fibrillaires de la MEC grâce à un enrichissement local en enzymes protéolytiques. En accord avec ces propriétés, les invadosomes sont principalement impliqués dans des processus de remodelage de la MEC promouvant l'adhérence, la migration et l'invasion cellulaire [1-3].

Approches techniques pour la caractérisation des invadosomes

Le développement des techniques de microscopie à fluorescence et, notamment, l'avènement de la microscopie de très haute résolution, a permis des avancées majeures dans la visualisation des invadosomes. Ces observations, complétées par les techniques de microscopie électronique à transmission, ont rendu possible la compréhension de l'organisation des composants protéiques des invadosomes avec une précision de l'ordre de la dizaine de nanomètres (nm) [4-6]. La nature des protéines mises en jeu est déterminée soit par leur détection avec

Vignette (© Pedro Monteiro, Cécile Gamblin et Philippe Chavrier).

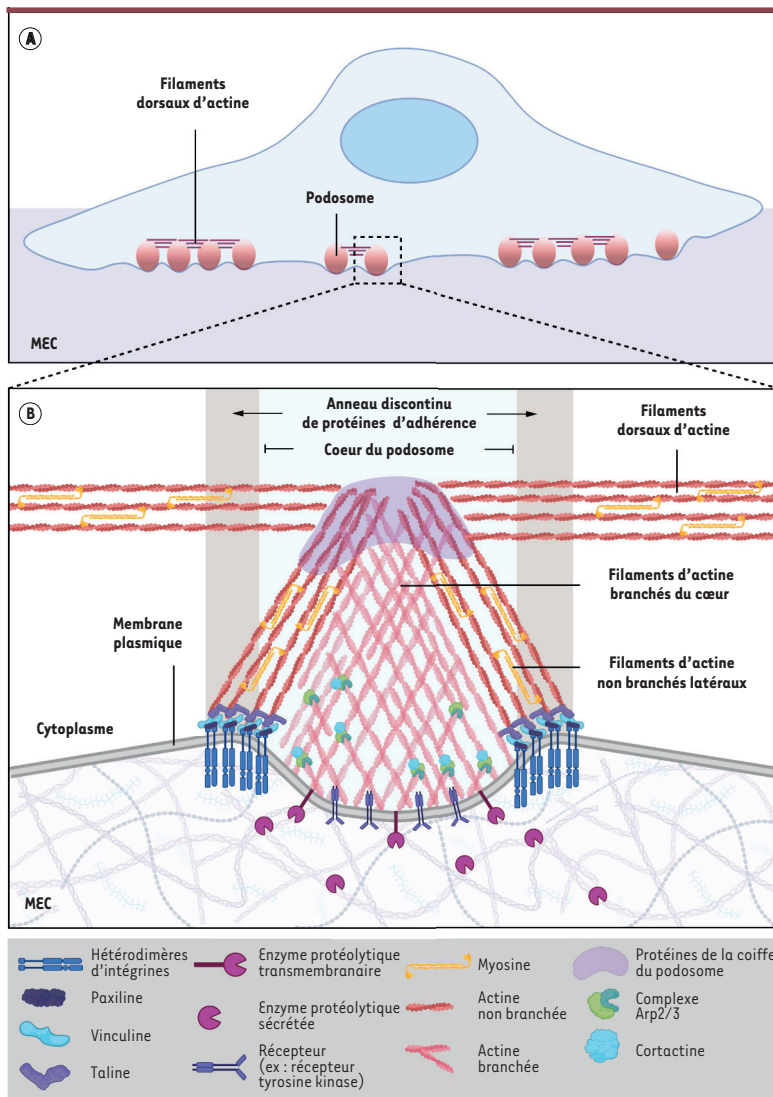


Figure 1. Représentation schématique de la localisation des podosomes dans la cellule et de l'organisation structurale d'un podosome. **A.** Sur un substrat bidimensionnel, les podosomes sont localisés à la face ventrale de la cellule, en contact avec la matrice extracellulaire (MEC). **B.** Les podosomes se forment en réponse à des signaux chimiques ou mécaniques, par la polymérisation d'un réseau de filaments d'actine branchés dépendant de l'activation du complexe nucléateur d'actine, Arp2/3 (*actin-related protein 2/3 complex*), associé à la cortactine, pour constituer le cœur du podosome. Entourant le cœur, un anneau de protéines d'adhérence à la MEC est relié à la structure du podosome par des filaments latéraux d'actine non branchés, pouvant être associés à de la myosine. La contractilité des filaments d'acto-myosine est modulée par les protéines de la coiffe, qui recouvre le cœur du podosome. Des filaments d'actine dorsaux non branchés peuvent connecter plusieurs podosomes entre eux. Les podosomes induisent un remodelage de la MEC par le biais d'enzymes protéolytiques transmembranaires (comme MT1-MMP [*membrane type 1-matrix metalloproteinase*]) et sécrétées.

des anticorps spécifiques et leur colocalisation avec des protéines connues des structures invadosomiques, soit par des analyses biochimiques [4] incluant des approches globales permettant d'identifier la majorité des protéines interagissant avec des composants invadosomiques connus. Ainsi, deux études récentes ont permis une description détaillée du paysage protéique des invadopodes. La première a identifié, par une combinaison de techniques d'immunoprécipitation et de spectrométrie de masse, les partenaires protéiques de la protéine TKS5 (*tyrosine kinase substrate with five SH3 domains*), une protéine dite d'échafaudage essentielle à la formation des invadopodes [7]. La seconde étude était fondée sur une approche reposant sur la technique de biotinylation de proximité (BioID), utilisant également la protéine TKS5 comme appât. Dans ce travail, TKS5 était exprimée dans les cellules cancéreuses invasives, en fusion avec la biotine ligase, BirA*¹.

La biotinylation des protéines localisées à proximité de TKS5 (et de BirA qui lui était associée) a permis leur purification et leur identification par spectrométrie de masse [8]. Enfin, depuis peu, une caractérisation à plus grande échelle du protéome invadosomique a été amorcée. Ainsi, le contenu protéique d'invadosomes, collectés par microdissection au laser de fibroblastes transformés par v-Src, a été analysé par spectrométrie de masse, ce qui a permis l'identification de 570 protéines plus abondantes dans ces structures [9].

Structure des invadosomes

Bien que partageant de nombreux composants protéiques, les podosomes et les invadopodes possèdent une organisation structurale différente. Contrairement aux podosomes, dont l'organisation est conservée (voir ci-dessous), les invadopodes présentent une grande

¹ La protéine BirA active la biotine, pour former le biotinylyl 5'-adénylate, et la transfère aux protéines voisines (ndlr).

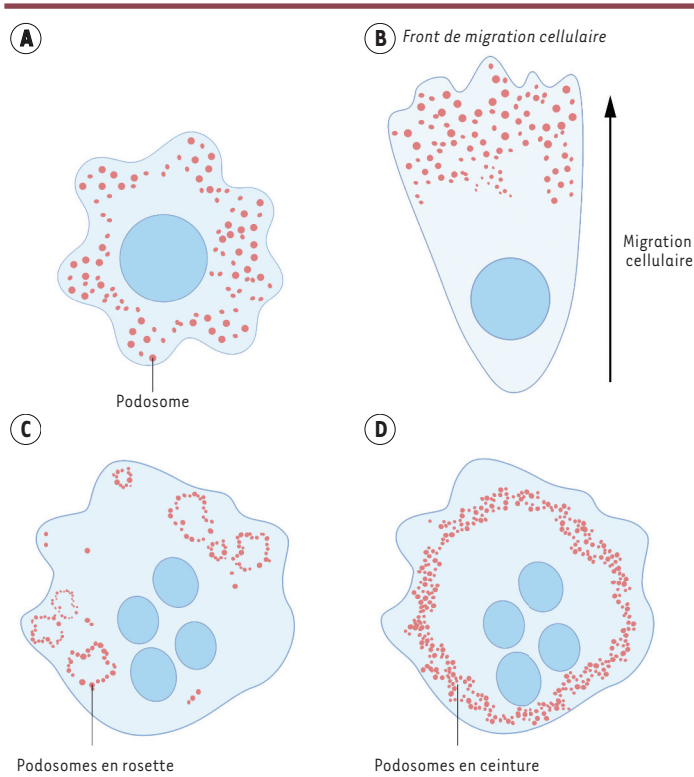


Figure 2. Représentation schématique de la diversité de localisation et d'organisation des podosomes à l'échelle cellulaire. Les podosomes sont formés constitutivement et localisés en périphérie cellulaire dans des macrophages statiques en contact avec la matrice extracellulaire (MEC) (A), alors qu'ils sont localisés au front de migration dans les cellules en mouvement (B). Dans les ostéoclastes, les podosomes peuvent s'assembler en rosettes (C) ou en ceinture (D).

diversité d'organisation et de forme en fonction du type cellulaire [2], mais également de la nature et de l'organisation de la MEC entourant les cellules [1, 6, 10]. Notamment, si la structure des invadosomes a d'abord été caractérisée dans des cellules cultivées sur une couche de gélatine recouvrant une lamelle de verre, représentant un substrat simplifié, rigide et bidimensionnel, des études plus récentes, rendues possibles à la fois par la diversification des modèles de MEC disponibles et par l'amélioration des techniques de microscopie, ont montré que la forme des invadosomes change dans des environnements tridimensionnels plus complexes et plus proches des environnements cellulaires [10]. Néanmoins, les modèles en deux et trois dimensions (2D et 3D) de MEC restent essentiels compte tenu du fait que, dans des contextes pathologiques, les cellules doivent interagir aussi bien avec des substrats bidimensionnels (comme la membrane basale), que tridimensionnels (comme un réseau 3D de fibres de collagène de type I représentatif du tissu interstitiel). La caractérisation des invadosomes dans des environnements 3D reste cependant à approfondir pour arriver à un niveau de compréhension similaire à celui des structures en 2D. Malgré la variabilité, on tentera de décrire ici une organisation structurale représentative.

Organisation structurale des podosomes

Les protrusions caractérisant les podosomes sont formées par la polymérisation de l'actine induite par le complexe Arp2/3 (*actin-related protein 2/3 complex*) sous le contrôle d'un de ses inducteurs, la protéine WASP (*Wiskott-Aldrich syndrome protein*) dans les cellules immunitaires (ou la protéine apparentée N-WASP [N pour neuronal] dans les autres types cellulaires) [11]. Cette cascade biochimique provoque l'auto-assemblage d'un ensemble de filaments d'actine hautement organisé présentant un « cœur » enrichi en un réseau de filaments d'actine branchés. De nombreuses protéines, telles que la cortactine ou encore la cofiline [2], toutes deux régulant la polymérisation des filaments d'actine, ont été détectées dans le cœur, qui est entouré d'un anneau discontinu de protéines précédemment décrites dans des structures adhésives, les adhésions focales, comme la paxilline, la vinculine ou encore la taline, ainsi que des intégrines [2, 12-14] (→).

(→) Voir les Synthèses de F. Alonso *et al.*, *m/s* n° 12, décembre 2018, page 1063, et de E. Genot, *m/s* n° 2, février 2009, page 168

Les intégrines sont des protéines transmembranaires qui réalisent le lien entre les constituants de la MEC, auxquels elles se lient, et le cytosquelette. Des protéines de signalisation ayant une activité enzymatique de phosphorylation, les kinases FAK (*focal adhesion kinase*) [15], la PI3K (*phosphoinositide-3-kinase*) [16], ou encore Src [17], sont également associées à ces structures et contribuent à leur régulation et à leur formation à travers la phosphorylation de nombreux substrats clés. Par ailleurs, des filaments latéraux d'actine non branchés assurent la jonction entre le cœur du podosome et la structure annulaire adhésive entourant le cœur [18]. D'autres filaments d'actine dits « dorsaux », localisés au-dessus du cœur et de l'anneau, peuvent relier entre eux plusieurs podosomes et former un ensemble structural et fonctionnel à plus grande échelle [2]. Enfin, contrairement aux invadopodes, les podosomes possèdent une « coiffe » qui chapeaute le cœur d'actine, peut s'étendre progressivement à l'anneau, et est composée de protéines régulant l'activité contractile des filaments d'actomyosine contenus dans le cœur (Figure 1B). Les podosomes présentent des tailles variables (de 0,5 à 1 μm de diamètre), ainsi qu'une grande diversité morphologique en fonction du type cellulaire. Ainsi, les macrophages et les cellules dendritiques forment, de manière constitutive, de nombreux podosomes localisés en périphérie de la cellule (Figure 2A), qui se concentrent au front de migration quand les cellules sont en mouvement (Figure 2B). Dans les ostéoclastes, l'arrangement des podosomes en rosettes (Figure 2C) aboutit à l'auto-assemblage d'une « ceinture » de podosomes (Figure 2D), qui constitue une zone de scellement, her-

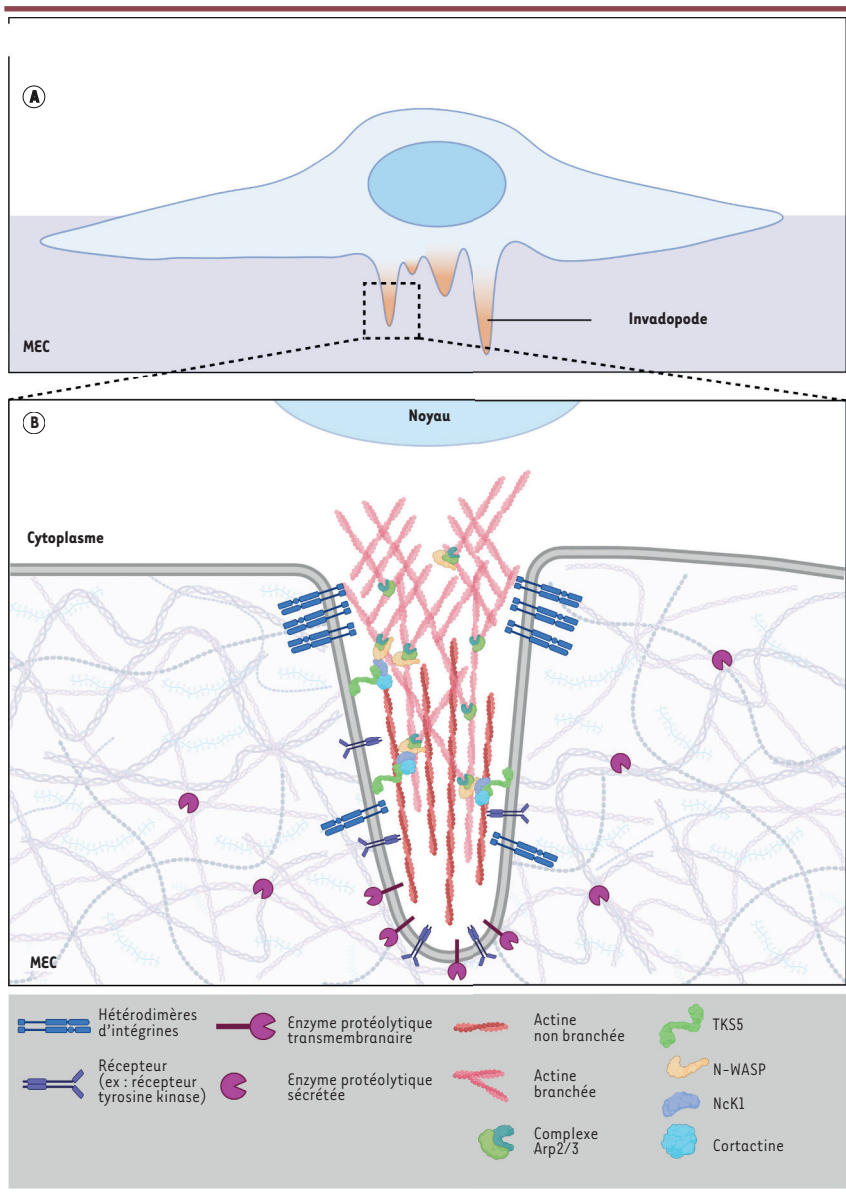


Figure 3. Représentation schématique de la localisation et de l'organisation structurale des invadopodes. Les invadopodes sont localisés à la face ventrale de la cellule, à proximité du noyau et en contact avec la matrice extracellulaire (MEC). En réponse à des signaux chimiques ou mécaniques, la polymérisation de filaments d'actine branchés est induite par l'activation du complexe Arp2/3 (*actin-related protein 2/3 complex*) et avec la contribution de différentes protéines de signalisation incluant TKS5 (*tyrosine kinase substrate with five SH3 domains*) et Nck-1 (*NCK adaptor protein 1*), des protéines d'échafaudage ayant des partenaires multiples, dont la protéine N-WASP (*neuro-nal-Wiskott-Aldrich syndrome protein*), qui active le complexe Arp2/3, et la cortactine, qui interagit avec Arp2/3 et stabilise les branches entre les filaments. La protéine TKS5 (ou la protéine apparentée TKS4) interagit avec le PI (3,4) P2 (phosphoinositide-3,4-biphosphate) dans le feuillet interne de la membrane plasmique via son domaine PX (*phox homology*). Des filaments d'actine non branchés sont également présents dans la structure, correspondant vraisemblablement à l'intervention de protéines de la famille des formines. Comme les podosomes, les invadopodes remodelent la MEC grâce à des enzymes protéolytiques, essentiellement MT1-MMP (*membrane type 1-matrix metallo-proteinase*), une protéine transmembranaire qui est sécrétée par exocytose au niveau des invadopodes par un trafic vésiculaire impliquant des endolysosomes.

métique, dans laquelle se déversent, par exocytose, les protéases qui dégradent la matrice osseuse. Enfin, dans les cellules endothéliales, la formation des podosomes dépend d'une induction par un signal, comme le TGF- β (*transforming growth factor beta*). Dans ces cellules, les podosomes sont interconnectés et forment des rosettes, stables au cours du temps, qui sont impliquées dans le remodelage matriciel accompagnant la néovascularisation [2, 19].

Organisation structurale des invadopodes

Alors que la structure complexe des podosomes s'avère relativement stéréotypée, celle des invadopodes est plus simple et moins organisée. Les invadopodes sont également variables dans leur dimension et leur forme. Sur un substrat 2D, comme la gélatine (qui correspond

à du collagène de type I dénaturé), les invadopodes adoptent un aspect ponctiforme (Figures 3A,B et Figures 4A,B) et sont formés de filaments d'actine qui se polymérisent grâce au complexe nucléateur de l'actine Arp2/3, à la suite de son activation par des protéines régulatrices, telles que la protéine liant le guanosine triphosphate (GTP), CDC42 (*cell division cycle 42*), son facteur d'échange nucléotidique, FGD1 (*FYVE, RhoGEF and PH domain containing 1*), et la protéine effectrice N-WASP, qui est capable d'activer le complexe Arp2/3. À noter que sur un substrat 3D plus complexe, composé de fibres de collagène de type I (le composant principal du tissu interstitiel), l'invadopode n'est pas ponctiforme,

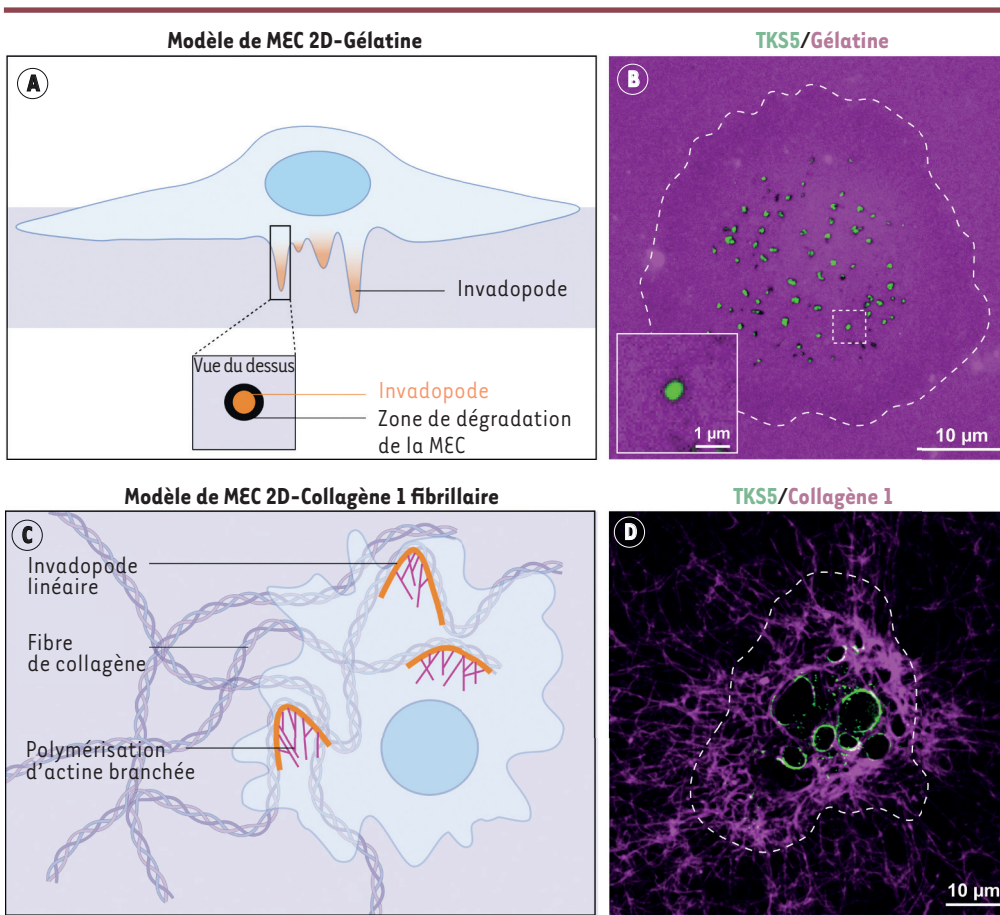


Figure 4. Diversité de la morphologie des invadopodes en fonction du substrat. (A, B) Sur un substrat bidimensionnel de gélatine (représentant une matrice extracellulaire [MEC] ultra-simplifiée), il est possible de visualiser l'activité protéolytique des invadopodes par la disparition du signal fluorescent associé à la gélatine. La visualisation des invadopodes dégradant la MEC nécessite un immunomarquage d'un marqueur d'invadopode, comme la cortactine ou, comme dans la figure, la protéine TKS5 (*tyrosine kinase substrate with five SH3 domains*) (B). (C, D). Lorsque les cellules invasives sont au contact d'un substrat plus physiologique, ici un réseau de collagène de type I fibrillaire, les invadopodes se forment en association

avec les fibres de collagène et adoptent une morphologie linéaire. Grâce à la combinaison de leur activité dégradative et de la force appliquée par l'invadopode directement sur la fibre de collagène, les fibres de collagène se courbent (le réseau d'actine branché de l'invadopode étant localisé au niveau de la face concave de la fibre). La force de poussée produite par l'invadopode et transmise à la fibre de collagène résulte de la polymérisation des filaments d'actine branchés dans les invadopodes. Les invadopodes linéaires sont également visualisés par immunomarquage de protéines spécifiques, comme TKS5, les fibres de collagène étant marquées grâce à un fluorophore (D).

mais se développe de façon linéaire et étroitement associée à la fibre de collagène au contact de la membrane cellulaire [1, 6, 20]. Une étude récente, utilisant une technique de microscopie électronique sur réplique de platine, a montré que l'actine branchée s'accumule au contact de la membrane plasmique en association avec la fibre de collagène qui est courbée par l'action de l'invadopode [6] (Figures 4C,D). Enfin, comparés aux podosomes, les invadopodes ont un temps de vie plus long : de l'ordre de la minute pour les podosomes et de l'heure pour les invadopodes [1].

Formation, stabilisation et désassemblage des invadosomes

Un modèle du cycle de vie des invadosomes a été proposé. Selon ce modèle, la dynamique des invadosomes peut être décomposée en plusieurs étapes : initiation et formation, maturation et enfin désassemblage (Figure 5).

Initiation et formation

L'initiation (Figure 5A) se produit à l'interface entre la cellule et la MEC, et est induite par différentes voies de signalisation. Des facteurs de croissance, comme le TGF- β , l'EGF (*epidermal growth factor*), le PDGF (*platelet-derived growth factor*) ou le VEGF (*vascular endothelial growth factor*), sont suffisants pour déclencher la formation d'invadosomes [2, 21]. Les signaux déclenchés par ces facteurs de croissance se combinent à des signaux de position impliquant des récepteurs qui se lient directement à certains composants de la MEC, comme les intégrines ou encore le récepteur du collagène, DDR1 (*discoidin domain receptor 1*) [6, 12]. Par exemple, il a été montré que le complexe d'intégrines $\alpha_v\beta_3$ est nécessaire pour la formation et la fonction des podosomes dans les ostéoclastes [22]. De même,

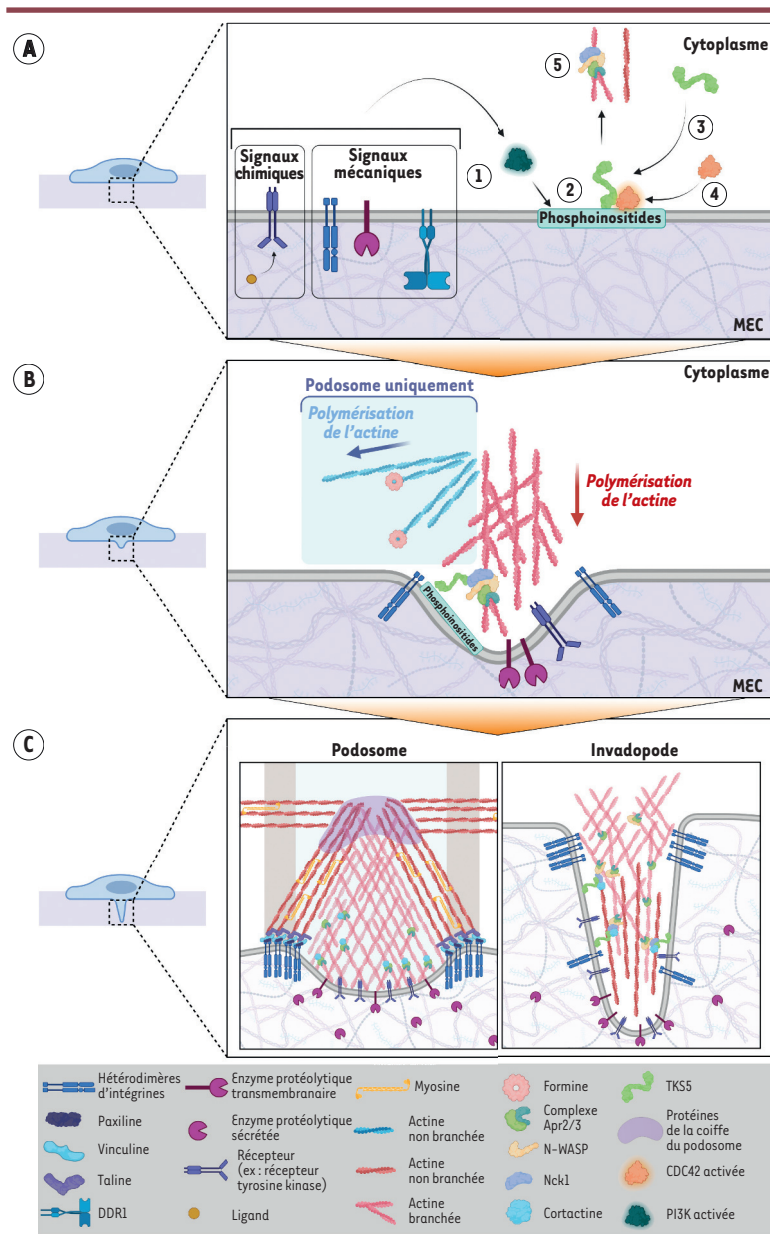


Figure 5. Cycle de vie simplifié d'un invadosome. La première étape de la formation d'un invadosome est l'initiation **A**. Suite à la réception de signaux chimiques (des facteurs de croissance) et mécaniques (un signal d'attachement à la matrice par des récepteurs comme les intégrines, le récepteur du collagène DDR1 (*discoi-din domain receptor 1*) ou encore certaines enzymes protéolytiques transmembranaires), des voies de signalisation sont activées mettant en jeu des protéines, comme la PI3K (*phosphoinositide-3-kinase*) (1) qui induit la formation de microdomaines riches en phosphoinositides à la membrane plasmique (2), ce qui favorise l'interaction de protéines d'échafaudage comme TKS5 (*tyrosine kinase substrate with five SH3 domains*) (3) via leur domaine PX (*phox homology*) avec la membrane plasmique au site d'initiation. TKS5 va alors favoriser le recrutement de la protéine liant le GTP, CDC42 (4), permettant le recrutement et l'activation de la machinerie de polymérisation de l'actine (5). La formation **B**. de l'invadosome commence par la polymérisation de l'actine sous forme d'un réseau branché qui induit la protrusion. Pour les podosomes, les formines FHOD1 (*formin homology 2 domain containing 1*) et INF2 (*inverted formin 2*) sont activées et entraînent la formation de filaments latéraux et dorsaux d'actine non branchés. Des enzymes protéolytiques transmembranaires sont recrutées et des enzymes protéolytiques peuvent également être sécrétées, ce qui confère à la structure son activité dégradative. L'ensemble de ces processus conduit à la formation d'une structure mature qui remodèle la matrice extracellulaire (MEC) (**C**). Le désassemblage de la structure, encore mal caractérisé, n'est pas représenté sur la figure.

l'attachement du complexe d'intégrines $\alpha 5 \beta 1$ à la fibronectine, composant essentiel de la MEC, est un signal induisant la formation des invadopodes [23]. Étonnamment, la protéase matricielle, MT1-MMP (*membrane type 1-matrix metalloproteinase*), produit du gène *MMP14*, effecteur central de l'activité de dégradation de la MEC des invadosomes, s'avère également nécessaire à la formation des invadosomes et peut contrôler leur dynamique [6]. En effet, après la dissolution des podosomes, des îlots de MT1-MMP subsistant dans la membrane plasmique servent de sites de reformation pour de nouvelles structures [24]. De plus, l'exposition de MT1-MMP à la membrane plasmique, y compris d'une forme mutée inactive de la protéine, est requise pour la formation des invadopodes induite par le collagène de type I fibrillaire [6]. La réception de ces signaux initiateurs conduit à l'activation de

différentes cascades de signalisation impliquant des kinases, telles que PI3K ou Src, et qui convergent vers une cascade de signalisation centrée sur la petite protéine G, CDC42, permettant le recrutement d'effecteurs favorisant directement la polymérisation de l'actine, comme les protéines apparentées WASP/N-WASP et le complexe Arp2/3 [2, 21] (Figure 5B). L'absence de CDC42, l'expression d'une forme mutante dominante négative ou encore la perte d'expression de FGD1, facteur d'échange nucléotidique contrôlant l'activation de CDC42, conduisent à l'inhibition de la formation des invadopodes. En outre, l'activation de la kinase Src conduit à la phosphorylation d'un résidu tyrosine

de la cortactine [23], une protéine qui se lie aux filaments d'actine branchés, ce qui permet le recrutement de la protéine adaptatrice Nck-1 (*NCK adaptor protein 1*), de N-WASP, du complexe Arp2/3 et de la cofiline [11, 25], des protéines qui amplifient la polymérisation d'actine branchée et la formation des invadosomes. Enfin, un autre acteur du remodelage du réseau de filaments d'actine branchés, la coronine 1C, est essentiel pour la formation des invadopodes. Son niveau d'expression a d'ailleurs été corrélé à l'agressivité de tumeurs mammaires invasives [26]. Cette polymérisation d'actine branchée constitue l'étape d'initiation durant laquelle est formé un précurseur de l'invadopode. Néanmoins, ce dernier est très instable et ne suffit pas pour former une structure dégradative « mature ». La formation d'un invadosome fonctionnel requiert donc une étape supplémentaire de maturation.

Maturation des invadosomes

La stabilisation des invadosomes requiert des protéines d'échafaudage, telles que TKS5 et TKS4, dont le recrutement précède l'accumulation des protéases. L'absence de TKS5 conduit à l'inhibition de la formation des invadopodes ainsi qu'à une réduction de la dégradation de la MEC. La perte d'expression de TKS4 a les mêmes conséquences, mais moins prononcées [27, 28].

À la suite de l'engagement des récepteurs matriciels (intégrines, DDR, MT1-MMP, etc.), l'activation initiale de la PI3K et de l'inositol 5-phosphatase SHIP (*Src homology 2 domain-containing inositol phosphatase*) conduit à l'augmentation de la quantité de certains phosphoinositides dans la membrane plasmique, en particulier le phosphoinositide-3,4-bisphosphate (PI (3,4) P₂) [2]. TKS5 s'associe à ces domaines enrichis en PI (3,4) P₂ via son domaine PX (*phox homology*)², et s'accumule ainsi au niveau du site d'initiation des invadosomes dans la membrane plasmique. TKS5 est une protéine d'échafaudage qui interagit, via ses cinq domaines SH3 (*src homology 3*)³, avec différentes protéines essentielles à la formation des invadopodes, telles que FGD1, N-WASP et Nck-1, favorisant l'activation de CDC42 et du complexe Arp2/3, induisant la polymérisation du réseau de filaments d'actine branchés constitutifs de l'invadosome [7, 29].

Pour les podosomes, la stabilisation de la structure s'accompagne de l'activation des formines⁴ FHOD1 (*formin homology 2 domain containing 1*) et INF2 (*inverted formin 2*), conduisant, respectivement, à la polymérisation des filaments d'actine non branchés latéraux et dorsaux [30]. Comme pour les podosomes, la maturation des invadosomes est associée à l'acquisition de leur activité dégradative via le recrutement local de métalloprotéases matricielles transmembranaires, comme MT1-MMP, ou sécrétées, comme MMP2 et MMP9, ainsi que de protéines de la famille des ADAM (*a disintegrin and metalloprotease*), de protéases à sérine, et de cathepsines (cathepsine B) [2, 3]. Ces enzymes protéolytiques pouvant cliver une grande diversité de subs-

trats, elles confèrent aux invadosomes la capacité de remodeler différents constituants de la MEC, incluant le collagène IV composant majoritaire de la lame basale, et le collagène I, composant du tissu interstitiel et du stroma, ainsi que d'autres composants de la MEC (fibronectine, laminine, entactine, élastine, autres isoformes du collagène, etc.) [31] (Figure 5C).

Désassemblage des invadosomes

Contrairement aux étapes d'initiation et de maturation, le désassemblage des invadosomes demeure peu étudié. Il est probablement lié à la dégradation de la MEC et à la diminution progressive des stimulus induisant les voies de signalisation contrôlant la polymérisation de l'actine, notamment des protéines appartenant à la famille des GTPases Rho. Dans les invadopodes, RhoG, une protéine liant le GTP associée au remodelage du cytosquelette d'actine, est impliquée dans la déstabilisation des invadopodes, et son absence conduit à l'augmentation du nombre d'invadopodes formés ainsi que de leur durée de vie [32]. De même, l'activation d'une autre GTPase Rho, Rac1, conduit à la phosphorylation de la cortactine via la kinase PAK1 (*P21-activated kinase 1*), ce qui provoque la déstabilisation et le désassemblage du cytosquelette d'actine et de l'invadopode [33].

Dans les podosomes, la stimulation de la voie RhoA-ROCK conduit à l'activation de la myosine II. L'augmentation de la contractilité qui s'ensuit, conduit à la dissolution de la structure podosomique [18, 34].

Régulation mécanosensible de la formation des invadosomes

La formation des invadosomes dépend de signaux mécaniques d'attachement à la MEC. Il a été récemment montré que des interactions existent entre les invadopodes et les cavéoles, un type de structures mécanosensibles qui correspond à des petites invaginations membranaires. Invadopodes et cavéoles sont localisés à proximité l'un de l'autre en association avec les fibres de collagène I. Par ailleurs, la perte d'expression des composants essentiels à la formation des cavéoles (cavéoline-1, cavine-1 et EHD2 [*EH-domain containing 2*]) induit une réduction du nombre d'invadopodes formés ainsi que de leur activité [35].

La formation des invadosomes est également dépendante des caractéristiques physiques du substrat. En plus de l'influence de la topologie sur leur forme, la rigidité de la MEC participe au contrôle de leur formation. Des études menées avec des substrats de rigidités différentes ont montré qu'une rigidité plus grande favorise le nombre et l'activité

² Domaine de liaison au phosphoinositide (ndlr).

³ Domaine qui reconnaît les régions protéiques riches en proline (ndlr).

⁴ Les formines jouent un rôle majeur dans la mise en place du réseau d'actine (ndlr).

des invadosomes, et augmente leur temps de vie [36-39]. Cette observation interpelle car dans le cadre du cancer, la progression tumorale s'accompagne d'une réaction desmoplastique incluant une augmentation de la synthèse de MEC, ainsi que sa rigidification du fait de nombreux pontages moléculaires entre les protéines matricielles.

Enfin, certaines des voies mécanosensibles, contrôlant la formation des invadosomes et leur activité nécessitent un couplage mécanique avec le noyau cellulaire. En effet, lorsque la MEC exerce des contraintes mécaniques sur les cellules et sur leur noyau, organelle cellulaire la plus volumineuse et relativement rigide, les cellules tumorales présentent une dégradation des invadopodes accrue qui, pour sa mise en place, implique une série de protéines assurant un lien mécanique entre noyau, cytosquelette et centrosome [40, 41].

Contextes physiopathologiques de l'activité des invadosomes

Les invadosomes produisent une force sur la MEC inhérente au remodelage matriciel

La formation des invadosomes conduit à la production localisée de forces par la cellule, qui déforment la membrane plasmique et sont transmises à la MEC environnante. Ces forces découlent de l'action conjointe de la polymérisation et de l'élongation de filaments d'actine formant un réseau branché qui s'appuie contre la membrane et produit une force protrusive orientée en direction des fibres de la MEC. Dans le cas des podosomes, des protéines d'adhérence, situées dans l'anneau en périphérie du cœur, stabilisent l'ensemble en appliquant une force de traction radiale [5, 42]. La force totale produite par cette structure, de l'ordre de plusieurs piconewtons (pN) [5], permet au cœur du podosome de rester en contact étroit avec la MEC, permettant sa dégradation prolongée et en profondeur par les enzymes protéolytiques. Enfin, alors que les podosomes dégradent la MEC sur de larges étendues, mais de manière peu prononcée, les invadopodes, bien que présents en plus petit nombre, induisent une dégradation localisée, mais plus forte, grâce à leur temps de vie plus long [2].

Mise en évidence expérimentale de l'activité dégradative des invadosomes

L'activité dégradative des invadosomes est classiquement mise en évidence par la culture des cellules sur une fine couche de gélatine fluorescente, la dégradation de ce substrat se traduisant par l'apparition de zones sombres dues à la perte de signal fluorescent. La quantification de ces plages sombres constitue une mesure de l'activité des invadopodes (ou des podosomes). D'autres techniques ont été développées, permettant également de mettre en évidence et de quantifier la dégradation de la matrice dans un contexte plus physiologique, lorsque les cellules sont cultivées au contact d'un réseau de fibres de collagène I. Le clivage des fibres de collagène par MT1-MMP autour des invadosomes peut être détecté par immunomarquage avec un anticorps reconnaissant un

néoépitope (Col1-3/4C)⁵ de la molécule de collagène de type I après son clivage protéolytique [4, 10].

Fonctions physiologiques et maladies associées aux invadosomes

La capacité des invadosomes à remodeler la MEC est au cœur de leurs nombreuses fonctions physiopathologiques, notamment en relation avec la migration et l'invasion cellulaires. Cette relation peut être mise en évidence lorsque des composants essentiels des invadosomes voient leur activité perturbée, comme c'est le cas dans le syndrome de Wiskott-Aldrich caractérisé par un déficit plaquettaire, des diarrhées sanglantes, de l'eczéma ainsi qu'une déficience immunitaire. Ce phénotype trouve son origine dans une mutation affectant le gène codant la protéine podosomique WASP, dans les cellules de la lignée hématopoïétique [43]. Cette mutation de WASP provoque une altération de la formation des podosomes dans les macrophages et une inhibition de la capacité de ces cellules à migrer et à patrouiller dans les tissus en réponse à des signaux chimiotactiques, causant une forme d'immunodéficience [44]. Une réversion de ce phénotype est possible par réexpression de la protéine WASP chez des souris mutantes présentant le phénotype d'immunodéficience par invalidation du gène *Was* [45].

La perte d'expression des protéines apparentées, TKS4 ou TKS5, conduit à l'apparition du syndrome de Frank-Ter Haar se traduisant par des malformations crânio-faciales, cardiovasculaires et oculaires. Dans des modèles de poisson-zèbre ou de souris présentant un défaut d'expression de ces protéines invadosomiques, une altération des propriétés migratoires des cellules des crêtes neurales au cours du développement embryonnaire est à l'origine des déformations observées [46, 47].

Dans le contexte pathologique du cancer, les invadopodes ont été documentés dans différentes lignées de cellules cancéreuses issues de tumeurs de la vessie, colorectales, de la prostate, du sein et de la peau [48]. Récemment, ces structures ont également été observées dans des cellules obtenues à partir de tumeurs primaires [49]. La surexpression des protéines des invadopodes, comme MT1-MMP, la cortactine ou TKS5, constitue un facteur de mauvais pronostic chez les patients [50, 51]. Les invadopodes sont impliqués dans toutes les étapes de la cascade métastatique [52]. Notamment, dans les cancers du sein, une élévation des niveaux d'expression de MT1-MMP est corrélée à l'évolution *in situ* des carcinomes, de non invasifs vers des lésions cancéreuses invasives [53].

Outre les processus impliquant la migration et l'invasion cellulaire, les invadosomes sont impliqués dans

⁵ Collagen type I (3/4 fragment) C-terminal cleavage site.



les mécanismes d'angiogenèse, les podosomes formés par les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins contribuant à la dégradation de la membrane basale et favorisant la formation de nouveaux vaisseaux sanguins [54]. Les invadosomes participent également à la maturation des jonctions neuromusculaires, en permettant un agencement particulier des récepteurs de l'acétylcholine à la membrane des myotubes, et en facilitant la croissance au travers de la MEC, des neurites formés par le motoneurone [55, 56]. Les invadosomes pourraient également être impliqués dans le processus de présentation de l'antigène au cours de la réponse immunitaire. L'internalisation de l'antigène par les cellules dendritiques semble en effet dépendre de la capacité de ces cellules à former des podosomes fonctionnels. Par ailleurs, les récepteurs de type PRR (*pattern recognition receptor*) des cellules de l'immunité innée, comme les cellules dendritiques, se localisent près de structures assimilables à des podosomes [3, 57].

Visualisation des invadosomes *in vivo*

Bien que leur importance physiologique soit démontrée, l'observation des invadosomes *in vivo* est rendue difficile par leur petite taille et leur durée de vie limitée. Néanmoins, la détection de marqueurs des invadosomes comme TKS5 sur des coupes histologiques de tumeurs de patients constitue un argument de poids en faveur de leur existence *in vivo* [49, 58]. Ces observations ont été confirmées grâce aux avancées réalisées dans les techniques de microscopie et dans les outils moléculaires issus du génie génétique. Notamment, l'utilisation de la microscopie intravivale a permis de visualiser les cellules tumorales exprimant un marqueur d'invadosome, comme la coronine-1C (couplée à la protéine fluorescente GFP [green fluorescent protein]), *in situ* dans des xenogreffes de tumeurs mammaires injectées orthotopiquement⁶ à des souris. Ces expériences ont montré la formation de structures protrusives au front de migration des cellules tumorales invasives ainsi que leur proximité avec la MEC de collagène I et leur implication dans sa dégradation [26]. La généralisation de telles études *in vivo* devrait participer à terme au développement de nouvelles thérapies.

Conclusion et possibilités d'intervention thérapeutique

Les podosomes et les invadopodes sont des structures cellulaires permettant le remodelage de la MEC, qui partagent de nombreuses similitudes structurales. Leur plasticité rend difficile leur caractérisation complète, et des informations manquent encore quant à leur comportement et à leur activité dans des cellules dans leur environnement naturel, tridimensionnel *in vivo*. La diversité des fonctions des invadosomes justifie la poursuite de programmes de recherche approfondie concernant ces structures dans l'espoir de trouver de nouvelles pistes thérapeutiques. Dans le contexte du cancer, le développement de médicaments ciblant spécifiquement les invadopodes devrait permettre de réduire le processus de dissémination métastatique. Des essais cliniques anciens portant sur des inhibiteurs de MMP, pourtant essentielles à la fonction des invadosomes, n'ont cependant

pas abouti aux résultats escomptés, les inhibiteurs testés étant peu spécifiques et les tumeurs ayant été traitées à des stades avancés. De nouvelles recherches sont en cours afin d'identifier des petites molécules inhibitrices de la formation et de l'activité des invadosomes et ont d'ores et déjà conduit à l'identification de molécules inhibitrices prometteuses [59].

SUMMARY

Formation, organization and function of invadosomes in cell motility and tumor invasion

Invadosome is an umbrella term used to describe a family of cellular structures including podosomes and invadopodia. They serve as contact zones between the cell plasma membrane and extracellular matrix, contributing to matrix remodeling by locally enriched proteolytic enzymes. Invadosomes, which are actin-dependent, are implicated in cellular processes promoting adhesion, migration, and invasion. Invadosomes, which exist in various cell types, play crucial roles in physiological phenomena such as vascularization and bone resorption. Invadosomes are also implicated in pathological processes such as matrix tissue remodeling during metastatic tumor cell invasion. This review summarizes basic information and recent advances about mechanisms underlying podosome and invadopodia formation, their organization and function.

REMERCIEMENTS

Les figures de cet article ont été préparées avec Biorender.com. Les auteurs prient leurs collègues dont les travaux n'ont pas pu être tous cités compte tenu du format limité de cet article de bien vouloir les en excuser. Les auteurs remercient les membres du laboratoire de Philippe Chavrier pour leur relecture et leurs contributions à la rédaction de cet article. Les auteurs remercient également l'Institut Curie, le CNRS et l'École doctorale « Complexité du Vivant » (ED 515) pour leur soutien institutionnel, ainsi que la Fondation ARC pour la Recherche contre le Cancer (Programmes Labellisés 2020) et l'Association Ruban Rose (Grand Prix 2022) pour leur soutien financier à l'équipe de Philippe Chavrier. Cécile Gamblin est soutenue par un contrat doctoral de la Fondation pour la Recherche Médicale.

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Cambi A, Chavrier P. Tissue remodeling by invadosomes. *Fac Rev* 2021 ; 10 : 39.
2. Linder S, Cervero P, Eddy R, Condeelis J. Mechanisms and roles of podosomes and invadopodia. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2023 ; 24 : 86-106.
3. Paterson EK, Courtneidge SA. Invadosomes are coming : new insights into function and disease relevance. *FEBS J* 2017 ; 285 : 8-27.
4. Lin SS, Su YA, Chuang MC, Liu YW. Probing invadosomes : technologies for the analysis of invadosomes. *FEBS J* 2022 ; 289 : 5 850-63.
5. Jasnin M, Hervy J, Balor S, et al. Elasticity of podosome actin networks produces nanonewton protrusive forces. *Nat Commun* 2022 ; 13 : 3 842.
6. Ferrari R, Martin G, Tagit O, et al. MT1-MMP directs force-producing proteolytic contacts that drive tumor cell invasion. *Nat Commun* 2019 ; 10 : 4 886.

⁶ Dans le tissu mammaire (ndlr).

RÉFÉRENCES

7. Zagryazhskaya-Masson A, Monteiro P, Mace AS, et al. Intersection of TKS5 and FGD1/CDC42 signaling cascades directs the formation of invadopodia. *J Cell Biol* 2020 ; 219 : e20191013.
8. Thuault S, Mamelonet C, Salameh J, et al. A proximity-labeling proteomic approach to investigate invadopodia molecular landscape in breast cancer cells. *Sci rep* 2020 ; 10 : 6787.
9. Ezzoukhry Z, Henriot E, Cordeliers FP, et al. Combining laser capture microdissection and proteomics reveals an active translation machinery controlling invadosome formation. *Nat Commun* 2018 ; 9 : 2031.
10. Remy D, Mace AS, Chavrier P, Monteiro P. Invadopodia Methods : Detection of Invadopodia Formation and Activity in Cancer Cells Using Reconstituted 2D and 3D Collagen-Based Matrices. *Methods Mol Biol* 2023 ; 2608 : 225-46.
11. Yamaguchi H, Lorenz M, Kempik S, et al. Molecular mechanisms of invadopodium formation : the role of the N-WASP-Arp2/3 complex pathway and cofilin. *J Cell Biol* 2005 ; 168 : 441-52.
12. Destaing O, Planus E, Bouvard D, et al. beta1A integrin is a master regulator of invadosome organization and function. *Mol Biol Cell* 2010 ; 21 : 4108-19.
13. Alonso F, Spuul P, Kramer I, Genot E. Variations sur le thème des podosomes, une affaire de contexte. *Med Sci (Paris)* 2018 ; 34 : 1063-70.
14. Genot E. Les podosomes endothéliaux. *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 168-74.
15. Pan YR, Chen CL, Chen HC. FAK is required for the assembly of podosome rosettes. *J Cell Biol* 2011 ; 195 : 113-29.
16. Chellaiha MA, Biswas RS, Yuen D, et al. Phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate directs association of Src homology 2-containing signaling proteins with gelsolin. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 47434-44.
17. Tatin F, Varon C, Genot E, Moreau V. A signalling cascade involving PKC, Src and Cdc42 regulates podosome assembly in cultured endothelial cells in response to phorbol ester. *J Cell Sci* 2006 ; 119 : 769-81.
18. Hu F, Zhu D, Dong H, et al. Super-resolution microscopy reveals nanoscale architecture and regulation of podosome clusters in primary macrophages. *iScience* 2022 ; 25 : 105514.
19. Di Martino J, Henriot E, Ezzoukhry Z, et al. The microenvironment controls invadosome plasticity. *J Cell Sci* 2016 ; 129 : 1759-68.
20. Juin A, Billottet C, Moreau V, et al. Physiological type I collagen organization induces the formation of a novel class of linear invadosomes. *Mol Biol Cell* 2012 ; 23 : 297-309.
21. Hoshino D, Branch KM, Weaver AM. Signaling inputs to invadopodia and podosomes. *J Cell Sci* 2013 ; 126 : 2979-89.
22. Nakamura I, Pilkington MF, Lakkakorpi PT, et al. Role of alpha (v) beta (3) integrin in osteoclast migration and formation of the sealing zone. *J Cell Sci* 1999 ; 112 : 3985-93.
23. Beatty BT, Sharma VP, Bravo-Cordero JJ, et al. beta1 integrin regulates Arg to promote invadopodial maturation and matrix degradation. *Mol Biol Cell* 2013 ; 24 : 1661-75, S1-11.
24. Gifford V, Itoh Y. MT1-MMP-dependent cell migration : proteolytic and non-proteolytic mechanisms. *Biochem Soc Trans* 2019 ; 47 : 811-26.
25. Mader CC, Oser M, Magalhaes MA, et al. An EGFR-Src-Arg-cortactin pathway mediates functional maturation of invadopodia and breast cancer cell invasion. *Cancer Res* 2011 ; 71 : 1730-41.
26. Castagnino A, Castro-Castro A, Irdondelle M, et al. Coronin 1C promotes triple-negative breast cancer invasiveness through regulation of MT1-MMP traffic and invadopodia function. *Oncogene* 2018 ; 37 : 6425-41.
27. Seals DF, Azucena EF, Jr., Pass I, et al. The adaptor protein Tks5/Fish is required for podosome formation and function, and for the protease-driven invasion of cancer cells. *Cancer Cell* 2005 ; 7 : 155-65.
28. Buschman MD, Bromann PA, Cejudo-Martin P, et al. The Novel Adaptor Protein Tks4 (SH3PXD2B) Is Required for Functional Podosome Formation. *Mol Biol Cell* 2009 ; 20 : 1302-11.
29. Stylli SS, Stacey TT, Verhagen AM, et al. Nck adaptor proteins link Tks5 to invadopodia actin regulation and ECM degradation. *J Cell Sci* 2009 ; 122 : 2727-40.
30. Panzer L, Trube L, Klose M, et al. The formins FHOD1 and INP2 regulate inter- and intra-structural contractility of podosomes. *J Cell Sci* 2016 ; 129 : 298-313.
31. Bonnans C, Chou J, Werb Z. Remodelling the extracellular matrix in development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014 ; 15 : 786-801.
32. Goicoechea SM, Zinn A, Awadia SS, et al. A RhoG-mediated signaling pathway that modulates invadopodia dynamics in breast cancer cells. *J Cell Sci* 2017 ; 130 : 1064-77.
33. Moshfegh Y, Bravo-Cordero JJ, Miskolci V, et al. A Trio-Rac1-Pak1 signalling axis drives invadopodia disassembly. *Nat Cell Biol* 2015 ; 17 : 350.
34. van den Dries K, Meddens MB, de Keijzer S, et al. Interplay between myosin IIA-mediated contractility and actin network integrity orchestrates podosome composition and oscillations. *Nat Commun* 2013 ; 4 : 1412.
35. Monteiro P, Remy D, Lemerle E, et al. A mechanosensitive caveolae-invadosome interplay drives matrix remodelling for cancer cell invasion. *Nat Cell Biol* 2023 ; 25 : 1787-803.
36. Alexander NR, Branch KM, Parekh A, et al. Extracellular matrix rigidity promotes invadopodia activity. *Curr Biol* 2008 ; 18 : 1295-9.
37. van den Dries K, Nahidiazar L, Slotman JA, et al. Modular actin nano-architecture enables podosome protrusion and mechanosensing. *Nat Commun* 2019 ; 10 : 5171.
38. Pourfarhangi KE, Bergman A, Gligorijevic B. ECM Cross-Linking Regulates Invadopodia Dynamics. *Biophys J* 2018 ; 114 : 1455-66.
39. Iizuka S, Leon RP, Gribbin KP, et al. Crosstalk between invadopodia and the extracellular matrix. *Eur J Cell Biol* 2020 ; 99 : 151122.
40. Infante E, Castagnino A, Ferrari R, et al. LINC complex-Lis1 interplay controls MT1-MMP matrix digest-on-demand response for confined tumor cell migration. *Nat Commun* 2018 ; 9 : 2443.
41. Nader GFP, Aguera-Gonzalez S, Routet F, et al. Compromised nuclear envelope integrity drives TREX1-dependent DNA damage and tumor cell invasion. *Cell* 2021 ; 184 : 5230-46.
42. Bouissou A, Proag A, Bourg N, et al. Podosome Force Generation Machinery : A Local Balance between Protrusion at the Core and Traction at the Ring. *ACS nano* 2017 ; 11 : 4028-40.
43. Massaad MJ, Ramesh N, Geha RS. Wiskott-Aldrich syndrome : a comprehensive review. *Ann N Y Acad Sci* 2013 ; 1285 : 26-43.
44. Linder S, Nelson D, Weiss M, Aepfelbacher M. Wiskott-Aldrich syndrome protein regulates podosomes in primary human macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999 ; 96 : 9648-53.
45. Charrier S, Stockholm D, Seye K, et al. A lentiviral vector encoding the human Wiskott-Aldrich syndrome protein corrects immune and cytoskeletal defects in WASP knockout mice. *Gene Ther* 2005 ; 12 : 597-606.
46. Iqbal Z, Cejudo-Martin P, de Brouwer A, et al. Disruption of the podosome adaptor protein TKS4 (SH3PXD2B) causes the skeletal dysplasia, eye, and cardiac abnormalities of Frank-Ter Haar Syndrome. *Am J Hum Genet* 2010 ; 86 : 254-61.
47. Murphy DA, Diaz B, Bromann PA, et al. A Src-Tks5 pathway is required for neural crest cell migration during embryonic development. *PLoS One* 2011 ; 6 : e22499.
48. Bergman A, Condeelis JS, Gligorijevic B. Invadopodia in context. *Cell Adh Migr* 2014 ; 8 : 273-9.
49. Chen YC, Baik M, Byers JT, et al. TKS5-positive invadopodia-like structures in human tumor surgical specimens. *Exp Mol Pathol* 2019 ; 106 : 17-26.
50. Mitre GP, Balbinot KM, Ribeiro ALR, et al. Key proteins of invadopodia are overexpressed in oral squamous cell carcinoma suggesting an important role of MT1-MMP in the tumoral progression. *Diagn Pathol* 2021 ; 16 : 33.
51. Kohrmann A, Kammerer U, Kapp M, et al. Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) in primary human breast cancer and breast cancer cell lines : New findings and review of the literature. *BMC Cancer* 2009 ; 9 : 188.
52. Paz H, Pathak N, Yang J. Invading one step at a time : the role of invadopodia in tumor metastasis. *Oncogene* 2014 ; 33 : 4193-202.
53. Lodillinsky C, Infante E, Guichard A, et al. p63/MT1-MMP axis is required for in situ to invasive transition in basal-like breast cancer. *Oncogene* 2016 ; 35 : 344-57.
54. Seano G, Chiverina G, Gagliardi PA, et al. Endothelial podosome rosettes regulate vascular branching in tumour angiogenesis. *Nat Cell Biol* 2014 ; 16 : 931-41, 1-8.
55. Chan ZC, Kwan HR, Wong YS, et al. Site-directed MT1-MMP trafficking and surface insertion regulate AChR clustering and remodeling at developing NMJs. *Elife* 2020 ; 9.
56. Lin SS, Hsieh TL, Liou GG, et al. Dynamin-2 Regulates Postsynaptic Cytoskeleton Organization and Neuromuscular Junction Development. *Cell Rep* 2020 ; 33 : 108310.
57. Baranov M, Ter Beest M, Reinieren-Beeren I, et al. Podosomes of dendritic cells facilitate antigen sampling. *J Cell Sci* 2014 ; 127 : 1052-64.
58. Chen YC, Baik M, Byers JT, et al. Experimental supporting data on TKS5 and Cortactin expression and localization in human pancreatic cancer cells and tumors. *Data Brief* 2019 ; 22 : 132-6.
59. Quintavalle M, Elia L, Price JH, et al. A cell-based high-content screening assay reveals activators and inhibitors of cancer cell invasion. *Sci Signal* 2011 ; 4 : ra49.

TIRÉS À PART

L. Chavrier