

Soutenance HDR
Jean-Louis Milan

Mécanobiologie de l'interface cellules-biomatériaux

Approches in silico pour l'ingénierie tissulaire

Membres du Jury

Anne-Virginie Salsac (UTC)

Thierry Hoc (EC Lyon)

Matthieu Piel (Institut Curie)

Claude Verdier (LIPHY)

Patrick Chabrand (ISM-AMU)

Introduction

Enjeux et Problématiques en Mécanobiologie cellulaire

3

Travaux de Modélisation *cellulaire*

Construction du modèle cellulaire

11

Travaux de Modélisation *cellulaire*

Influence de la Courbure de l'environnement sur la réponse cellulaire

22

Travaux de Modélisation *tissulaire*

Mécanorégulation de la formation tissulaire au sein et au voisinage de biomatériaux.

29

Travaux de Modélisation *ostéo-articulaire*

Facteur biomécanique de l'arthrose de la main

36

Profil professionnel

Management et Responsabilités scientifiques

40

Projet de recherche

Expérimenter *in silico* la réponse cellulaire face à des topographies dynamiques

48

Introduction

Enjeux et Problématiques en Mécanobiologie cellulaire

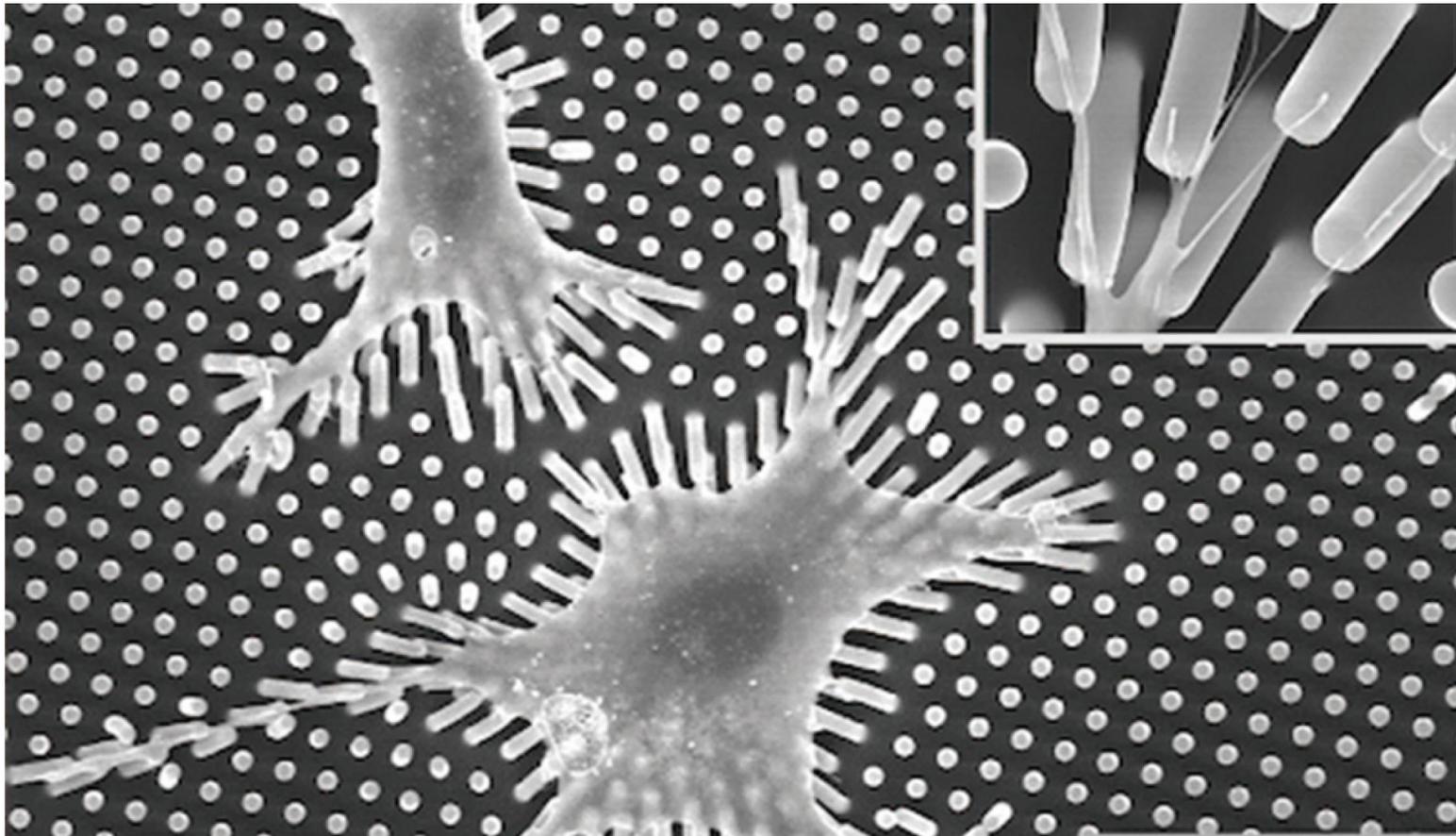
Les cellules, sensibles à l'environnement mécanique...

... et mettent en place une **réponse biologique adaptée**

- Les cellules remodelent les tissus en fonction du facteur mécanique
-> adaptation des tissus à l'environnement mécanique
- Processus mécanobiologiques essentiels en physiologie
- mais impliqués aussi en pathologie
- En ingénierie tissulaire,
la stimulation mécanique peut être une solution pour guider les cellules

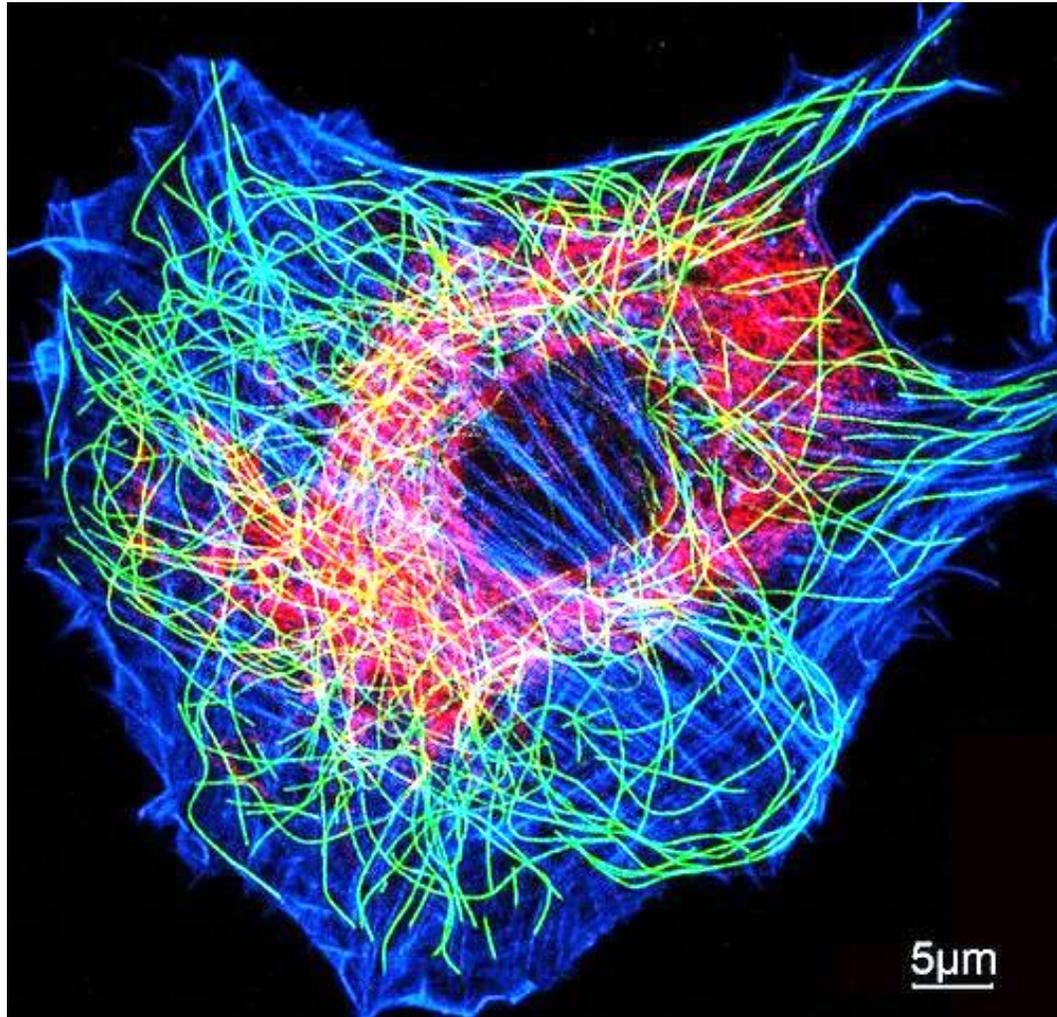
Les cellules, actives mécaniquement

- Elles exercent des forces de traction sur le substrat pour adhérer ou migrer



Adhésion cellulaire
sur des microplots
déformables

Les cellules possèdent une structure interne contractile

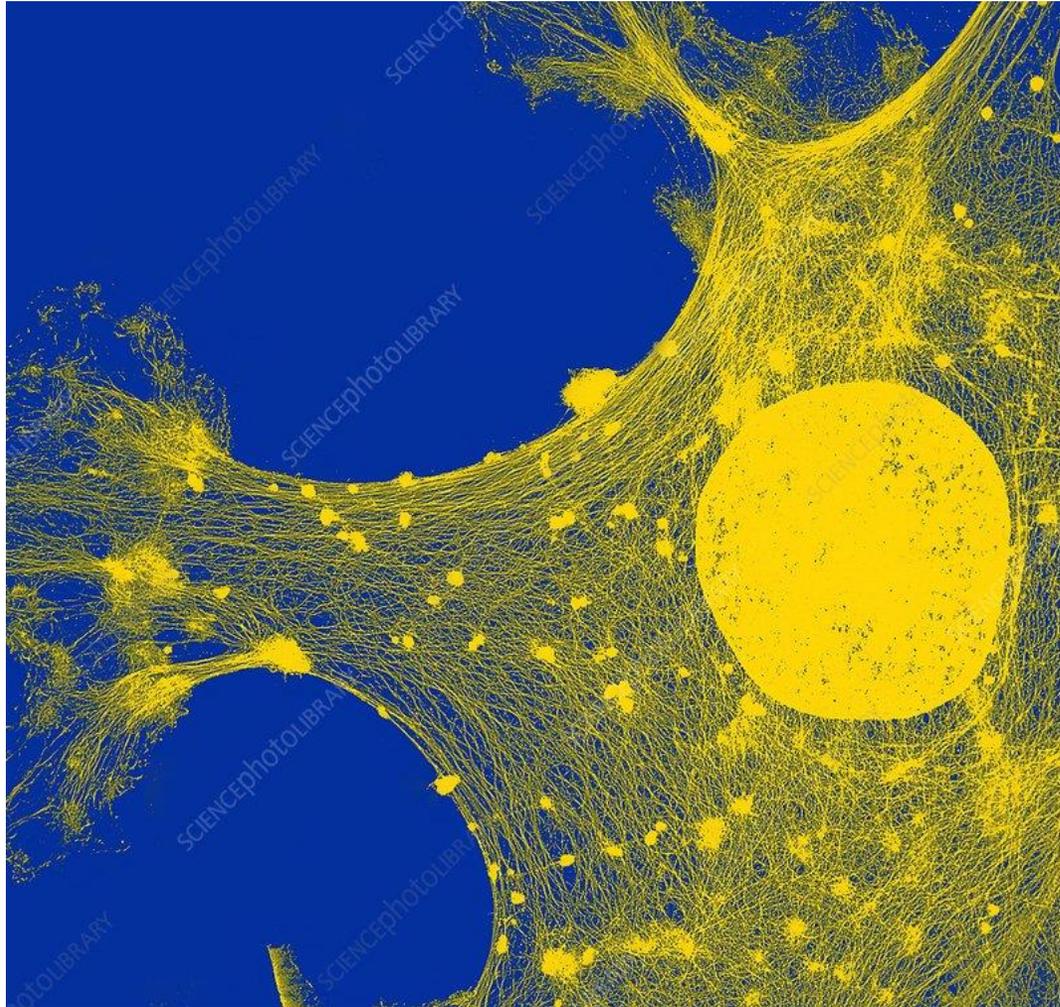


Le Cytosquelette

= Réseau de filaments

- Les **filaments d'actine** se contractent sous l'action de la myosine et génèrent des forces de traction
- Les **microtubules** jouent le rôle d'arceaux notamment lors de la division cellulaire

Le cytosquelette se prolonge dans le **noyau** en un nucléosquelette qui organise l'**ADN**



Signal mécanique qui transite par le cytosquelette

- est ressenti au niveau de l'ADN
- impacte l'expression génétique

Problématique générale

- Beaucoup de questions sur le comportement biologique des cellules
= **problèmes mettant en jeu cette relation entre mécanique et biologie, impliquant le cytosquelette.**

- Mais impossible de mesurer les forces intracellulaires qui transitent par le cytosquelette jusqu'au noyau

- Solution alternative ?

Environnement
mécanique

Cytosquelette

Fonction
biologique

La modélisation numérique (*in silico*) en soutien de l'*in vitro* et l'*in vivo*

- permet de réaliser des **expériences** numériques
- apporte des éléments de réponse complémentaires inaccessibles par l'*in vitro* ou l'*in vivo*
- Permet de vérifier des hypothèses sur le comportement cellulaire.

Ma problématique

Estimer les signaux mécaniques intracellulaires

impliqués lors de l'adhésion et la migration cellulaire

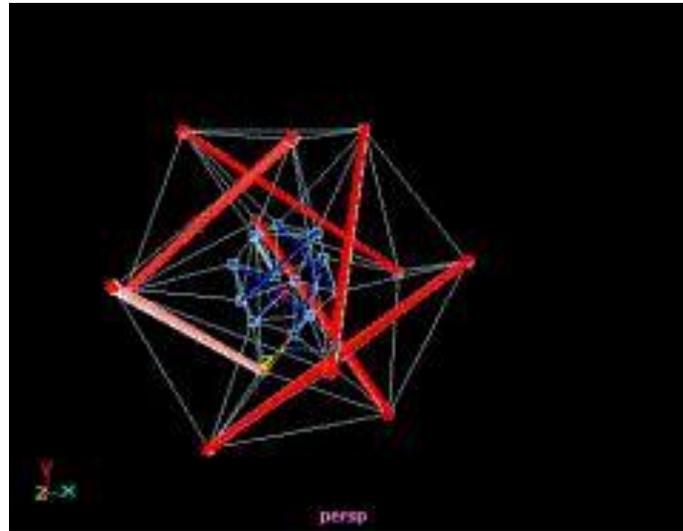
impossibles à mesurer *in vitro*

En modélisant le Cytosquelette en tant que structure mécanique

Travaux de Modélisation *cellulaire*

Construction du modèle cellulaire

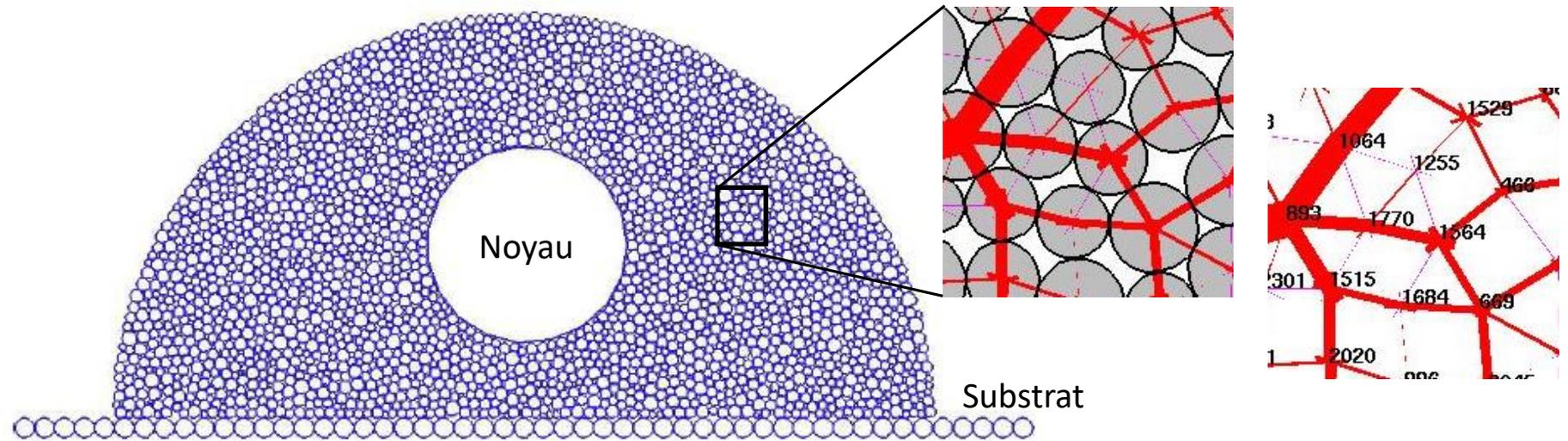
Inspiration : Concept de Tenségrité cellulaire (Ingber 1997, Stamenovic 2002)



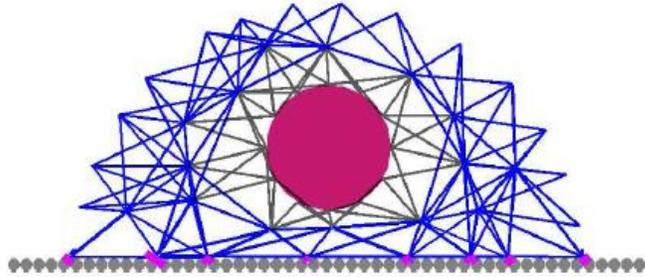
- Structure discrète pré-contrainte \approx Cytosquelette
- ...Reste à se rapprocher de l'architecture filamenteuse du Cytosquelette

Modèle cellulaire par approche multi corps (mécanique granulaire)

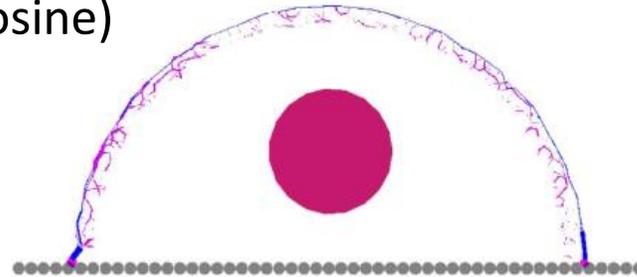
- 1ere ébauche : modèle 2D (2007)



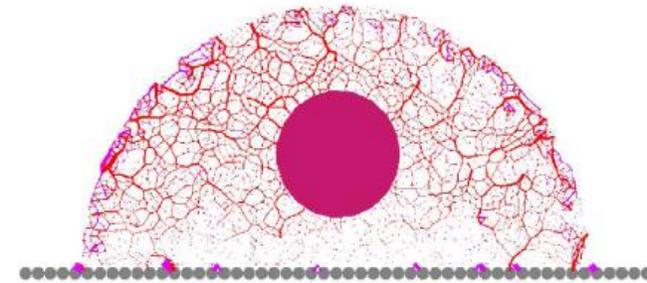
Organisation et lois d'interaction basées sur la littérature



Fibres de tension (actine+myosine)
Filaments intermédiaires
Points focaux d'adhésions



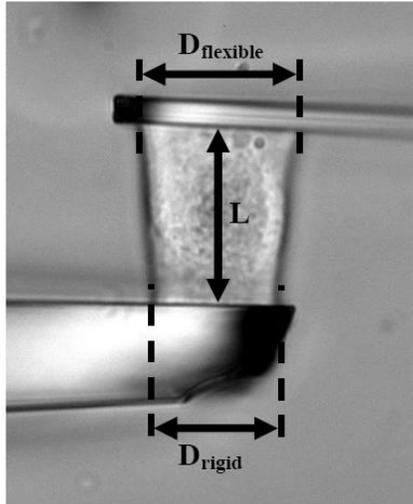
Cortex
d'actine



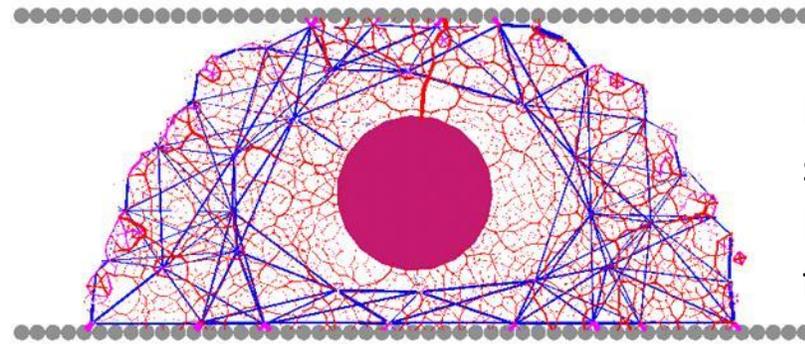
Microtubules

Réseaux de forces qui
représentent les filaments du CSQ

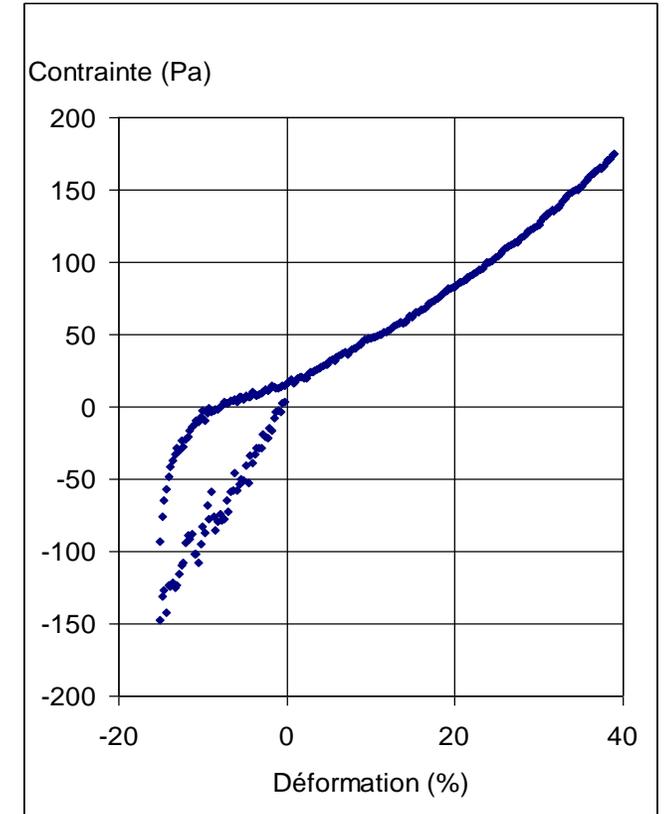
Un comportement global cohérent avec les expériences in vitro



(Thoumine 1997)



Largeur des segments =
Intensité des forces



Reproduit :

- Réarrangement structural du CSQ en cours de déformation
- Rigidité qui augmente avec la contractilité

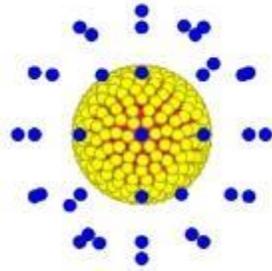
Apporte une estimation des efforts dans le CSQ et ceux transmis au noyau

Développement 1

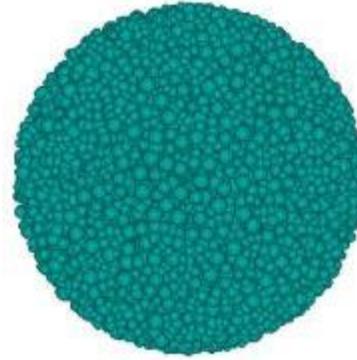
Modèle 3D



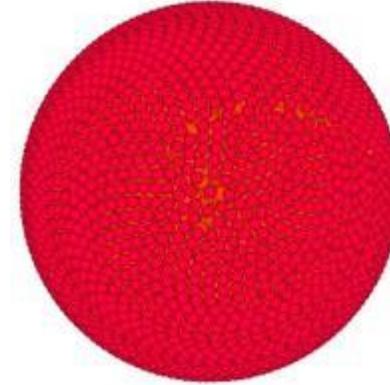
Nucleus Core



Nucleus
Membrane



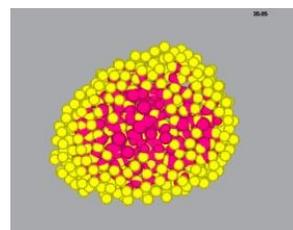
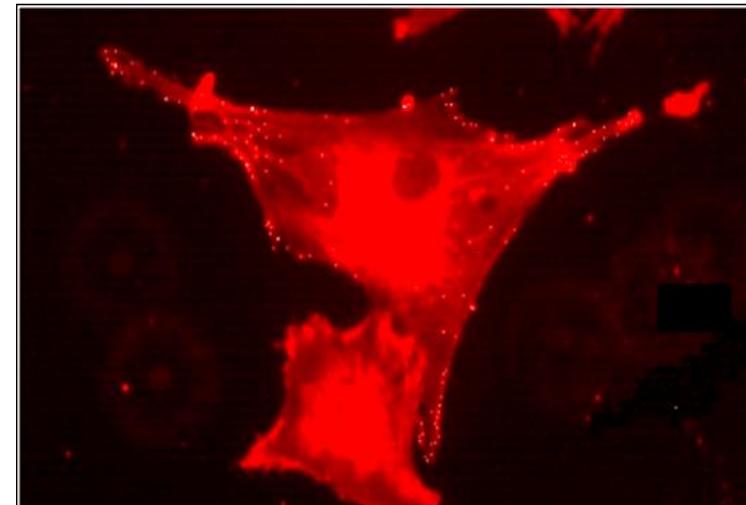
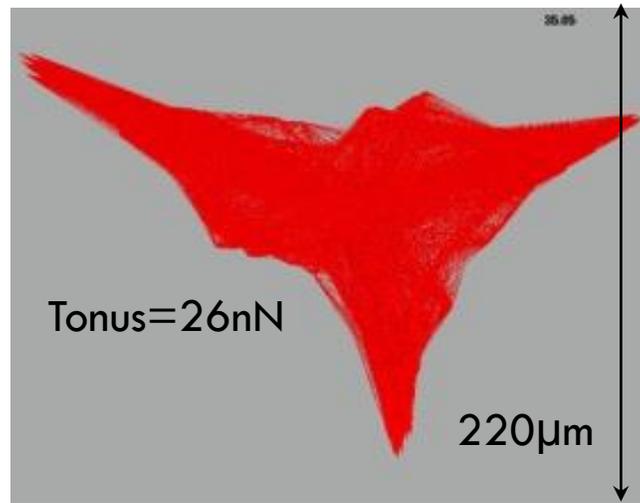
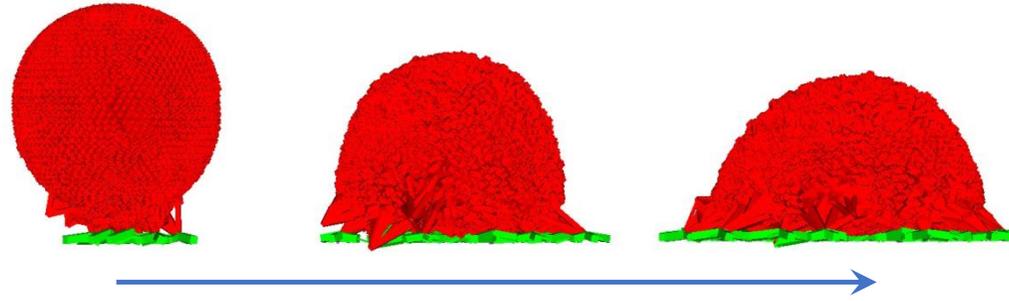
Cell core



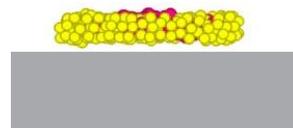
Cell membrane

Développement 2 Estimer les efforts au sein de cellules réelles

Simulation de l'étalement



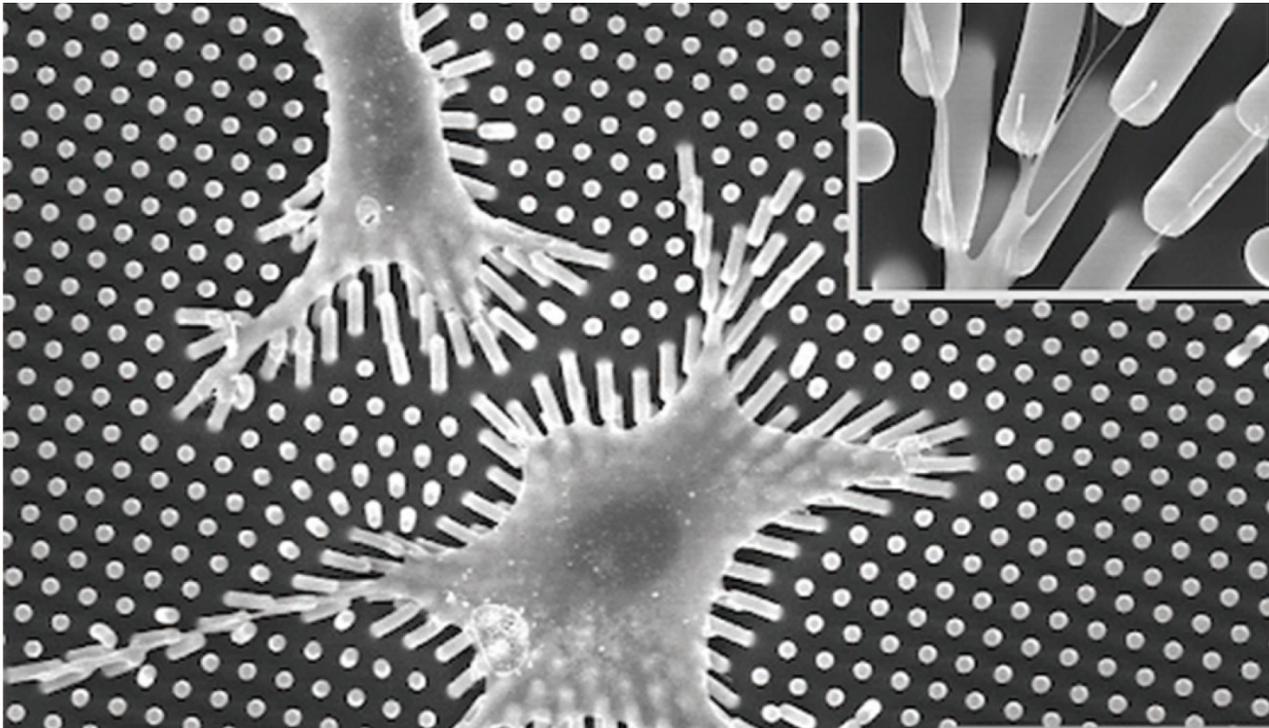
$\epsilon=110\%$



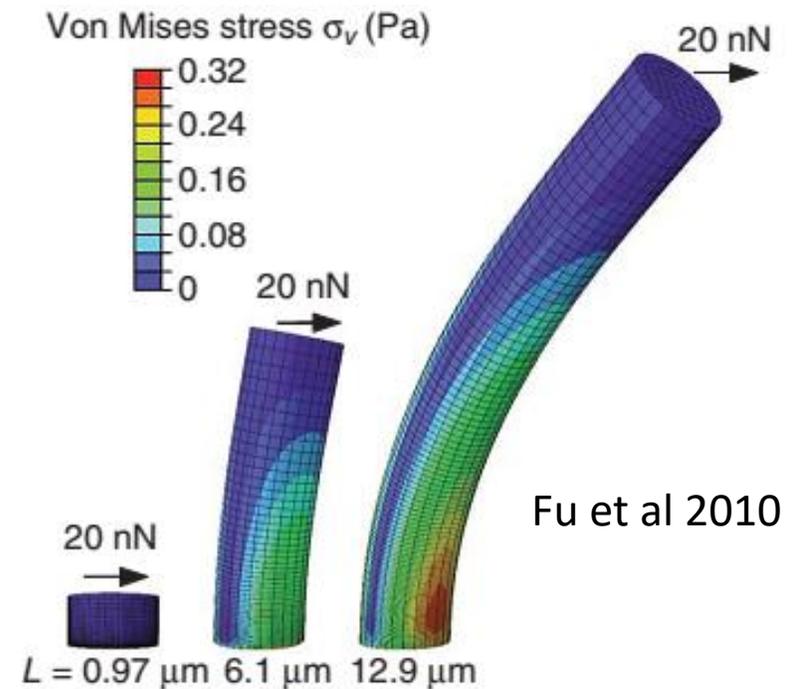
Collab. LIOAD Nantes
[Milan2013]

Développement 3 Estimer les efforts au sein de **cellules réelles** en considérant la **traction réelle** qu'elles exercent sur le substrat

- Collaboration avec Pr. Christopher Chen & Nathan Sniadecki (USA)
- Microplots -> Mesure des forces de traction de la cellule

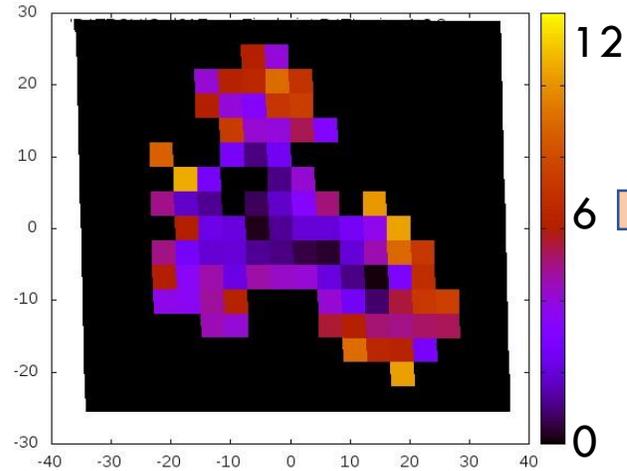


[Qianbin Wang](#) 2019

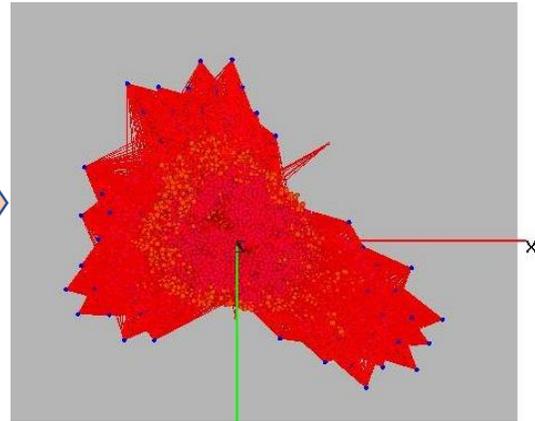


Protocole

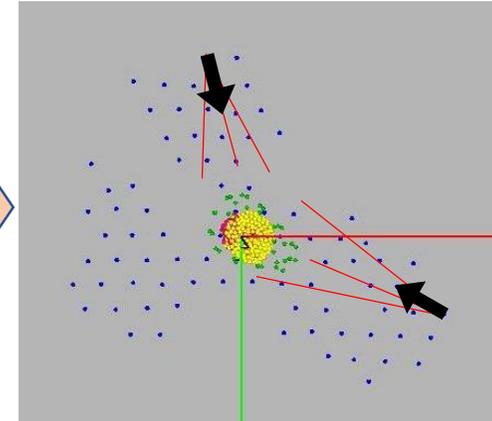
Cartographie
Forces d'adhésion



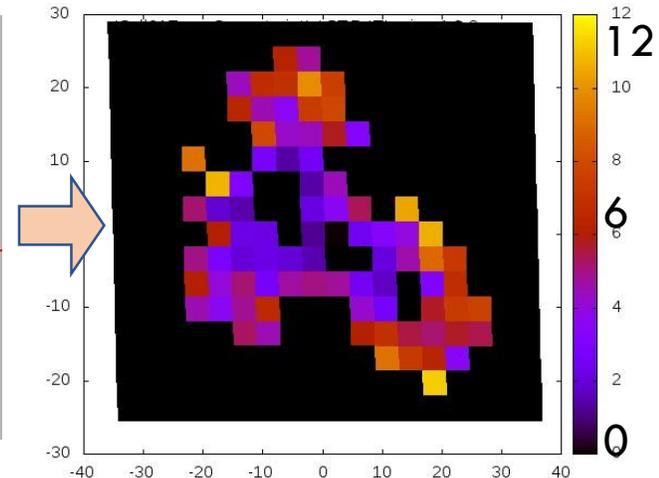
Etalement du Modèle



Adaptation de la
contractilité



Forces d'adhésion
du Modèle



Si Convergence : CSK valide



Estimation

des efforts au sein de la cellule cultivée *in vitro*,
Efforts Inaccessibles *in vitro*

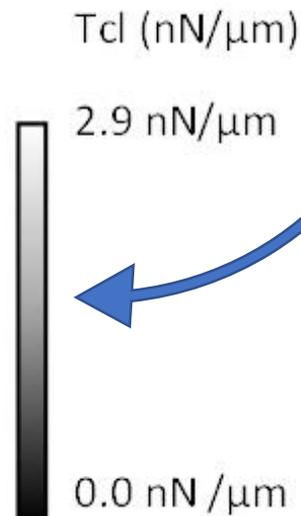
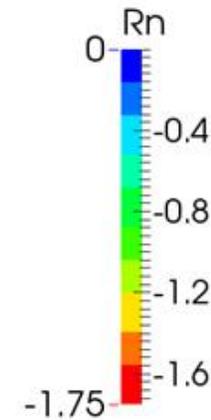
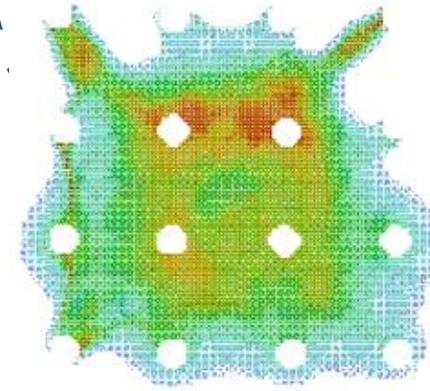
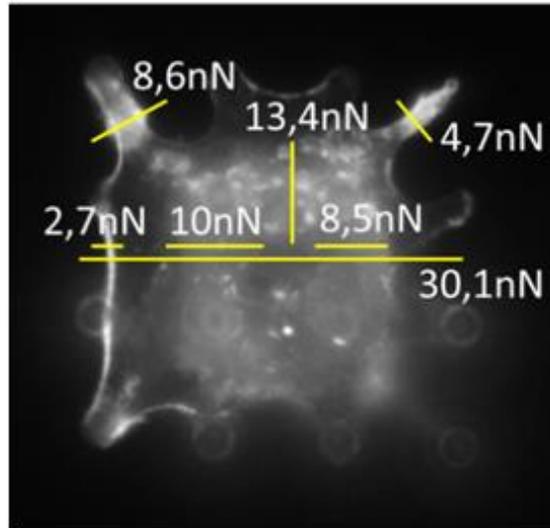
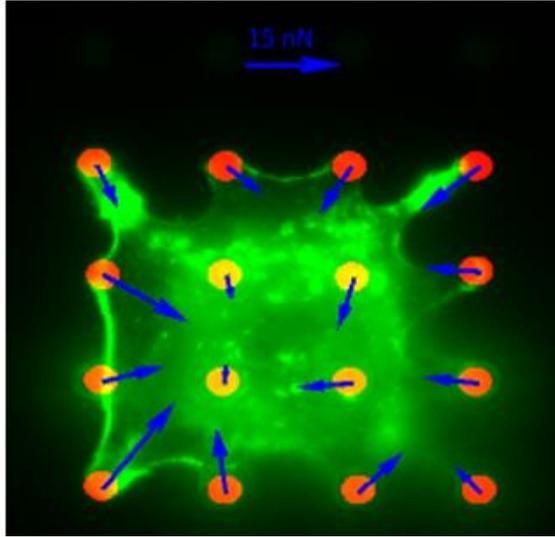
Collab. Christopher Chen & Nathan Sniadecki (USA)
[Milan2016]

Développement 4 Estimer les efforts en tout point de la cellule en considérant la structure réelle du cytosquelette

Ian Manifacier
(Doctorant)



Collab.
Nathan Sniadecki (USA)
[Manifacier2019]



Mimétisme cellulaire / Rigidité substrat
-> Adaptation de la Sensibilité cellulaire ?

Conclusions

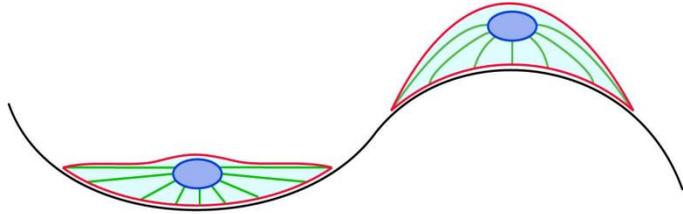
- Le modèle est proche de la réalité mécanique de la cellule
- **Analyse mécanique**
des processus mécanobiologiques d'**adhésion** et de **migration**

Travaux de Modélisation *cellulaire*

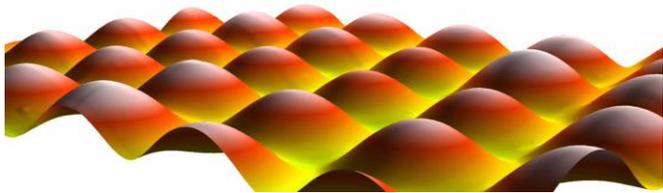
Influence de la Courbure de
l'environnement sur la réponse
cellulaire

Comment les cellules ressentent la courbure du substrat ?

Influence de la convexité / concavité ?



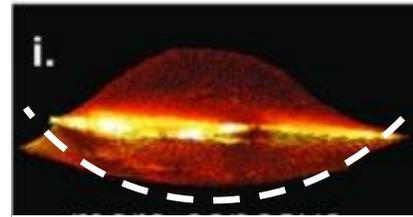
ANR Sinus Surf



Post-Doc 2017
Maxime Vassaux

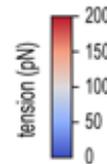
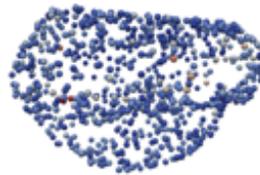
Confrontation avec
expériences In vitro

Modèle
Cellule

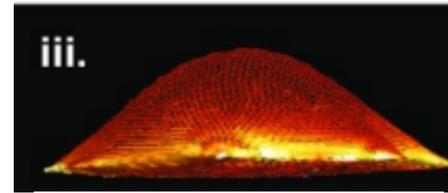


Concave

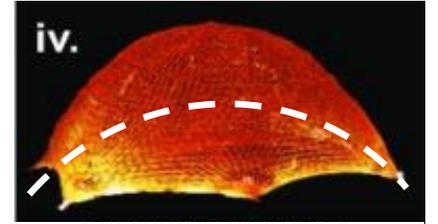
Noyau



convexité



Plat



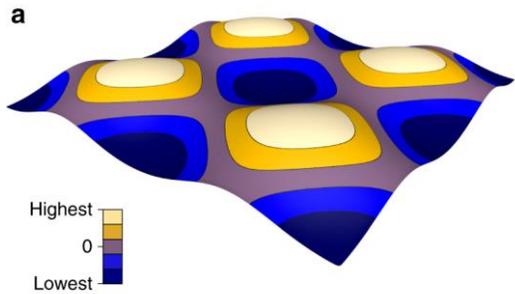
Convexe

++ différenciation
-- prolifération

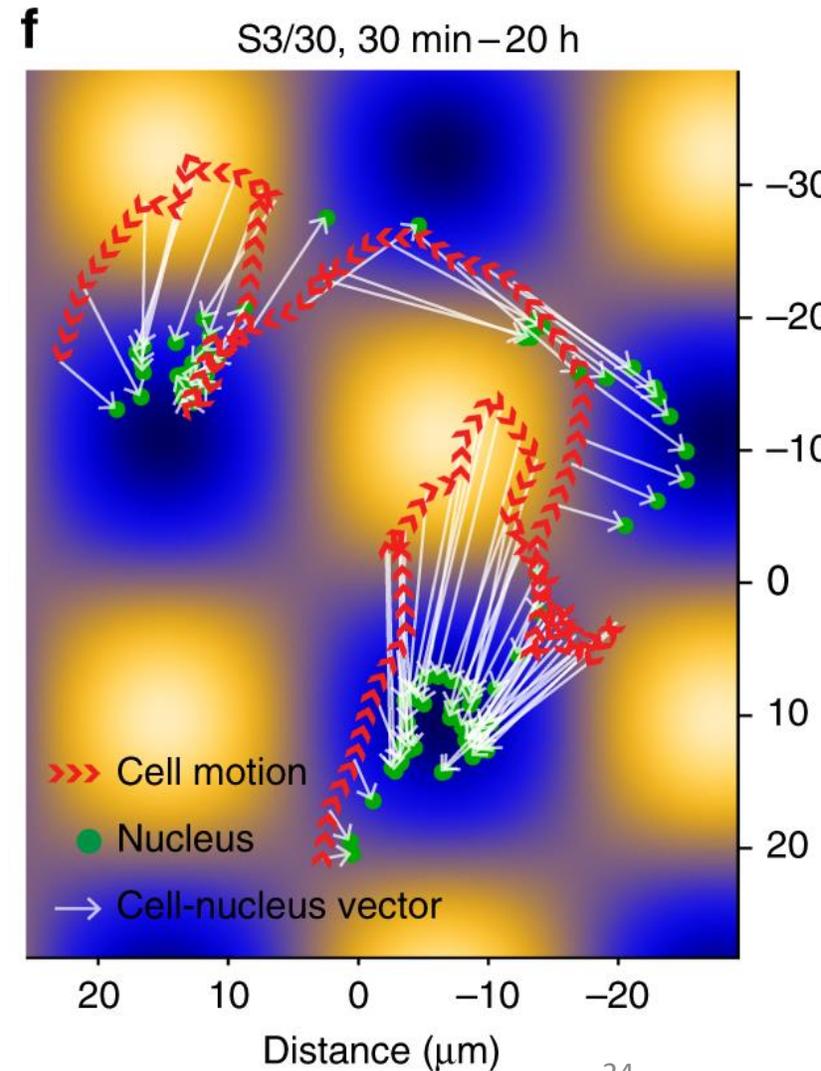
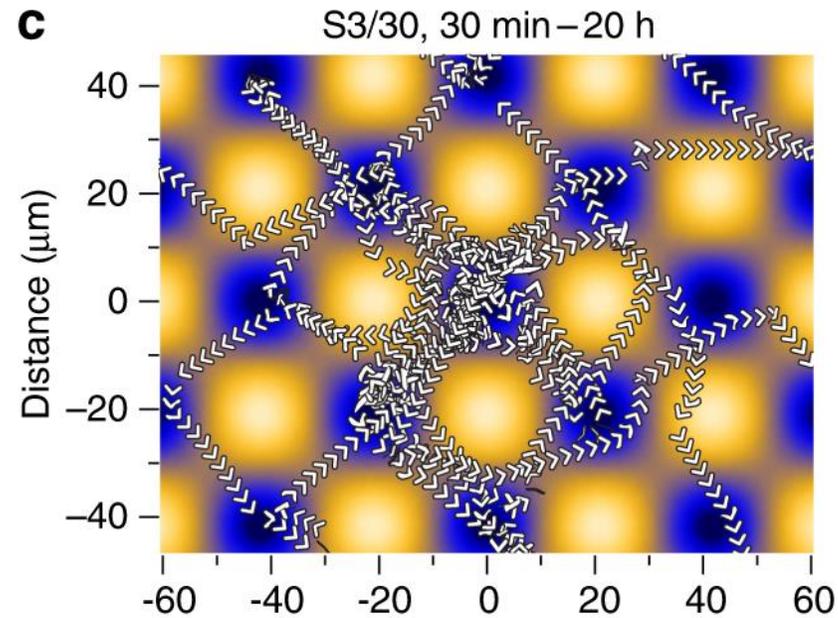
Stress mécanique

-- différenciation
++ quiescence

Courbure & migration



Observations in vitro



Phénomène de Curvotaxis

(pas un effet de la gravité)

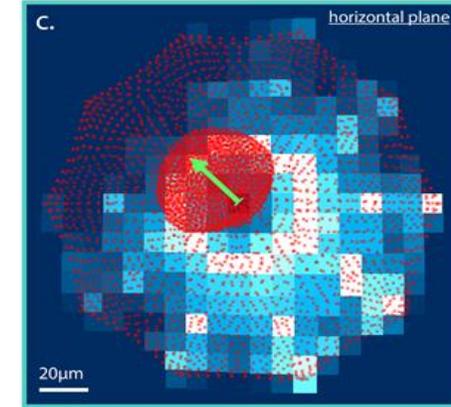
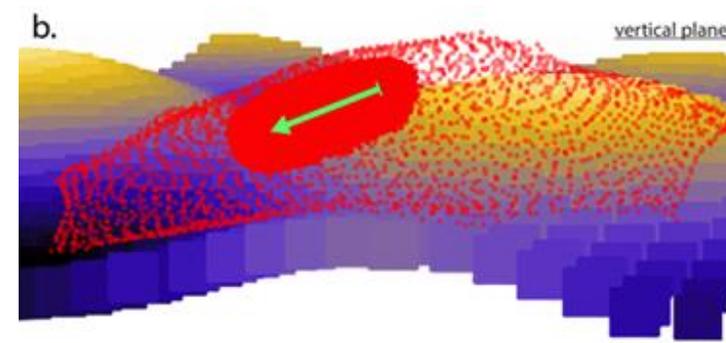
Curvotaxie – Hypothèse et implémentation du modèle

Maxime Vassaux



1^{er} Résultats du modèle

- Noyau poussé vers régions concaves
 - Pression plus faible



Hypothèse :

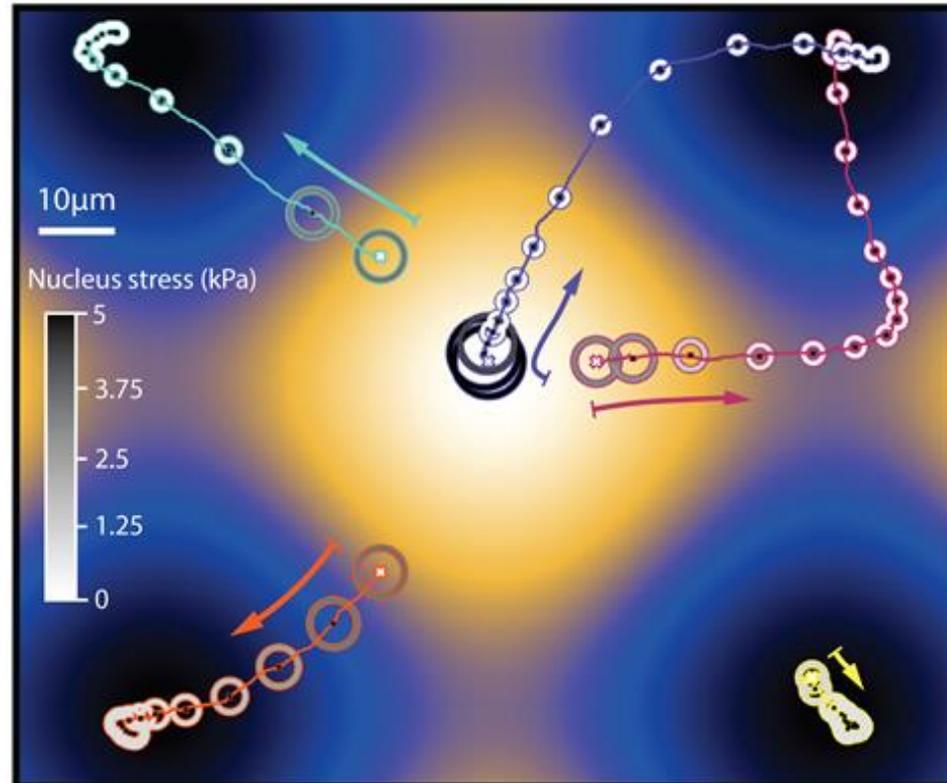
- noyau = mécano-senseur topologique
- **Décentrage Noyau = signal**
- migration cellulaire dans la même direction
 - recentrer le noyau
 - atteindre des zones concaves de moindre énergie

A l'aide du modèle

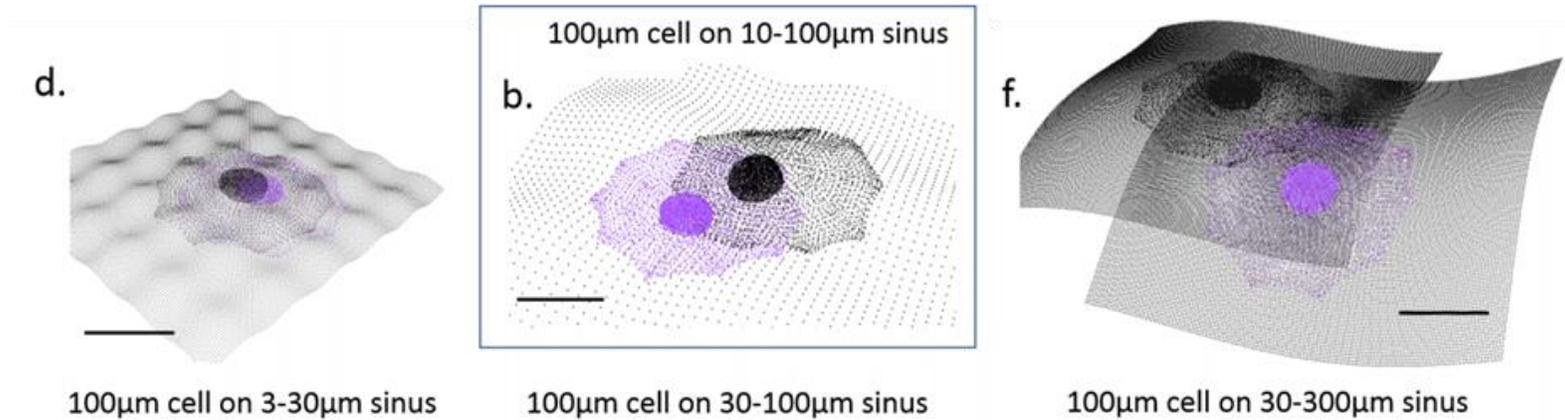
**Simulation de la migration
guidée par le noyau**

Résultats des simulations

- Trajectoires du modèle ; migration guidée par le noyau



Déterminants de la curvotaxie



- Curvotaxie possible sur des longueurs d'onde [10µm ; 200µm]
 - > Dépend des dimensions intrinsèques de la cellule
 - > vérifié in vitro
- Curvotaxie possible si cytosquelette contractile et noyau suffisamment rigide
 - = Processus mécanique qui nécessite l'intégrité structurale du cytosquelette et du noyau
 - > vérifié in vitro (inhibiteurs)

Discussion

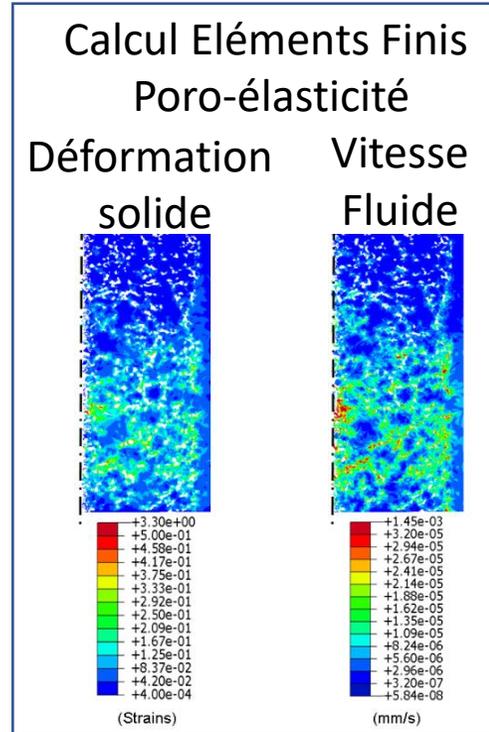
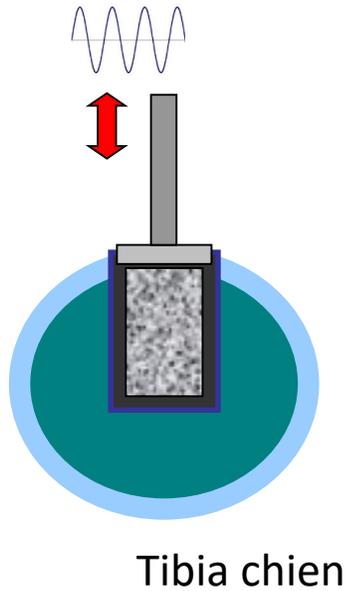
Le modèle participe à la compréhension du phénomène de curvotaxis :

- est une mise en forme de l'hypothèse
 - donne une explication mécanique de la curvotaxis
-
- Critiques des travaux ANR : guidage limité de la migration par curvotaxie sur ces surfaces sinusoïdales
 - Comment stimuler **par curvotaxie et en continu** la **migration sur de grandes distances** ?
 - Quelle surface courbe ? Surfaces à gradient de courbure croissant ?

Travaux de Modélisation *tissulaire*

Mécanorégulation de la formation tissulaire au sein et au voisinage de biomatériaux.

Identifier le chargement optimal pour stimuler la régénération osseuse au sein de matrices poreuses

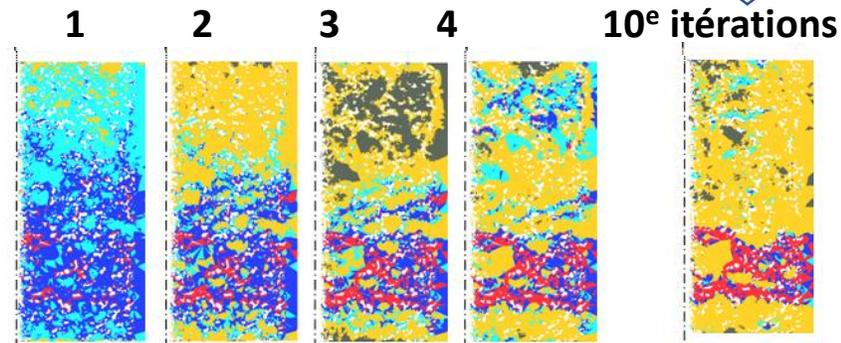


$$\text{Stimulus} = 26,7 \times \text{Déformation} + 0,33 \times \text{vitesse fluide}$$

0	Résorption
10^{-2}	Os Mature
0,26	Os Immature
1	Cartilage
3	Tissu Fibreux

phénotypes tissulaires
[Prendergast1997]

Compression
Cyclique de
5% en 1s
1h/jour



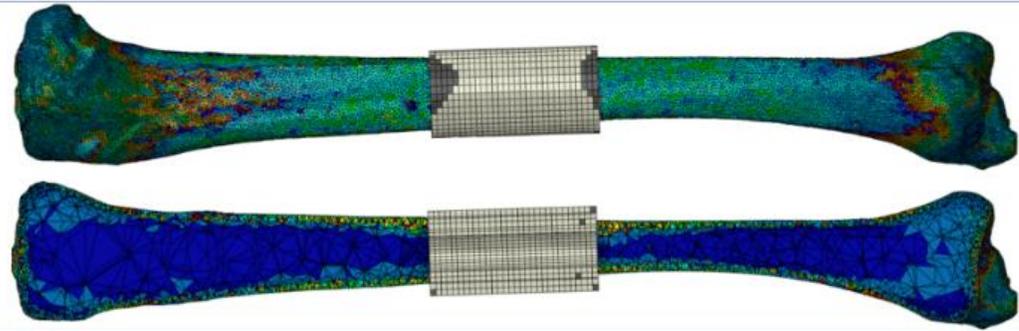
Fibrous tissue

Application du modèle à un cas clinique de trauma osseux

Déplacement de compression
Cycle de 1s
1h/jour

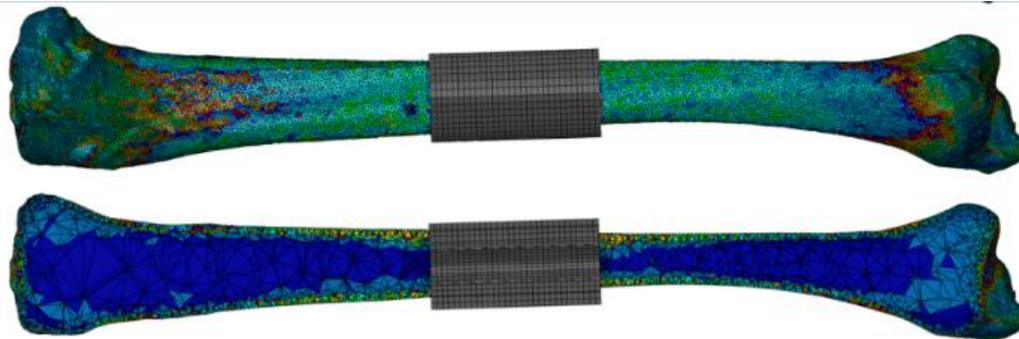


3 mm



0.1mm

Pb : faible colonisation cellulaire des matrices poreuses -> bio attractivité ?

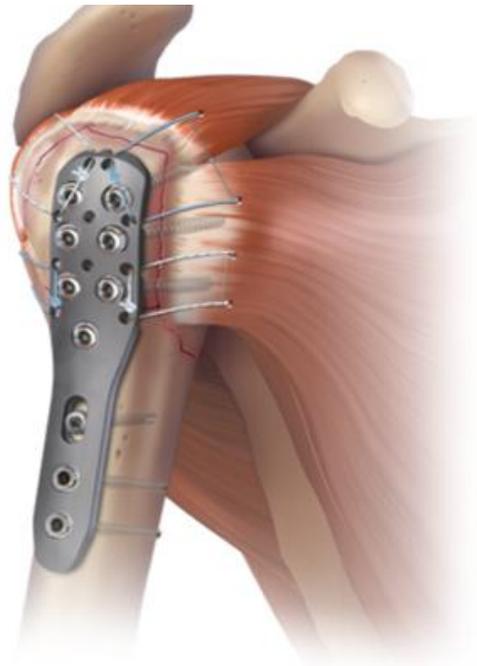


0.01mm

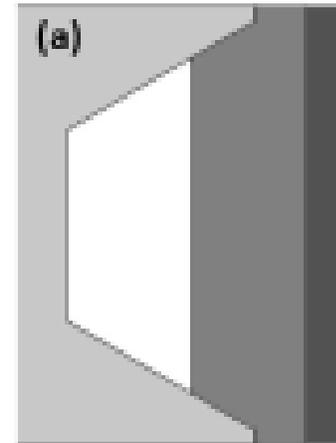
- Mature bone 
- Immature bone 
- Cartilage 
- Fibrous 
- Granulation 

Influence du traitement de surface sur l'ostéointégration d'un implant

Thèse de
Nicolas
Rousseau



Traitement par attaque acide
Nano & micro rugosité
Energie de surface x2
-> **adsorption de protéines ↗**
-> **adhésion cellulaire ↗**



Chambre de guérison
du filet de la vis

*Modèle mécanique
poroélastique*

Modélisation des Processus biologiques

Combinant les équations des modèles
 Prendregast1997; Andreykiv2008; Amor2011

Diffusion des MSCs	$D_{c_m} = \frac{D_h}{K_h^2 + m_{tot}} m_{tot}$
Haptotaxie des MSCs	$C_{c_m} = \frac{C_k}{(K_k + m_{tot})^2}$
Chimiotaxie des MSCs	$\chi_{c_m} = \frac{C_{ch}}{K_{ch}^2 + g^2} g$
Prolifération des MSCs	$P_{c_{m0}} = (1.2 - 0.7S)(1 - \kappa m_{tot})$
Différenciation des MSCs	$F_{c_{ob}} = F_{c_{ob0}} S \frac{g}{\beta_{ob} + g} + \frac{\alpha_{ob} g}{\beta_{ob} + g}$
Prolifération des ostéoblastes	$P_{c_{ob}} = (0.5 + 0.25S)(1 - \kappa m_{tot})$
Production des facteurs de croissance	$E_g = \frac{G_g}{(H_g + m)^2}$
Sécrétion d'os tissé	$Q_w = \frac{\alpha_w g}{\beta_w + g}$
Remodelage en os lamellaire	$Q_l = Q_{l0} S$

Évolution des Concentrations en :

Paramètres définis par rapport à la littérature

- Cellules souches

$$\frac{\partial c_m}{\partial t} = \nabla \cdot \left[\underbrace{D_{c_m} \nabla c_m}_{\text{diffusion}} - \underbrace{C_{c_m} c_m \nabla m}_{\text{haptotaxis}} - \underbrace{\chi_{c_m} c_m \nabla g}_{\text{chimiotaxis}} \right] + \underbrace{P_{c_m} (1 - \alpha c_{tot}) c_m}_{\text{prolifération}} - \underbrace{F_{c_{ob}} (1 - \alpha c_{ob}) c_m}_{\text{différenciation}}$$

- Facteurs de croissance

$$\frac{\partial g}{\partial t} = \nabla \cdot \left[\underbrace{D_g \nabla g}_{\text{diffusion}} \right] + \underbrace{E_g c_{ob}}_{\text{production}} - \underbrace{d_g g}_{\text{dégradation}}$$

- Os tissé

$$\frac{\partial m_w}{\partial t} = \underbrace{Q_w (1 - \kappa m_{tot}) c_{ob}}_{\text{sécrétion}} - \underbrace{Q_l m_w m_l (1 - \kappa m_l)}_{\text{remodelage}}$$

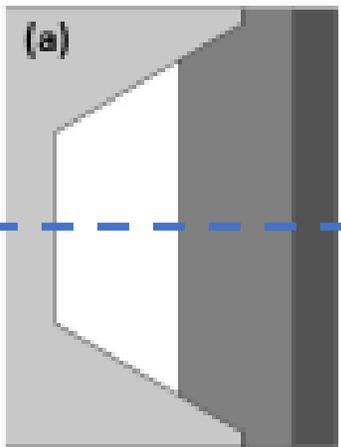
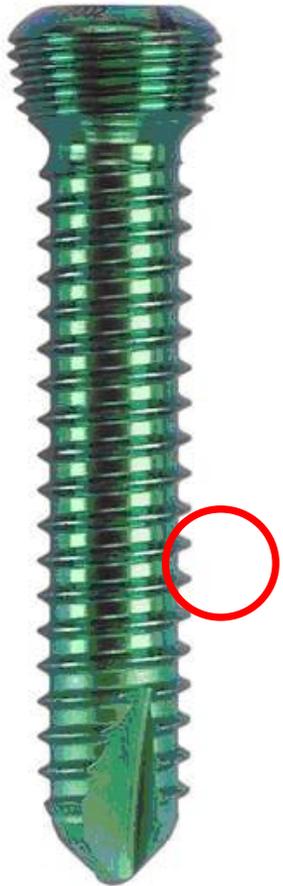
- Ostéoblastes

$$\frac{\partial c_{ob}}{\partial t} = \underbrace{P_{c_{ob}} (1 - \alpha c_{tot}) c_{ob}}_{\text{prolifération}} + \underbrace{F_{c_{ob}} (1 - \alpha c_{ob}) c_m}_{\text{différenciation}} - \underbrace{d_{c_{ob}} c_{ob}}_{\text{apoptose}}$$

- Os lamellaire

$$\frac{\partial m_l}{\partial t} = \underbrace{Q_l m_w m_l (1 - \kappa m_l)}_{\text{remodelage}}$$

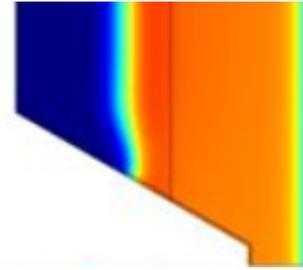
Résultats



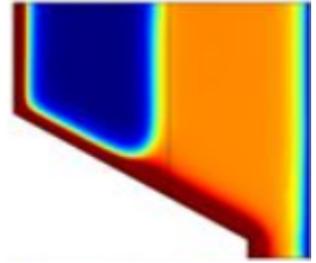
Surface brute

Surface traitée

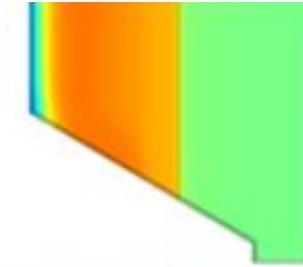
qq jours



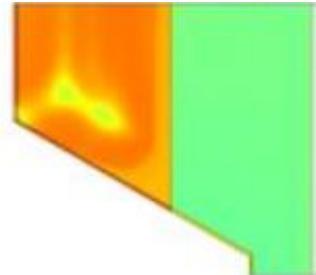
Facteurs
de croissance



3 semaines



Ostéoblastes



13 semaines



Os lamellaire

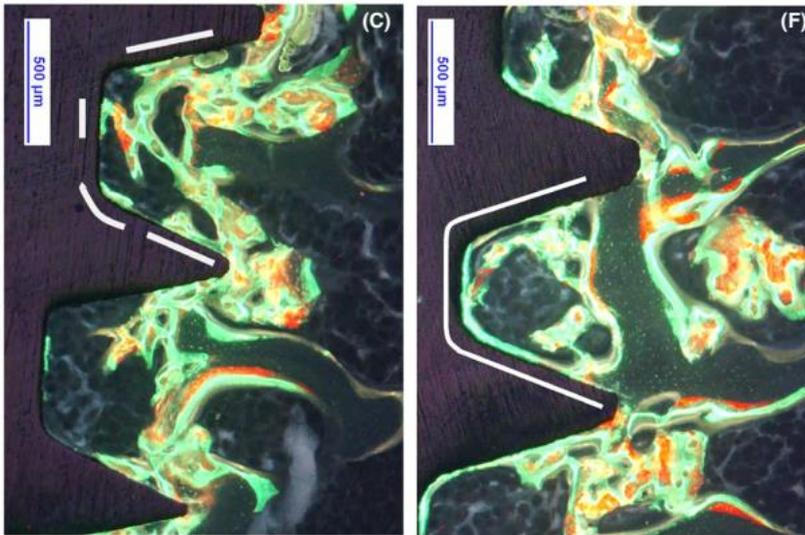


++ Ostéoconduction

Résultats in vivo (NAMSA)

4 semaines

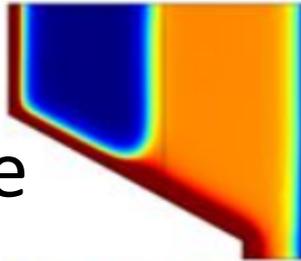
Surface Brute Surface Traitée



Contact os-implant ++

Valident les **prédictions du modèle**
et l'**hypothèse de départ** :

l'adsorption
de facteurs de croissance
sur la surface traitée



Travaux de Modélisation *ostéo-articulaire*

Facteur biomécanique de
l'arthrose de la main

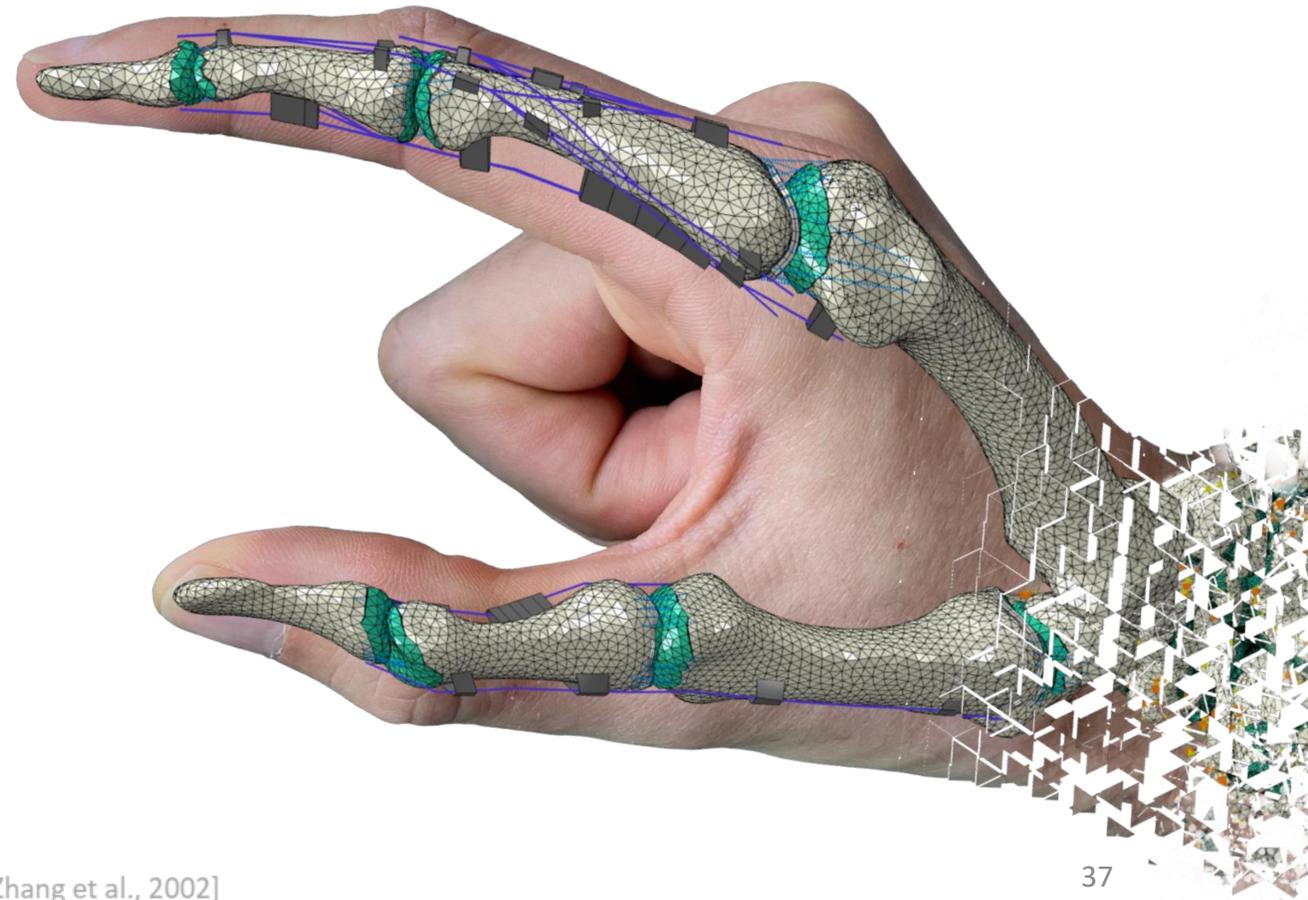
Modélisation biomécanique de la main

Approche musculo-squelettique et ostéo-articulaire



Thèse de Barthélémy Faudot

1^{er} modèle de ce type
appliqué à la main

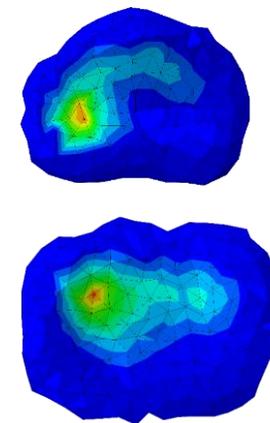
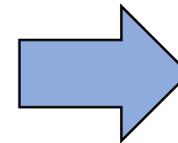
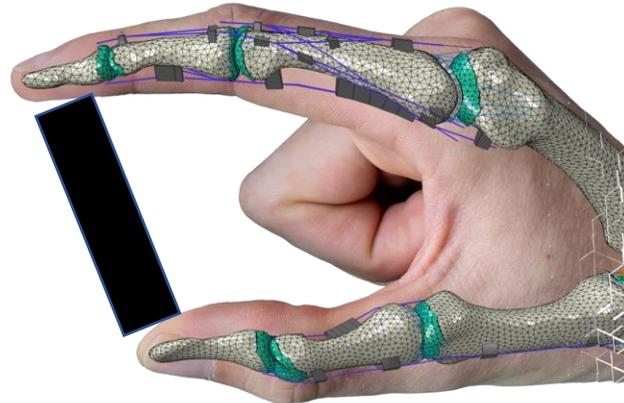
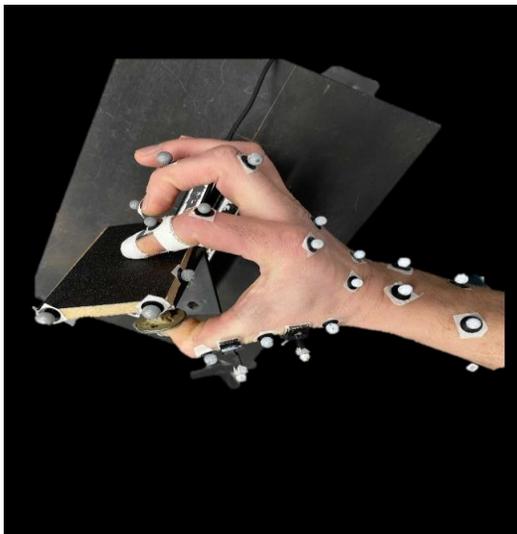


Modélisation sujet & tâche-spécifique

Modèle éléments-finis pouce-index

- basé sur **l'anatomie du sujet** (scanner)
- reproduit une **tache de préhension** force max réalisée par le sujet
 - Chargement : Forces musculaires calculées par dynamique inverse musculo-squelettique
 - Posture : identique à celle du sujet

-> **Estimation des contraintes articulaires associées à la tâche de préhension**



Protocole et Résultats

- Panel : 10 sujets sains
- Tâche de prehension de force maximale

Résultats des simulations

- Tous ont des sur-contraintes à la base du pouce
- Ceux qui ont l'index tendu ont des sur-contraintes en bout de doigt



[Caspi et al., 2001] [Zhang et al., 2002]

Profil professionnel

Management et Responsabilités
scientifiques

CV

Maître de Conférence depuis 2010

- **Faculté des Sciences du Sport, Aix-Marseille Université**
- Institute des Sciences du Mouvement UMR 7287 Aix-Marseille Université & CNRS

Diplômes

- Ingénieur Centrale Marseille (ex ESIM) (2003)
- **Doctorat en Biomécanique (2007)**

Post-doctorats

- 2007-2009 Institute of Bioengineering of Catalunya (IBEC) Barcelona.
- 2009-2010 ISM, Marseille

- **Attribution PEDR 2020-2024**
- 2019-21 **Accueil en Délégation CNRS ISM**

Profil Publiant

18 articles scientifiques indexés

6 en 1^{er} auteur

282 citations

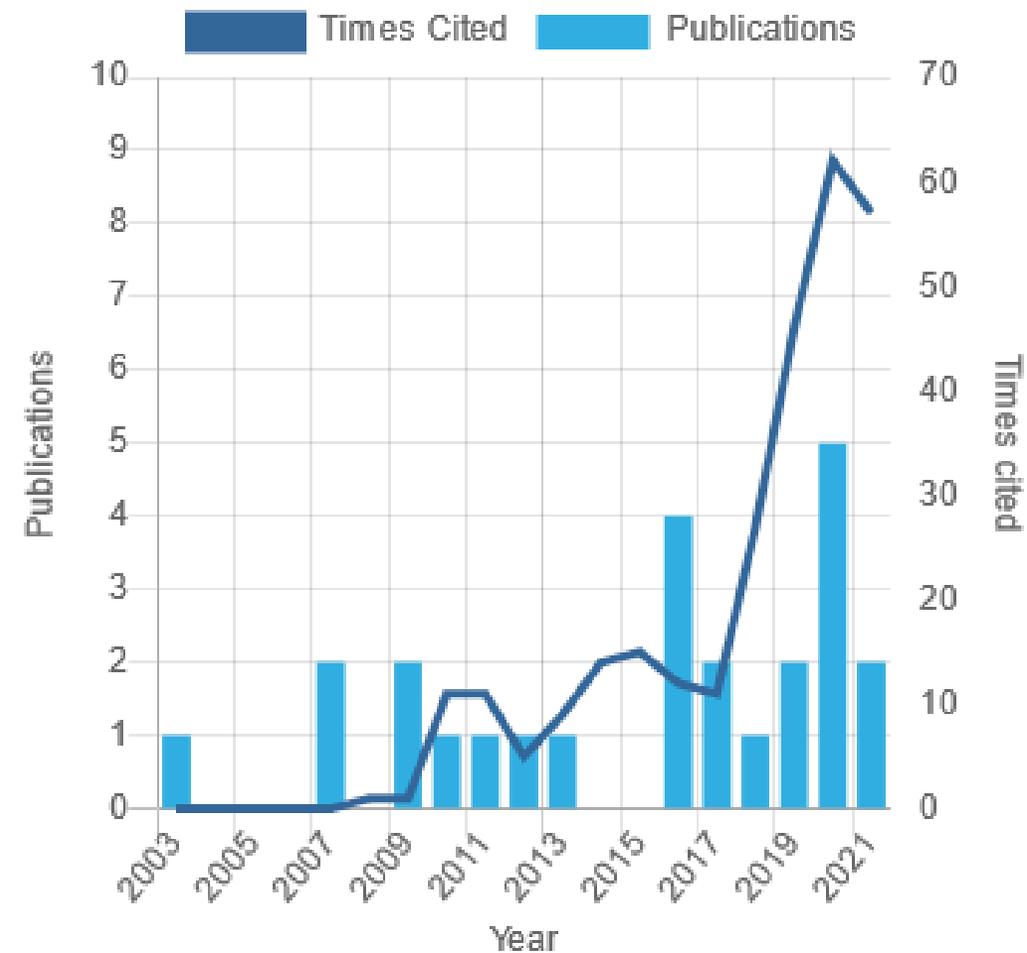
H index (Scopus) = **8**

- 70 % des articles dans revues Q1

- IF = 11.880 Nature Communication [Q1]

- IF = 10.273 Biomaterials [Q1]

- 40 % des articles s'appuient sur des collaborations internationales.



Financement des recherches (AAP ou Contrats)

AAPs Publics

- **ANR AminoCoat** 2021-2024 Responsable WP **65 k€** ; 1 Post-Doc
- **ANR Sinus surf** 2013-2017 Responsable WP **160 k€** ; 1 Post-Doc
- **PEPS INSIS Cells&Nanofibers** 2016 **Porteur** **12 k€**
- **FUI15 Quick Mold** 2013-2017 Responsable WP **166 k€** ; 2 Ingénieurs
(+industriels)

Contrats avec des entreprises

- Entreprise **Sélénium Médical** 2017-2021 **240k€**

Financement des recherches (AAP ou Contrats)

- 2020 Dépôt en tant que **PI** Projet **ERC Consolidator Grant** 2.5 M€
 - Recalé mais **Expérience structurante scientifiquement**
/ enjeux, ambition et exigence
- 2021 Dépôt en tant que **Porteur** Projet **ANR MovingCells** 650 k€
 - Décision finale ?

Encadrement doctoral : 4 Thèses encadrées et soutenues



Claudia Chan Yone. 2009 - 2012 *Modélisation du remodelage osseux*

- Thèse ENS, Prof. Agrégée



Ian Manificier 2013 - 2016 *Modélisation cellulaire*

- Post-Docs : Colorado Univ. USA + TIMC-IMAG Grenoble + ISM (2021-2022)



Barthélémy Faudot 2017-2021 *Modélisation biomécanique de la main*

- -> recruté par New Clip Technics



Nicolas Rousseau 2017 - 2021 *Modélisation de l'ostéointégration*

- -> recruté par Abys Medical

Encadrement Post-doctorants / Ingénieurs



Maxime Vassaux 2015-2017 Post-doctorat ANR Sinus Surf

-> Post-Doc : Univ College London (4ans) + ARC Fondation Fellowship
CNRS Rennes (mars 2021)



Yassine Saadlaoui 2014-2015 Ingénieur d'Etudes FUI QuickMold

-> Maitre de Conférence depuis 2020 aux Mines de St-Etienne



Djamel Remache 2015-2017 Ingénieur de Rech. FUI QuickMold

-> Post-Docs : ENIT Tarbes 2018-19 + Univ Toulouse 2020-2021

Projets en Enseignement

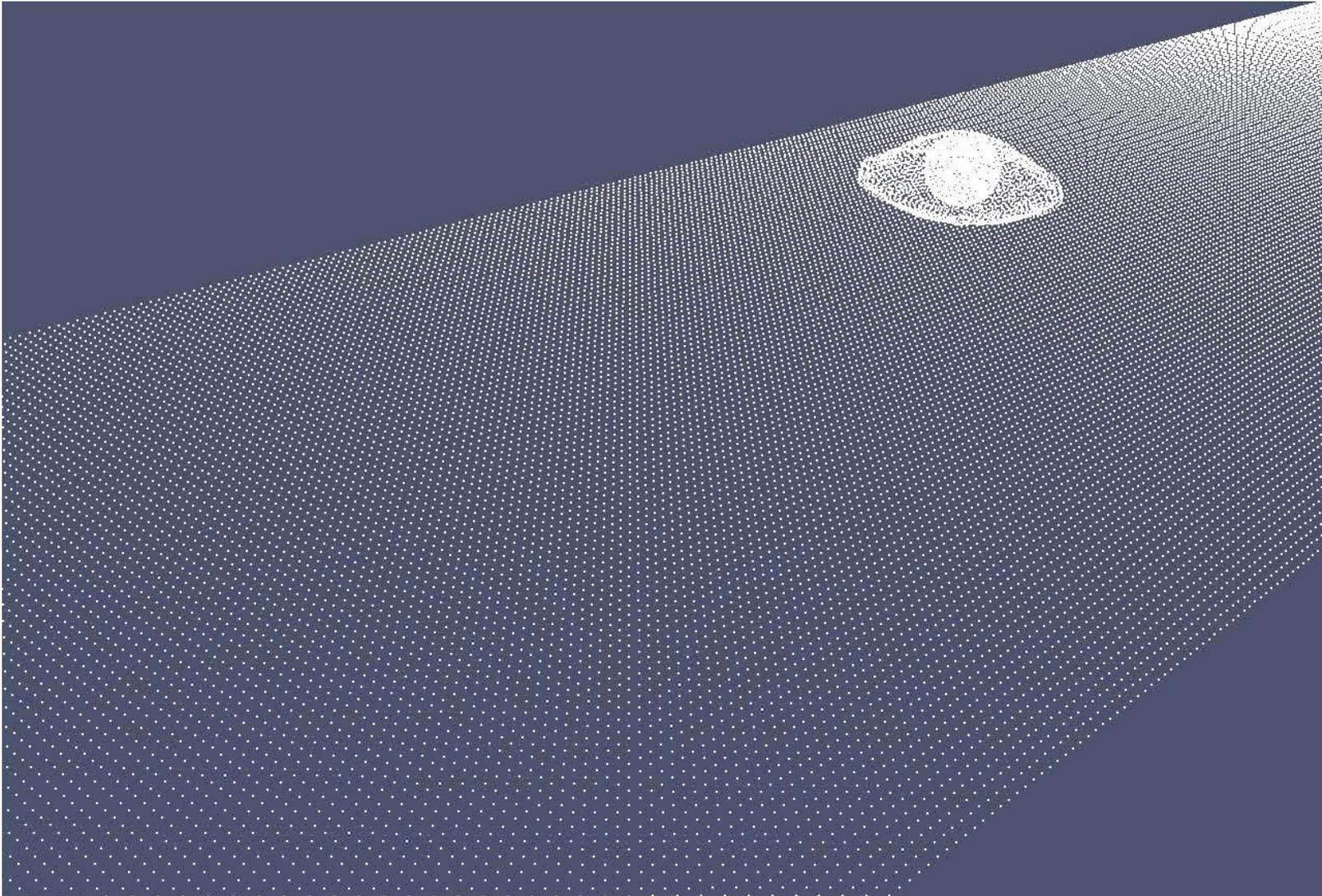
- Enseignement en Biomécanique, Mécanobiologie, Modélisation Numérique
- Responsable du champ « Biomécanique » de 2012 à 2020
3 années de Licence - Faculté Sciences du Sport UFR STAPS Marseille.
- Coanimation du **Master BTI « Bioingénierie des Tissus et des Implants »**.
- **Direction du Master BTI** (Resp. actuel : Patrick Chabrand) STAPS & ED SMH
- **Profil Sections CNU 74 & 60**

Projet de recherche

Expérimenter *in silico*
la réponse cellulaire face à des
topographies dynamiques

- L'idée est ici de renverser les choses
- Utiliser la **modélisation numérique en amont** de l'in vitro.
- Ne pas se limiter à des substrats dynamiques qui sont aujourd'hui techniquement faisables

1) Guider la migration cellulaire par
Curvotaxis dynamique -> **générer des vagues**

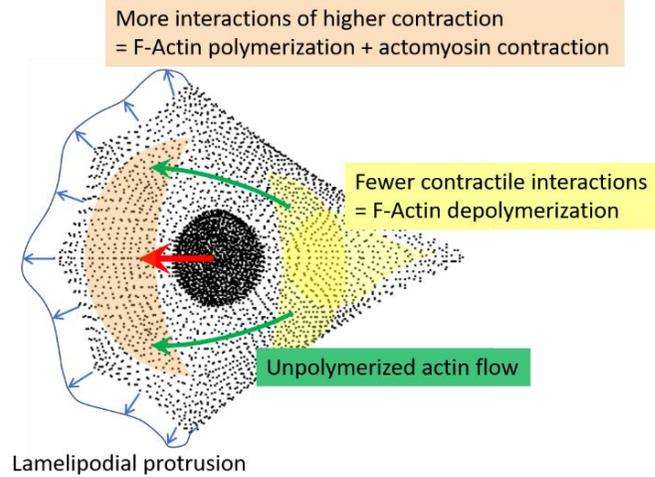
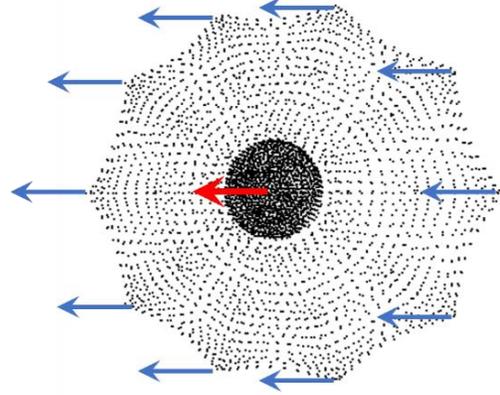


Développements du modèle envisagés

a) Modéliser la polarisation et la dynamique du CSQ

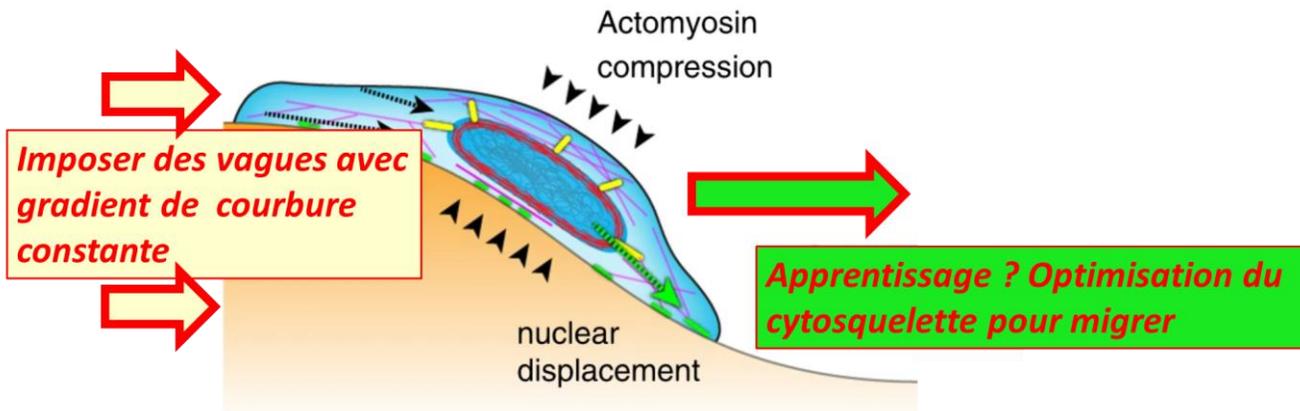
Current Cell Model

Cell motion guided only by internal motion of nucleus due to substrate curvature gradient

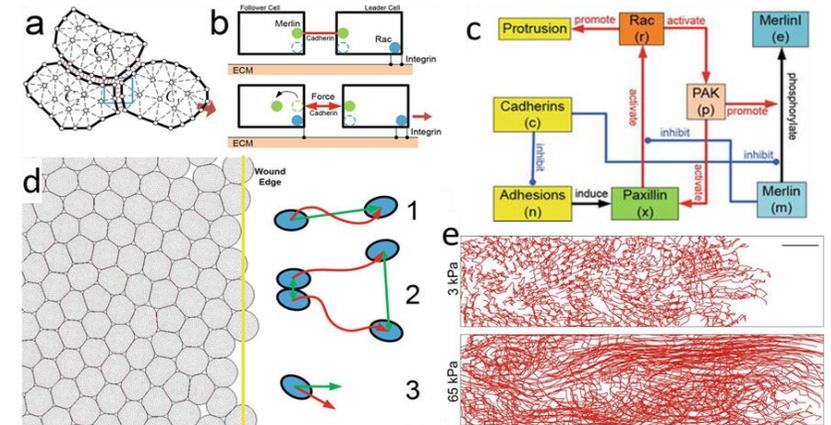


ANR AMINOCOAT 2021-24

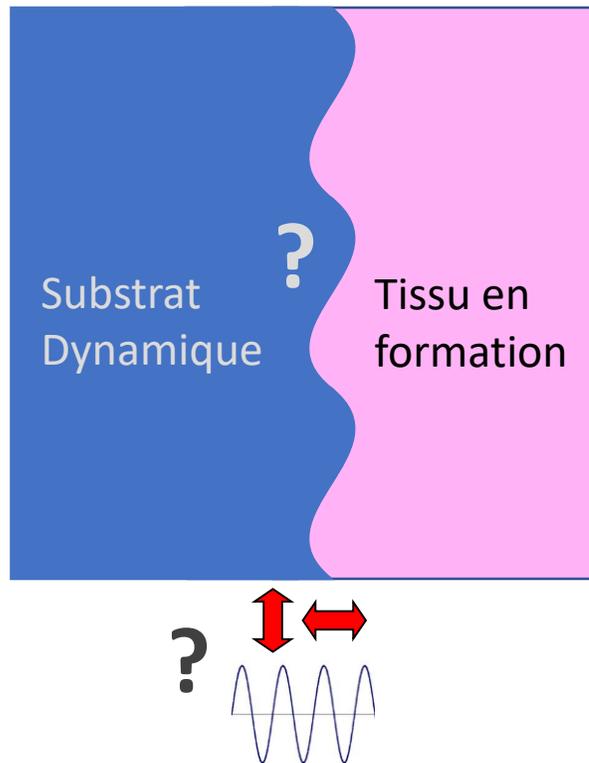
b) Polarisation et apprentissage cellulaire



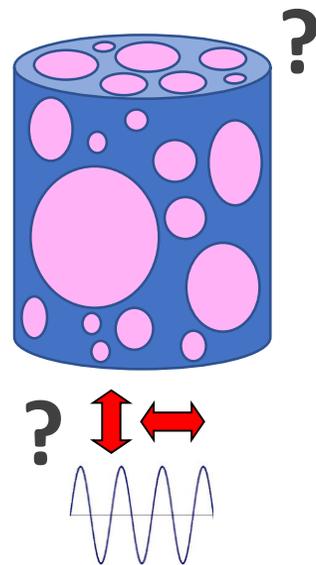
c) Migration cellulaire collective



2) Optimisation mécanobiologique de substrats dynamiques pour l'ingénierie tissulaire

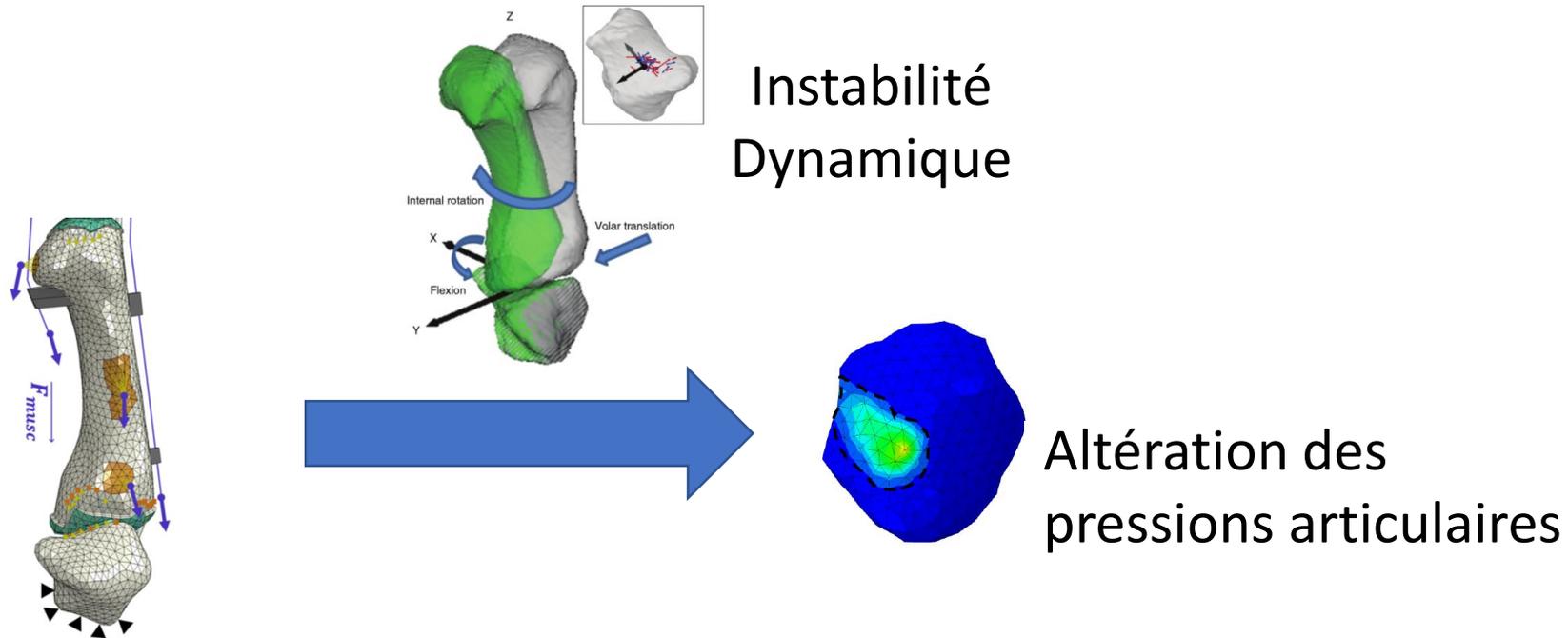


Substrat
Dynamique 3D



- Modèles d'optimisation topologique et de chargement mécanique
- Modèles de mécanorégulation de la formation tissulaire
- **L'idée est de combiner les 2**
-> calculer la microarchitecture optimale et son excitation mécanique pour guider dans le temps la reformation tissulaire

3) L'instabilité ligamentaire comme facteur dynamique de l'arthrose de la main



Thèse
Thomas Valério
en co-direction

- Utilisation du modèle hybride de la main
- Couplé à un modèle de cartilage mécanobiologique & pathologique

Conclusion

Conclusion

- Modélisations cellulaire / tissulaire / ostéo-articulaire
- Pas 1 approche multi-échelles mais des approches à différentes échelles
 - Lien évidents entre les approches
- Recherche à la fois fondamentale et appliquée.
- S'inscrit dans les thématiques de l'équipe, du laboratoire et du Master BTI, tournés vers le monde clinique et la santé...
 - qui Nourrit et Oriente mes recherches
avec la perspective même lointaine, d'un bénéfice pour le patient.

DOI [10.5281/zenodo.1187087](https://doi.org/10.5281/zenodo.1187087)

A mechanical model of a single adherent Mesenchymal Stem Cell based on the tensegrity theory. The cell, its constituents (nucleus, cytoskeleton, cytosol, and membrane) are described as particles interacting by means of contact, cable or spring. Adhesion is performed in two steps (phases):

1. the cell is generated in an elliptical configuration and spread onto the substrate
2. the cell is left in place for a sufficiently long to stabilise

Calibration and checking against experiments has been featured in the following publication:

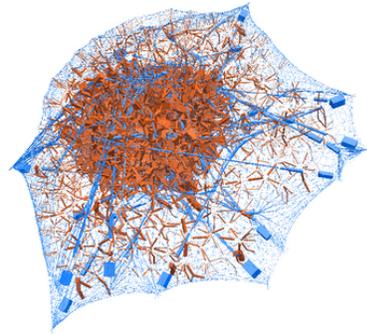
Maxime Vassaux and Jean-Louis Milan. *Stem cell mechanical behaviour modelling: substrate's curvature influence during adhesion*. Biomechanics and modeling in mechanobiology, 16 (2017): 1295-1308.

In case of using the model, please cite the above publication.

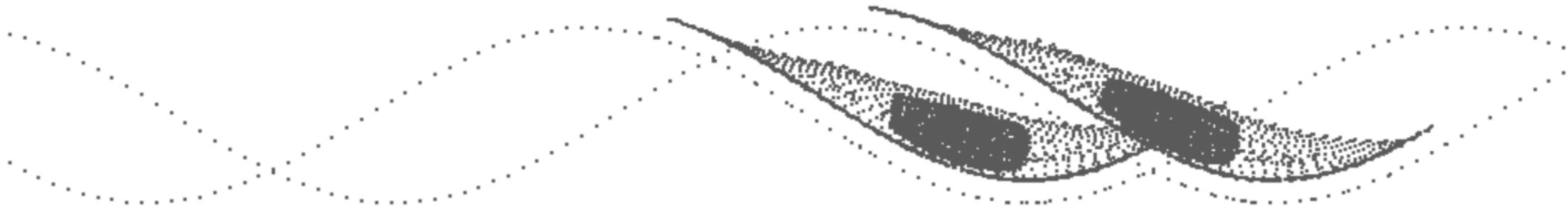
The model is built and simulated using the [LMGC90](#) software written in Python. Additional scripts are provided to manage the workflow.

Execution of the model

Beforehand, LMG90 must be installed on the machine following these [instructions](#).



Merci



- Mes axes et projets ont une hierarchie :
 - 1) Mecabio cell
 - 2) Mecabio tissu
 - 3) Bioméca osteo articulaire

Cette hierarchie est à la mesure de ma contribution scientifique au sens de l'investigation,

J'ai ainsi apporté une idée originale en mecabio cell. J'ai créé qq chose

En mecabio tissu, j'ai plus fait une implementation de ce qui existe dans un domaine nouveau.

Et en bioméca, je contribue, j'aide mais je ne suis pas à l'origine

À réécrire de manière positive !

- Dire que le modèle cellulaire est suffisamment mature pour lancer le développement de prototypes de substrats dynamiques et des expérimentations in vitro à partir des simulations
- Insister sur le multi échelle
 - Pas de modèle multi-échelle mais des approches à différentes échelles



Introduction

Digital twin
of the hand

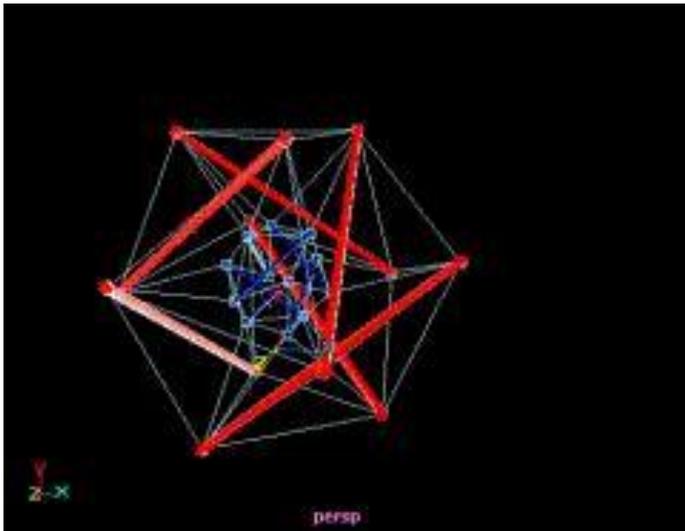
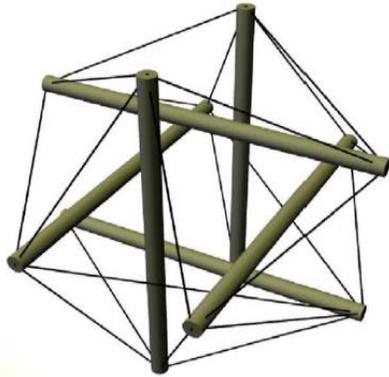
**Clarification of
mechanical risk
factors**

Virtual surgeries

General discussion



Etat de l'art : Modèles de tensegrité



Structure de tensegrité à 30 éléments (6 barres – 24 câbles)

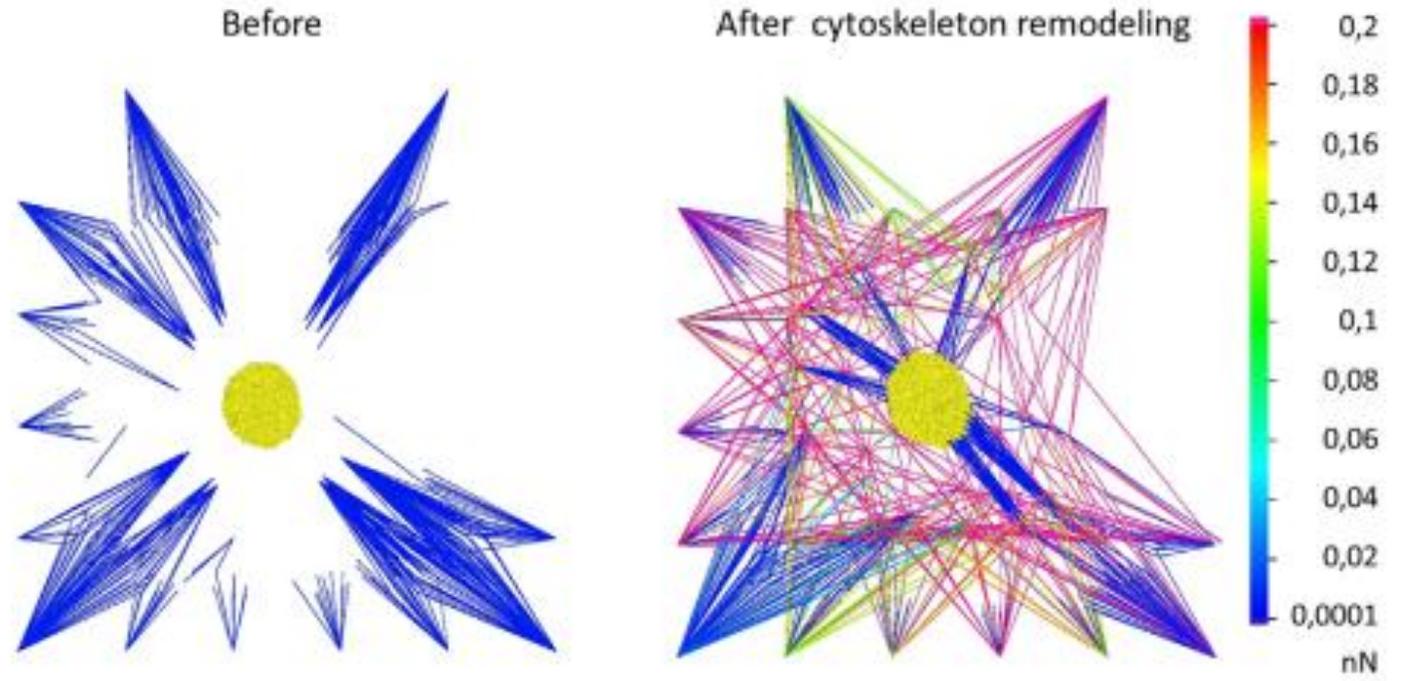
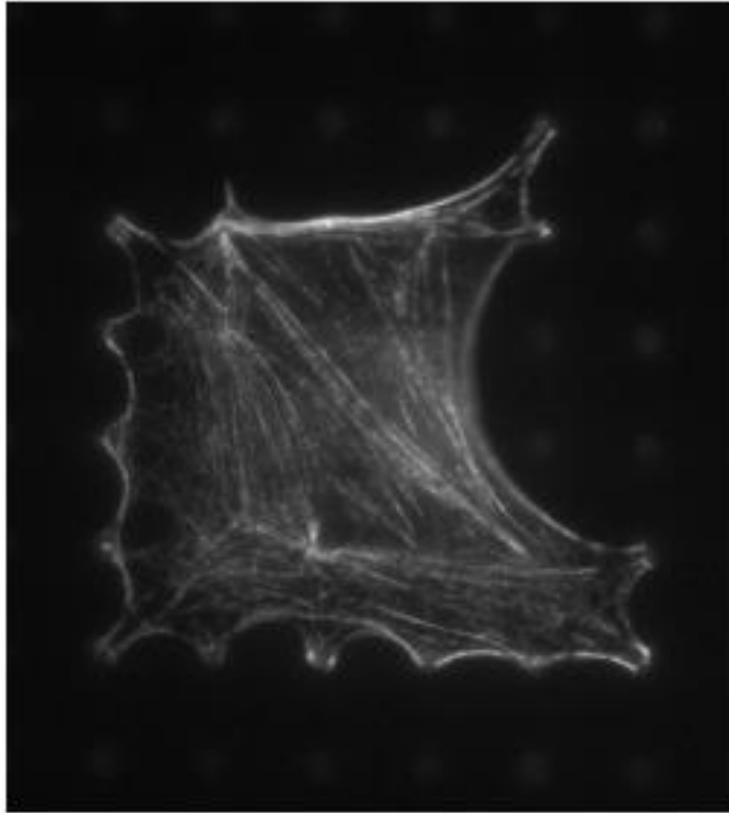
Ingber1997 Stamenovic 2002

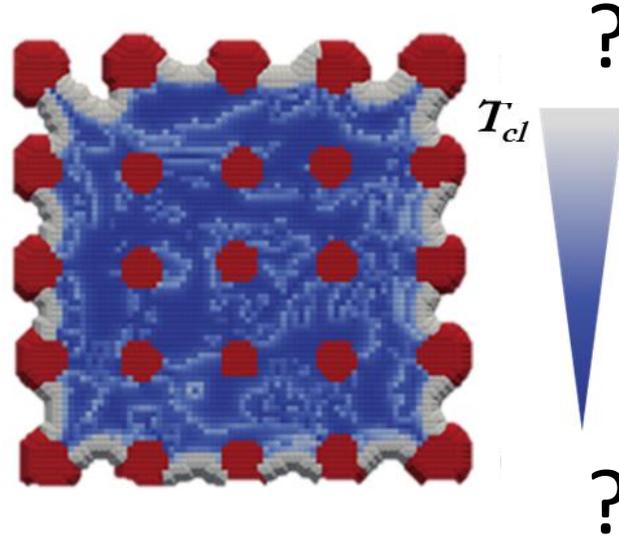
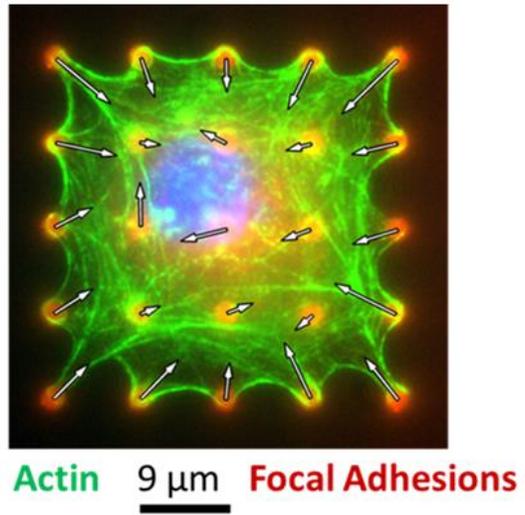
- **Comportement contractile de la cellule**
- **Morphologie cellulaire**

Résulte de l'équilibre de forces internes (tension/compression)

- **Etat précontraint**
-> **Intégrité structurale de la cellule**

- **Décrit**
 - **structure discrete du CSK**
 - **réorganisation spatiale lors d'un chargement**





How to estimate tension within a stress fiber ?

1 Measurement line

$D = 1.58 \mu\text{m}$

2 Gray values along the measurement line

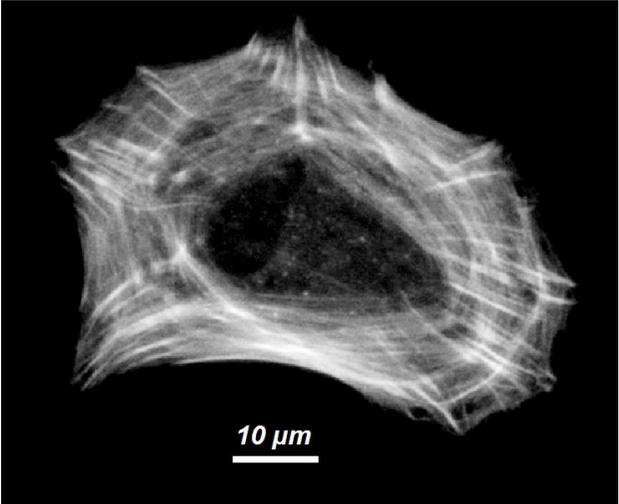
$A = \frac{f(a)}{d}$
in nN/ μm

$T_{\perp D} = A \cdot D \cdot \bar{c}$

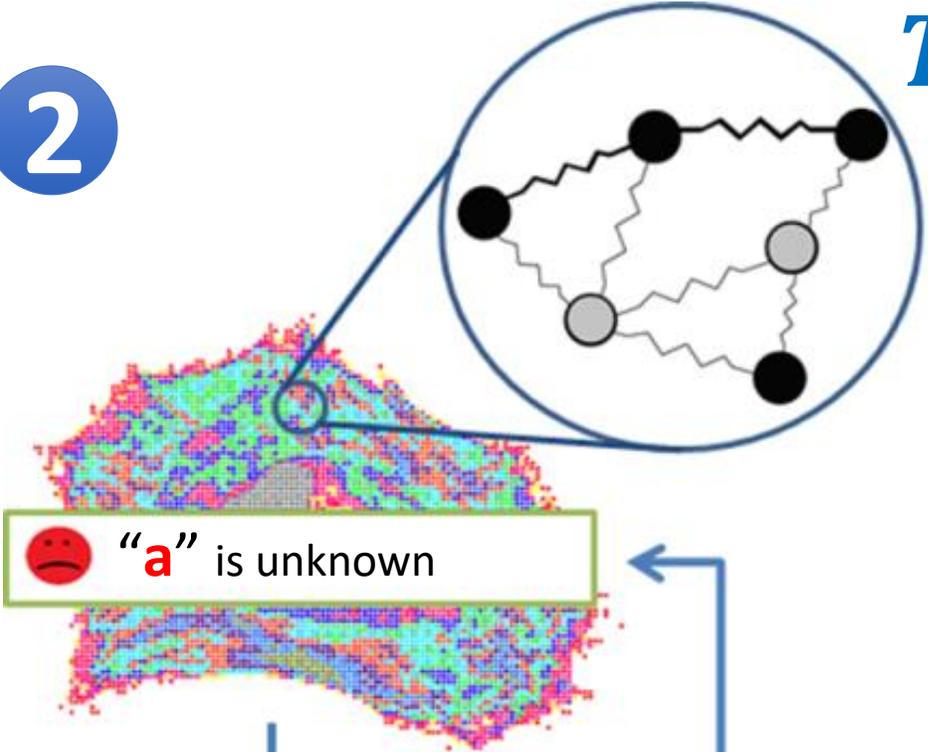
[0,1]

3) Implémentation du modèle - algorithme de dynamique inverse basé sur les forces de traction réelle exercées par la cellule observée in silico et sur la reconstruction de son cytosquelette

1 Image of the actin network obtained via fluorescence microscopy



2



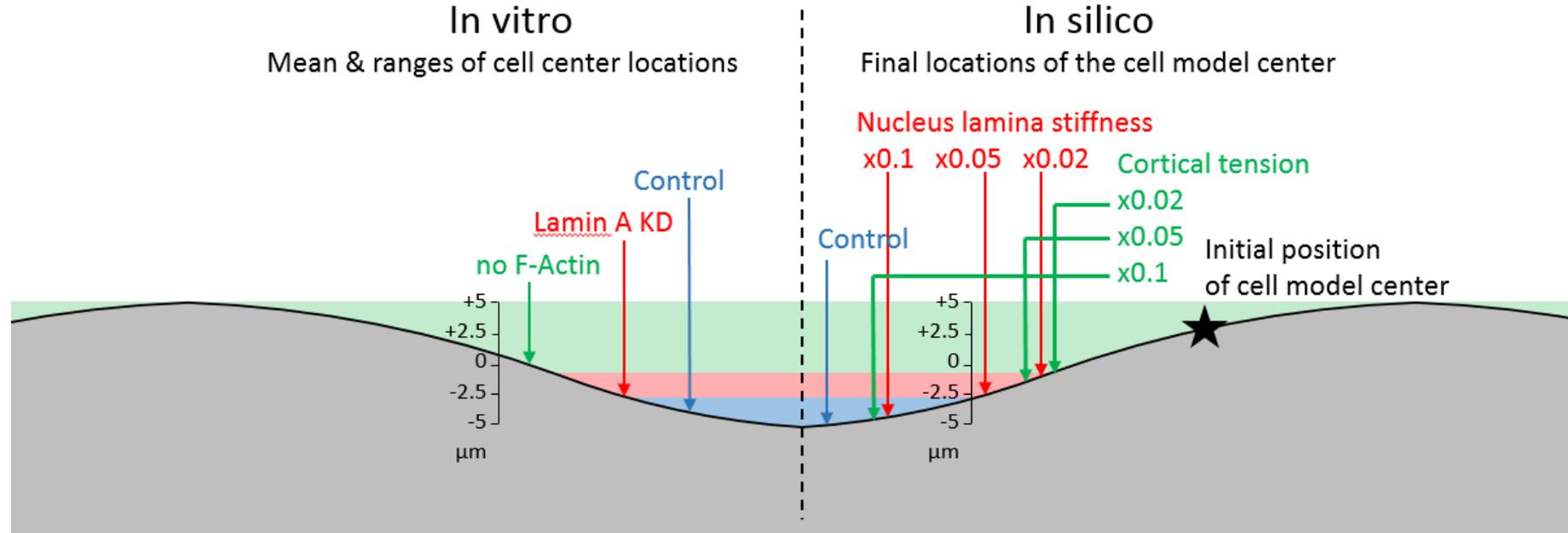
$$T = a \cdot c \cdot \epsilon$$

c = gray value [0,1]

ϵ = 20 % of pre-strain
(Deguchi et al., 2006)

La curvotaxie nécessite l'intégrité structurale et mécanique du cytosquelette et du noyau

- Correspondance des résultats in vitro et in silico



Discussion

- **Notre étude in silico & in vitro nous permet de proposer un mécanisme simple expliquant comment la mécanique intracellulaire permet aux cellules de réagir à la courbure du substrat, d'induire une polarisation cellulaire et de guider, par la topographie, la migration des cellules qui est normalement beaucoup plus aléatoire [Vassaux2019].**

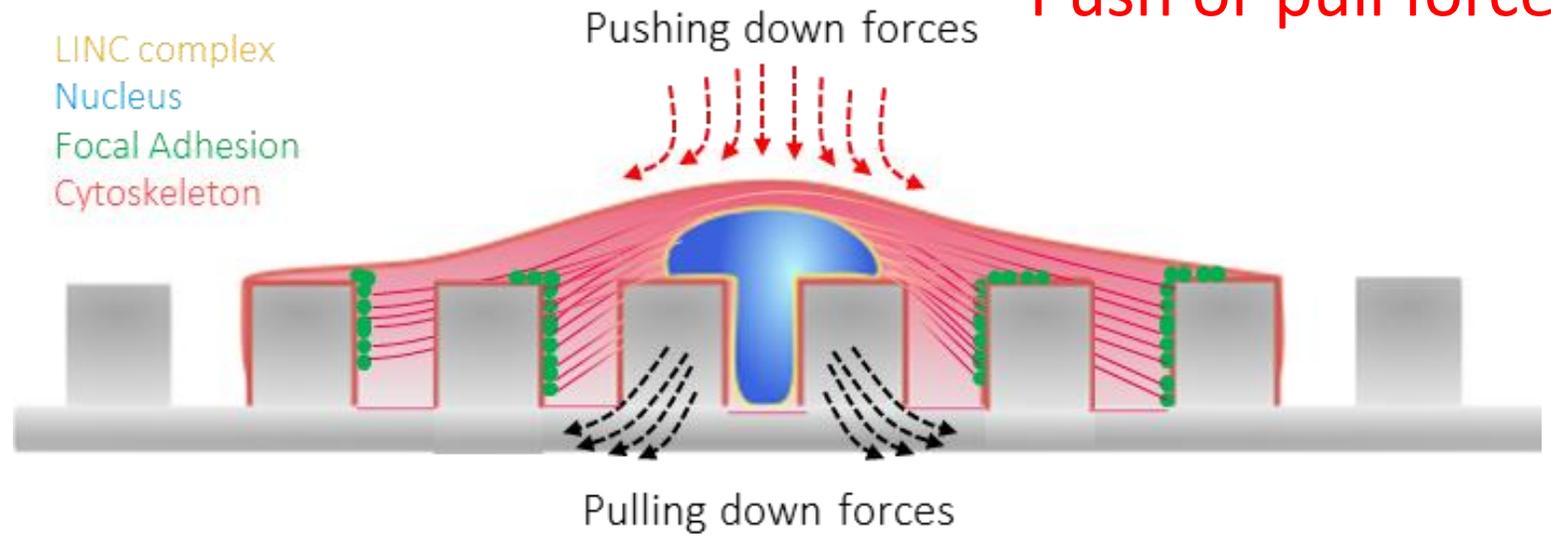
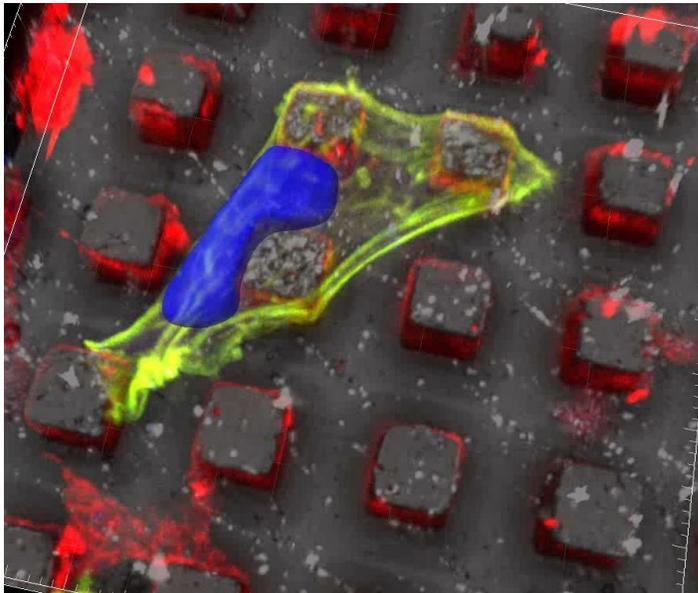
Mécanismes des cellules cancéreuses pour migrer à travers les espaces confinés

- Cellules cancéreuses et leur noyau -> très déformables
- Pénétration et invasion des tissu plus faciles
- Mécanisme actif impliquant le cytosquelette ?

Connections avec le noyau (LINC) ?

- Etudes in vitro sur substrats « créneaux »

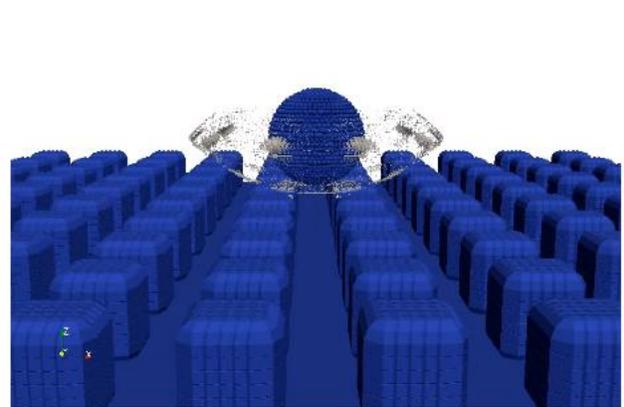
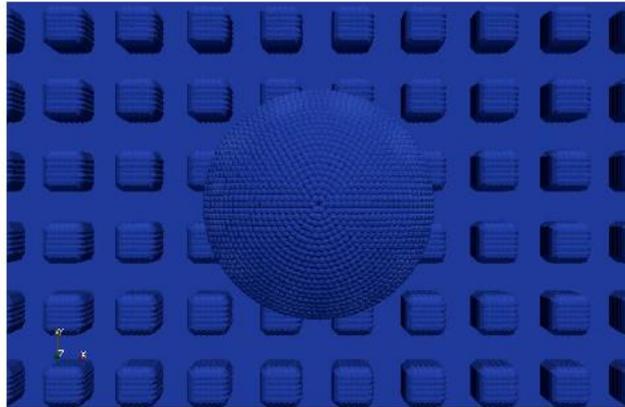
how nucleus deform?
Push or pull forces



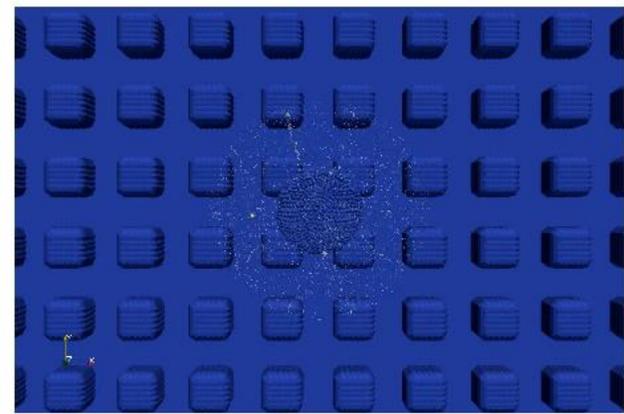
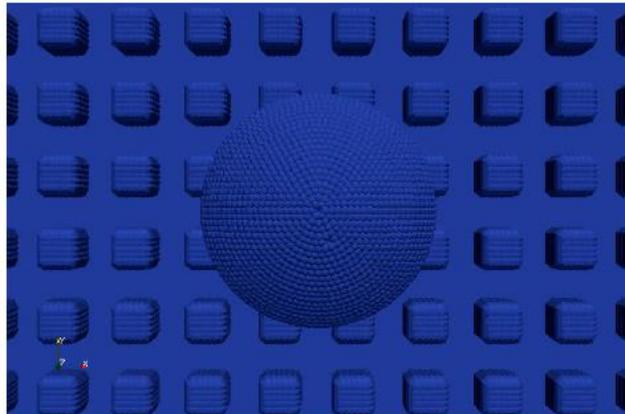
Simulations in silico

Pushing forces only

Without LINC



inhibition de la nesprine avec un domaine KASH negatif) -> annule la déformation du noyau



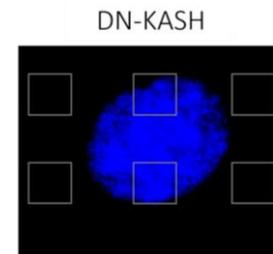
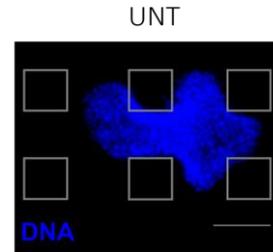
With LINC

Pushing & Pulling forces

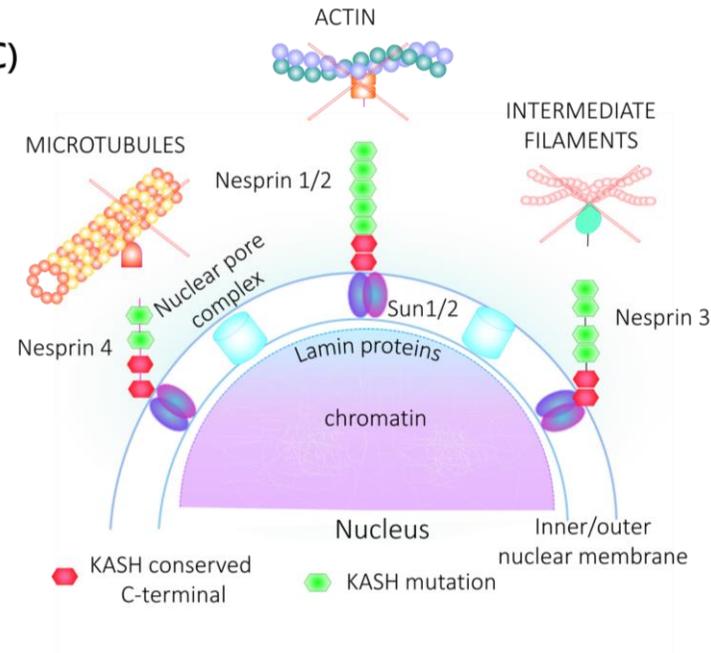
-> **Pull Forces !** La Traction du CSK est prépondérante

Experiences in vitro

(A)

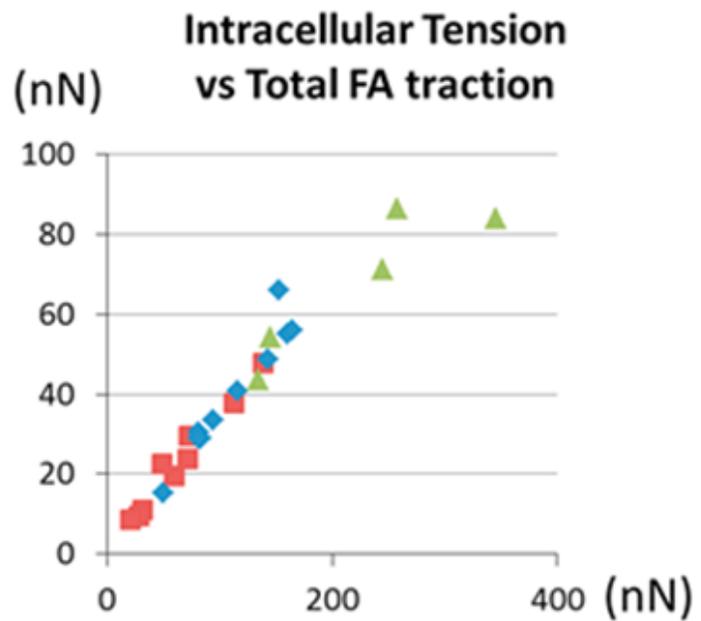


(C)

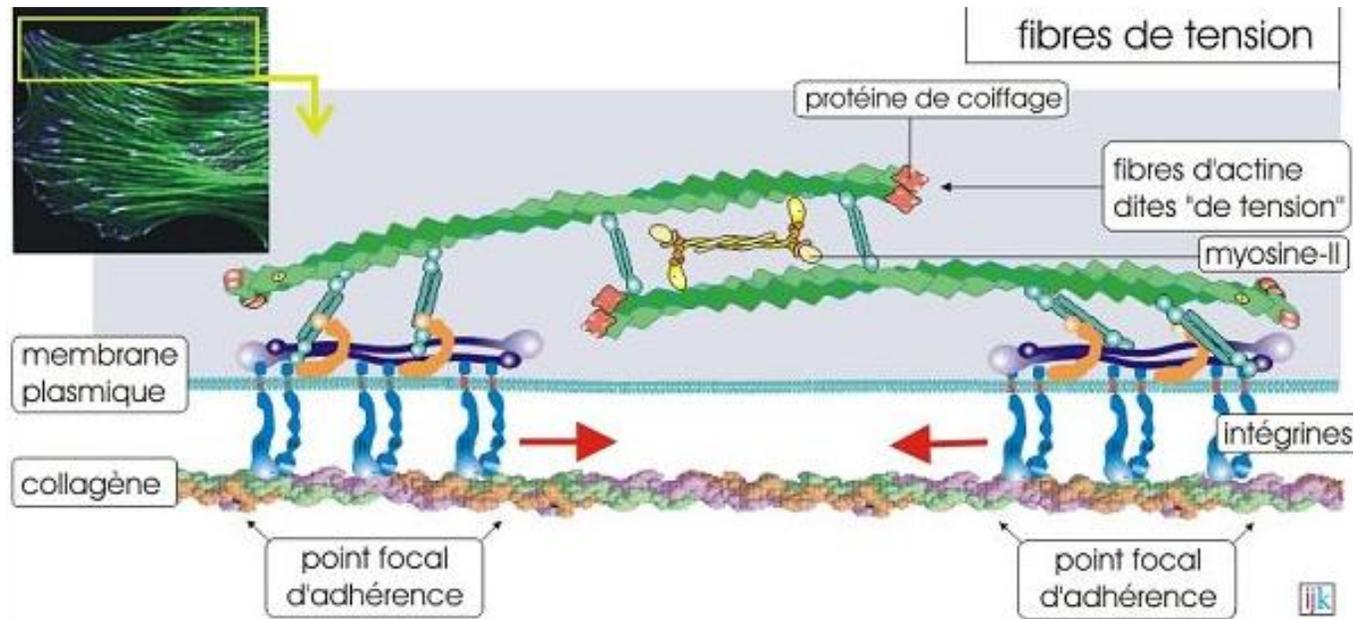


Wakhloo & K. Anselme
(IS2M Mulhouse)

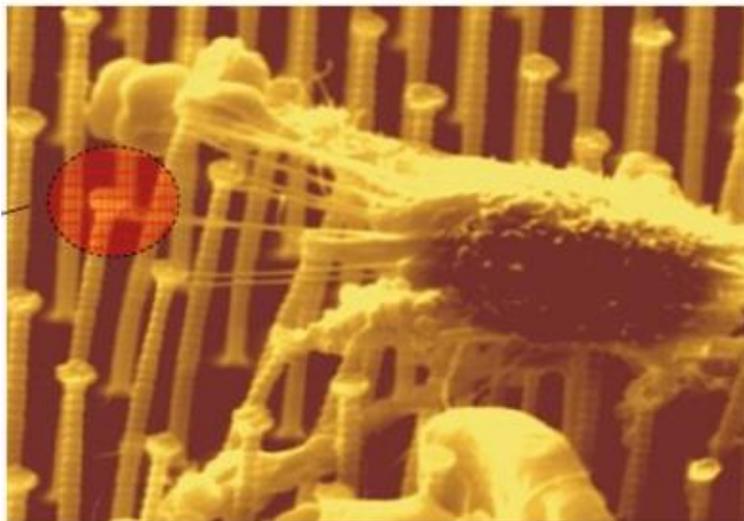
- inhibition de la nesprine avec un domaine KASH négatif) -> annule la déformation du noyau
- Piste de traitement pour limiter l'invasion des cellules cancéreuses
- Modèle in silico = preuve de concept mécanique



Cytosquelette et contractilité cellulaire

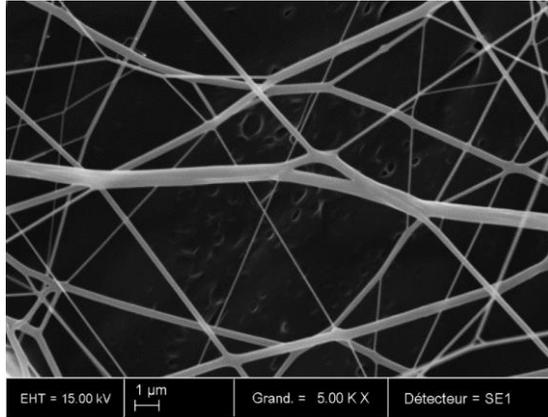


Force de traction
générée par myosine sur
les filaments d'actine



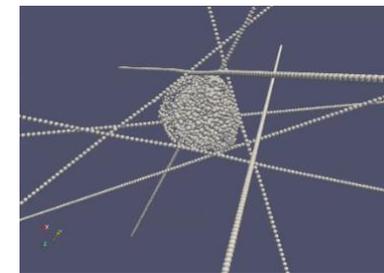
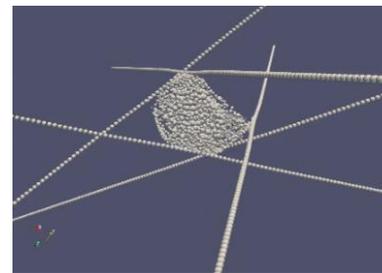
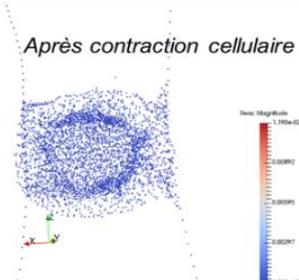
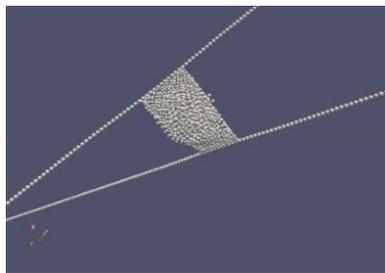
Ces forces de traction améliore l'accrochage
de la cellule à la matrice

Influence de la rigidité dans substrat 3D



PEPS INSIS-2016 Cells&Nanofibers.

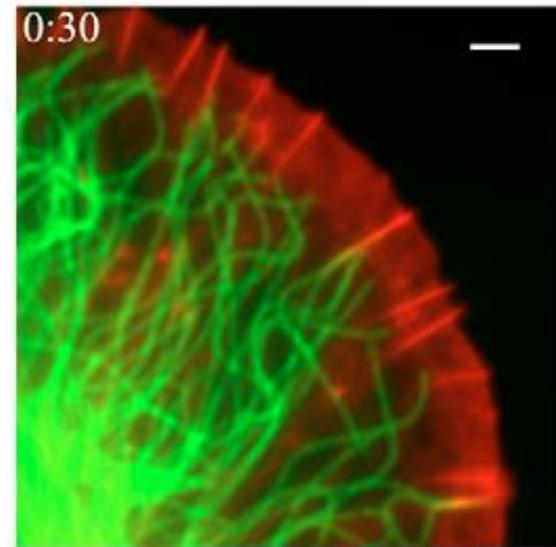
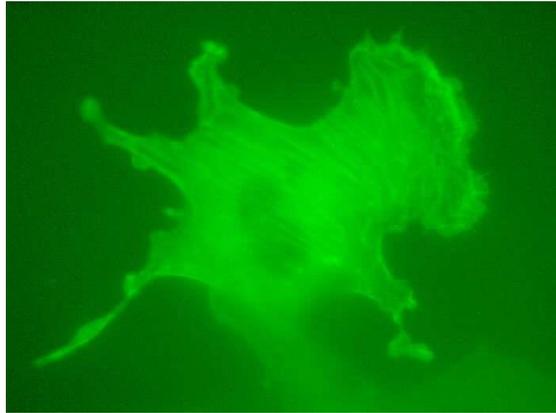
- LBTI Lyon (R. Debret ; J. Sohier)
- LMGC Montpellier (P. Canadas)
- ISM Marseille



Fibres stiff : $K=50\mu\text{N}/\mu\text{m}$
 Fibres soft : $K=5\mu\text{N}/\mu\text{m}$

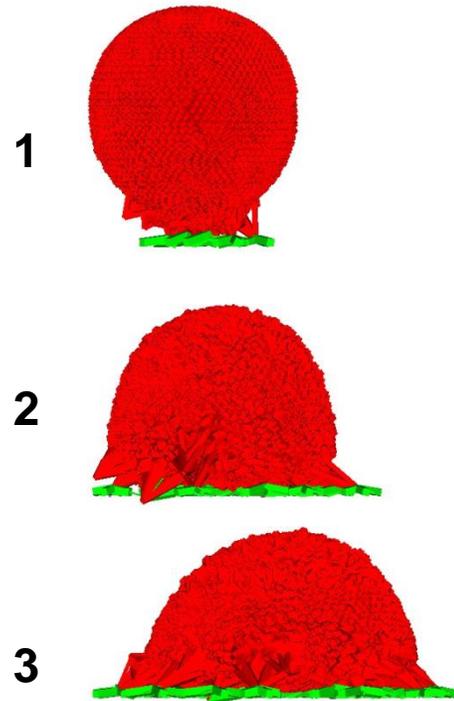
Nbr fibres	2		5		8	
Rigidité fibres	soft	stiff	soft	stiff	Soft	stiff
Tonus	4nN	18nN	5nN	25nN	7nN	45nN

1) Algorithme d'étalement par émission de filopodes

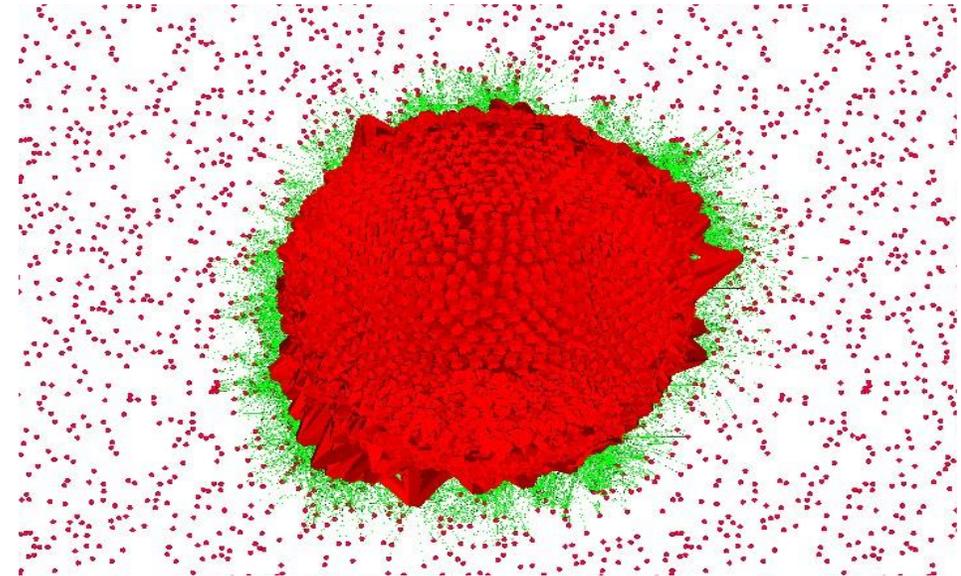


Collab. *P.Layrolle, LIOAD-LPRO Inserm Nantes*

Adhésion Modèle cellulaire 3D



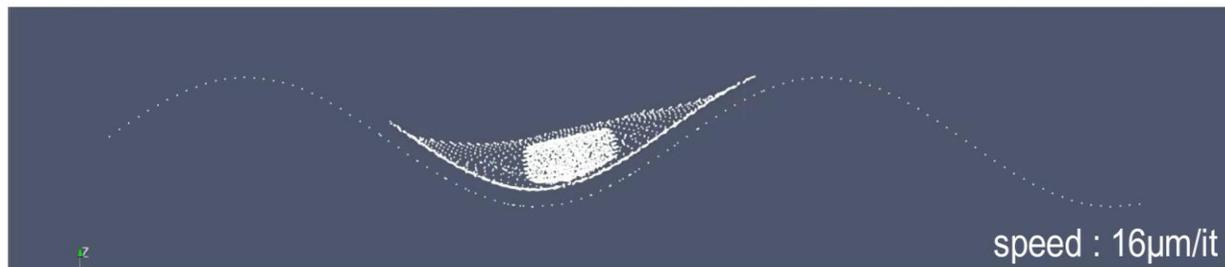
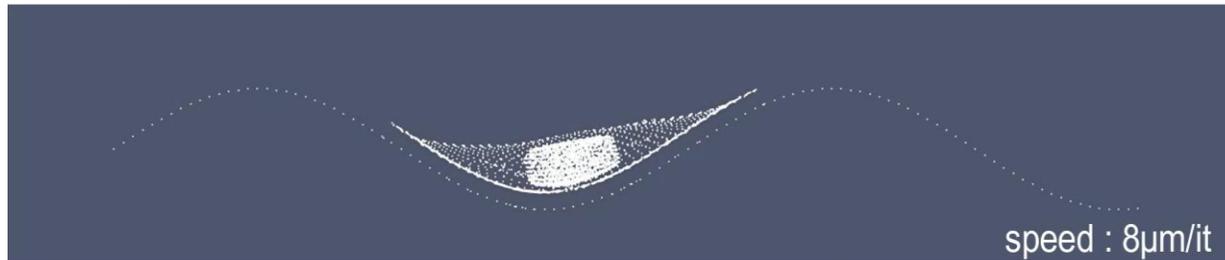
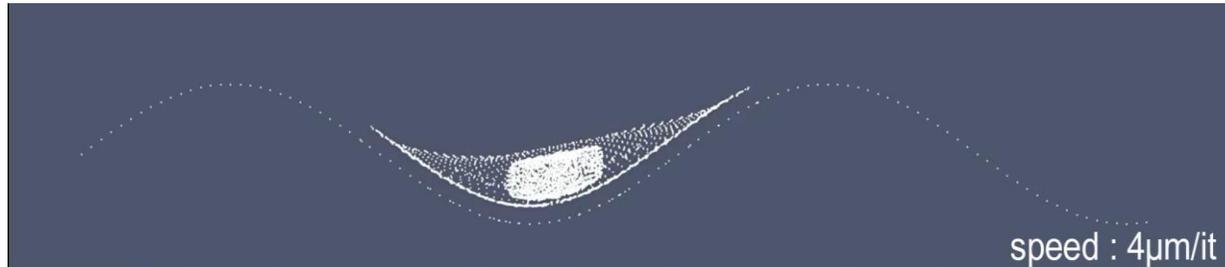
4

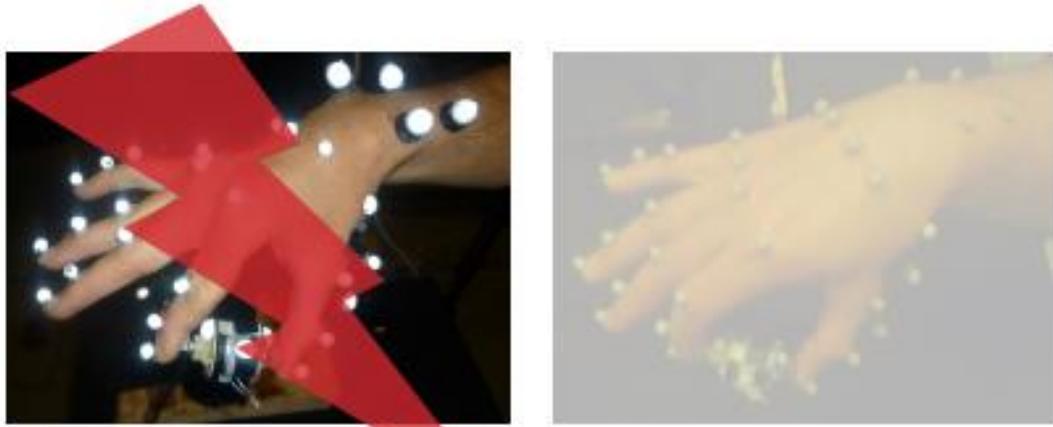


1) Des vagues pour guider la migration cellulaire

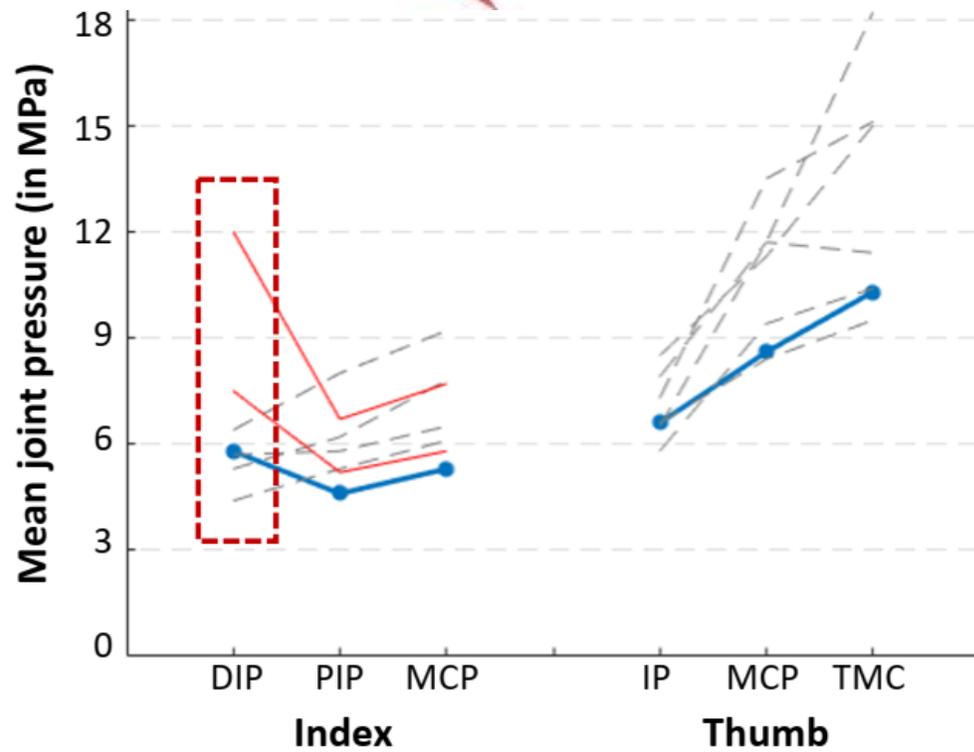
-> Curvotaxis dynamique

Collaboration IS2M Mulhouse





[Caspi et al., 2001] [Zhang et al., 2002]



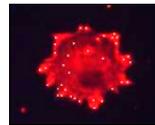
Implémentation 1. Estimer les efforts sur le noyau au sein de cellules in vitro. Effet de la forme cellulaire

Experimental study

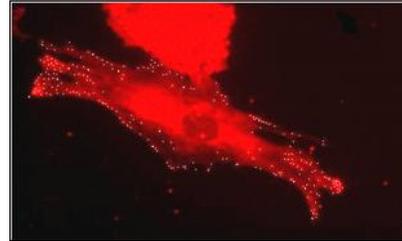
S. Lavenue, P.Layrolle, INSERM Nantes France

Itano2003, Wang2009

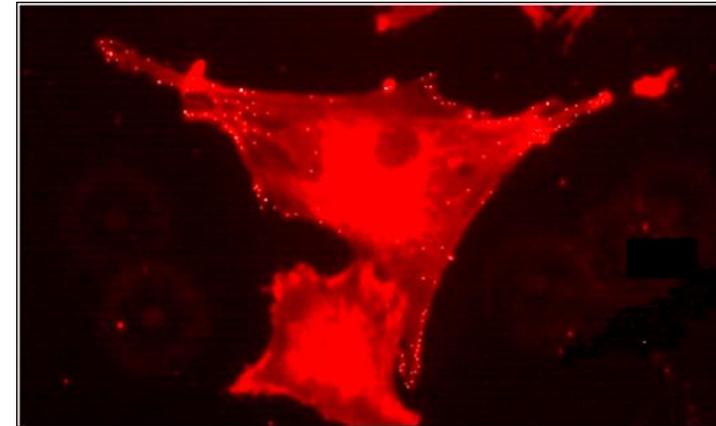
~> adipocyte



~> fibroblast

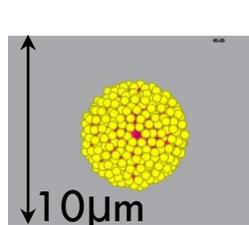
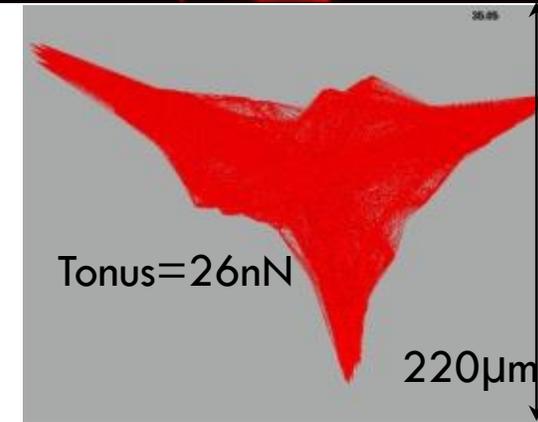
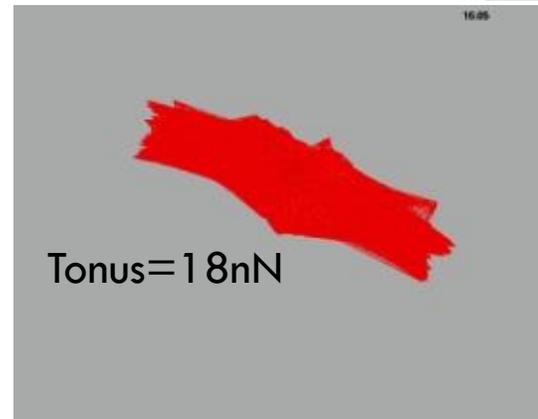
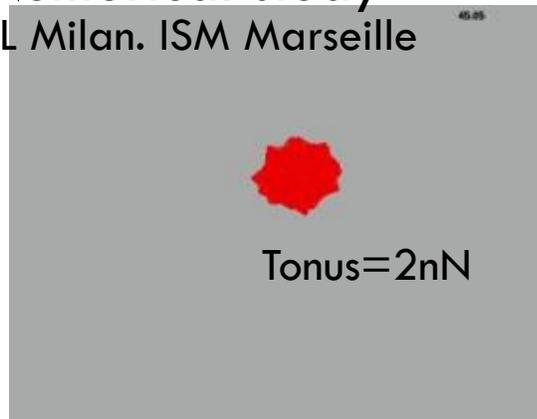


~> osteoblast

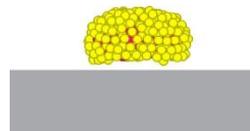


Numerical study

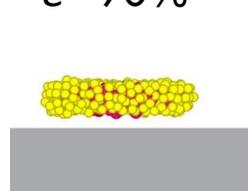
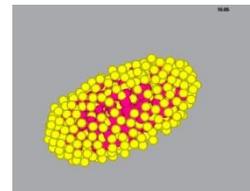
JL Milan. ISM Marseille



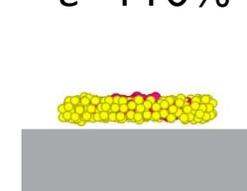
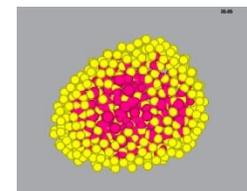
$\epsilon=45\%$

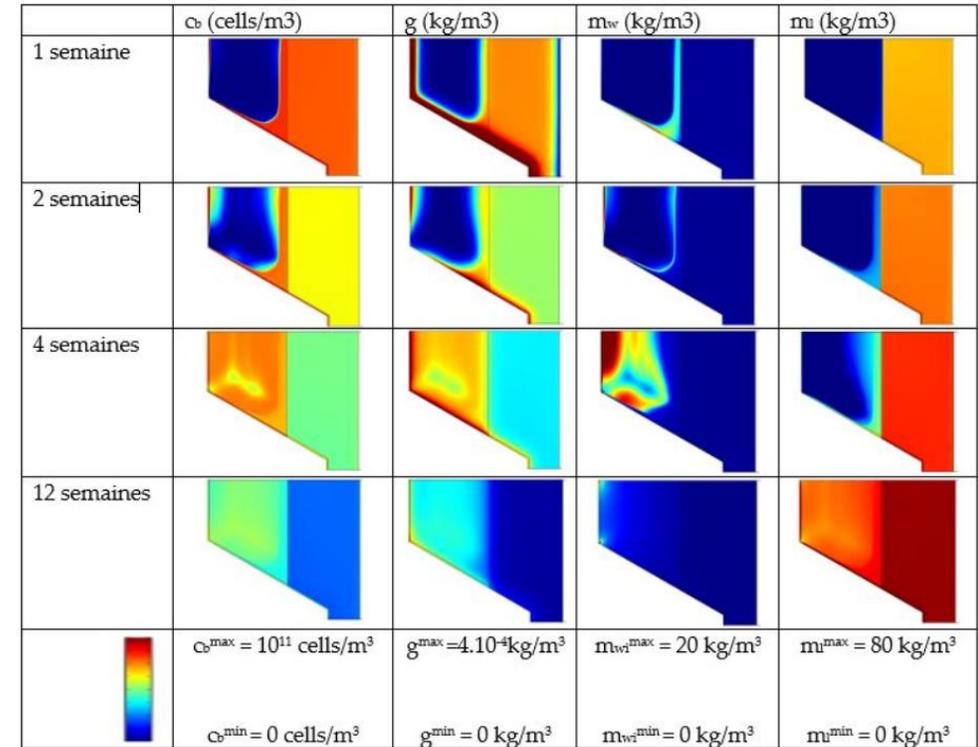
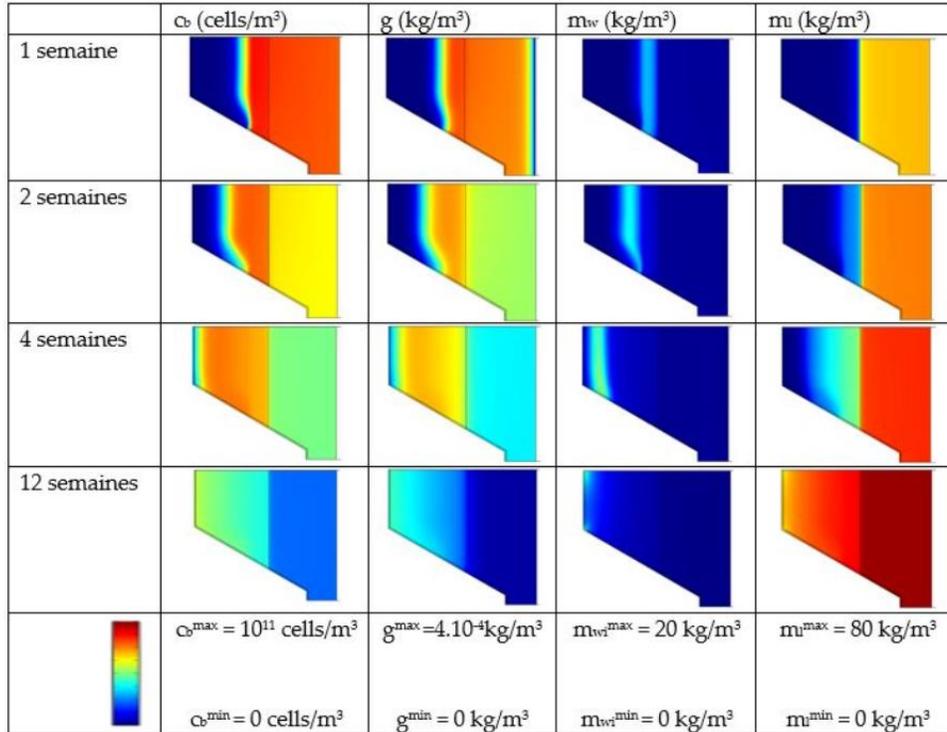


$\epsilon=90\%$



$\epsilon=110\%$

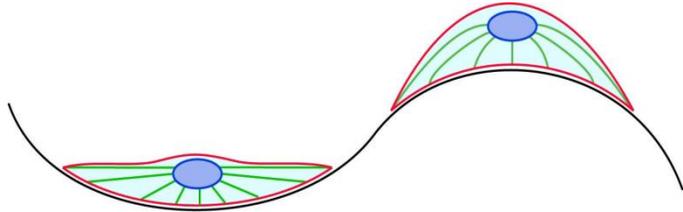




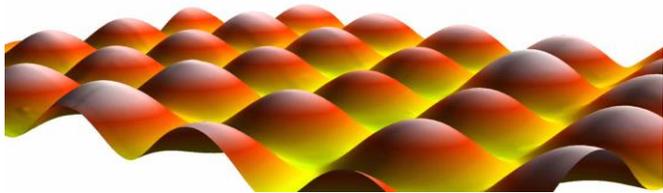
Fonction du modèle	Coefficient de pondération
Taux de prolifération cellulaire ($P_{c_m}, P_{c_{ob}}$)	0,8
Taux de différenciation des ostéoblastes ($F_{c_{ob}}$)	2
Taux d'apoptose des ostéoblastes ($d_{c_{ob}}$)	0,5
Sécrétion d'os tissé (Q_w)	1,2
Production de facteurs de croissance (E_g)	2

Comment les cellules ressentent la courbure du substrat ?

Influence de la convexité / concavité ?

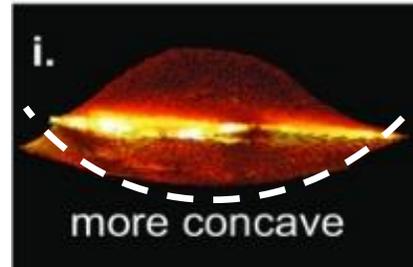


ANR Sinus Surf

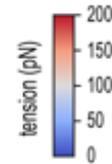
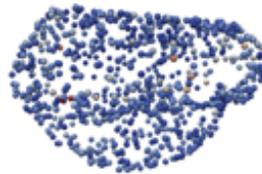


Post-Doc 2017
Maxime Vassaux

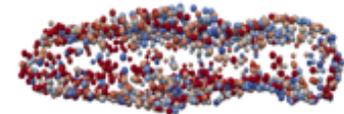
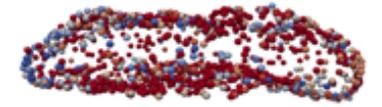
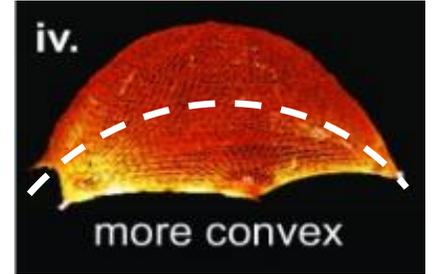
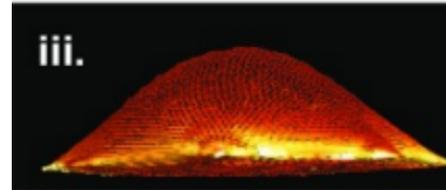
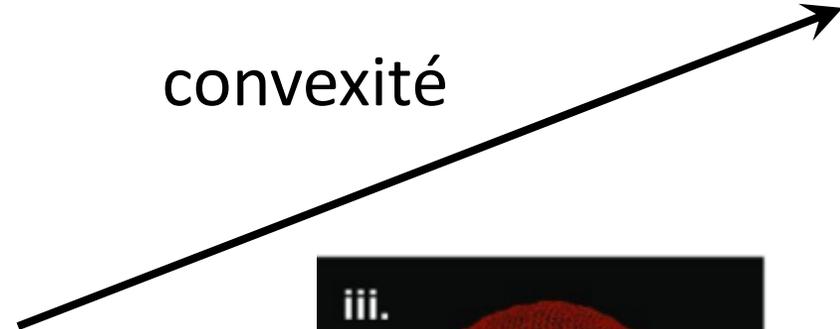
Cellule



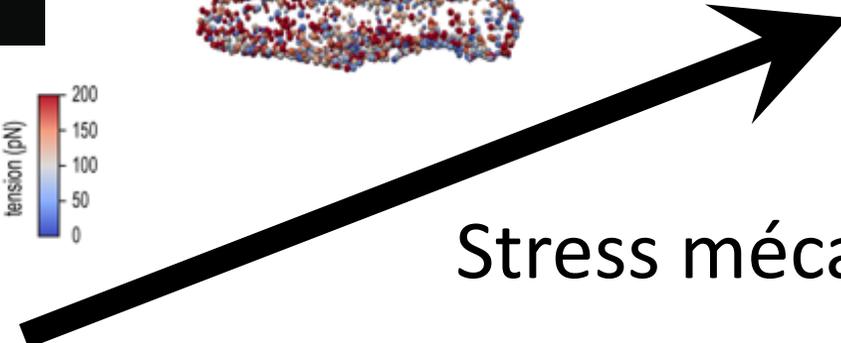
Noyau



convexité



Stress mécanique



Confrontation **in silico** vs **in vitro**

- Cellules sur les pics

état très contraint <-> ++ différenciation
-- prolifération

- Cellules souches dans les creux

état très relaxé <-> ++ quiescent & viabilité
-- différenciation

- **Si la topographie de surface peut stimuler les cellules, elles recherchent des zones de stress minimum.**

Perspectives

- Design in silico de Niches cellulaires adaptatives
- Pilotage *in silico* de ces substrats dynamiques « en temps réel »
 - Le modèle = avatar numérique de la cellule
 - > Réalité augmentée de la cellule