

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Soutenue publiquement le 12 Septembre 2019
Par Mlle Laëtitia LESIRE

***L'Unfolded Protein Response* dans le cancer : de nouvelles
cibles thérapeutiques ?**

Membres du jury :

Président : M. Karim BELARBI, Docteur en Pharmacie, Maître de conférences en Pharmacologie, Université de Lille.

Directeur, conseiller de thèse : M. Benoit DEPREZ, Professeur des Universités, laboratoire U1177, Université de Lille.

Assesseur(s) :

Mme. Florence LEROUX, Docteur en Pharmacie, Ingénieur de recherche INSERM, laboratoire U1177, Institut Pasteur de Lille.

M. Pascal DAO PHAN, Docteur en Pharmacie, Professeur associé, Bayer HealthCare SAS, Loos.



Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>



Université de Lille

Président :	Jean-Christophe CAMART
Premier Vice-président :	Damien CUNY
Vice-présidente Formation :	Lynne FRANJIÉ
Vice-président Recherche :	Lionel MONTAGNE
Vice-président Relations Internationales :	François-Olivier SEYS
Directeur Général des Services :	Pierre-Marie ROBERT
Directrice Générale des Services Adjointe :	Marie-Dominique SAVINA

Faculté de Pharmacie

Doyen :	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-Doyen et Assesseur à la Recherche :	Patricia MELNYK
Assesseur aux Relations Internationales :	Philippe CHAVATTE
Assesseur à la Vie de la Faculté et aux Relations avec le Monde Professionnel :	Thomas MORGENROTH
Assesseur à la Pédagogie :	Benjamin BERTIN
Assesseur à la Scolarité :	Christophe BOCHU
Responsable des Services :	Cyrille PORTA

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	ICPAL
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	EI Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Onco et Neurochimie
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	ICPAL
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Lab. de Médicaments et Molécules
Mme	DEPREZ	Rebecca	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	FOLIGNE	Benoît	Bactériologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Onco et Neurochimie
M.	MILLET	Régis	ICPAL
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY	Anne Catherine	Législation
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHÉRAERT	Eric	Législation
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	WILLAND	Nicolas	Lab. de Médicaments et Molécules

Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie
M.	ANTHERIEU	Sébastien	Toxicologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire

Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M	BELARBI	Karim	Pharmacologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BOSC	Damien	Laboratoire de Médicaments et Molécules
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie
Mme	CHARTON	Julie	Laboratoire de Médicaments et Molécules
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
Mme	DUTOUT-AGOURIDAS	Laurence	Onco et Neurochimie
M.	EL BAKALI	Jamal	Onco et Neurochimie
M.	FARCE	Amaury	ICPAL
Mme	FLIPO	Marion	Laboratoire de Médicaments et Molécules
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	FURMAN	Christophe	ICPAL
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacie Galénique
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOOSSENS	Laurence	ICPAL
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques
Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Onco et Neurochimie
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Législation
Mme	LELEU-CHAVAIN	Natascha	ICPAL
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
M.	MORGENROTH	Thomas	Legislation
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie

M.	POURCET	Benoît	Biochimie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RAVEZ	Séverine	Onco et Neurochimie
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Laboratoire de Médicaments et Molécules
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques
M.	YOUS	Saïd	Onco et Neurochimie
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	DAO PHAN	Hai Pascal	Lab. Médicaments et Molécules
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie Pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques

AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury,

A mon président du jury, Monsieur Karim BELARBI,

Je vous remercie d'avoir accepté de juger mon travail et de me faire l'honneur de présider mon jury de thèse. Votre expertise en pharmacologie, vos connaissances dans les mécanismes intracellulaires ainsi que votre parcours professionnel de pharmacien-chercheur m'apporteront un avis de qualité.

A mes juges,

Madame Florence LEROUX,

Milles mercis. Merci d'avoir dit oui lorsque je vous ai proposée d'être dans mon jury de thèse mais surtout merci de m'encadrer au quotidien. Vos remarques sont toujours pertinentes et constructives, elles me font avancer. Je vous ai donc choisi pour vous remercier de votre implication dans ces deux thèses ainsi que pour l'intérêt que vous portez à ce sujet. Votre avis est donc très important à mes yeux.

Monsieur Pascal Dao PHAN,

Merci d'avoir accepté de juger mon travail de thèse. Votre implication dans la filière industrie de Pharmacie ainsi que votre parcours professionnel est en adéquation avec ce sujet de thèse. Votre point de vue est pour moi considérable car il me permettra d'avoir un avis critique d'un industriel pharmaceutique sur l'intérêt d'un tel sujet.

A mon conseiller de thèse, Monsieur Benoit DEPRESZ,

Je vous remercie de m'avoir encadrée lors de cette thèse d'exercice. Merci pour le temps que vous m'avez accordé, merci également pour tous ces conseils que vous m'avez apportés. Je tiens à vous témoigner mon profond respect et ma reconnaissance.

Merci

A ma famille,

A mes grands-parents, partis trop tôt, qui j'espère seraient fiers de leur petite-fille,

A mes parents, sans qui je ne serai pas là aujourd'hui, qui m'ont toujours poussée à faire le métier que je voulais et qui m'ont toujours soutenue,

A mon frère et ma sœur,

A mes oncles et tantes,

A mon filleul Kiméo, à qui je souhaite de réaliser le métier dont il rêve, car il n'y a rien de plus agréable que de se lever chaque jour et de faire un métier que l'on aime,

A Maxence, pour sa patience, sa présence et son soutien dans les bons et les mauvais moments depuis 9 ans,

A mes amis,

A Domitille, Marie, Mathilde, Pauline et Perrine mes amies du banc de la fac,

A Marine, ma co-thésarde, mon acolyte de parcours, merci pour ces moments de motivations qui ont été indispensables à l'écriture de cette thèse,

A mes collègues, avec qui j'ai signé pour une autre thèse,

A mes professeurs, de la maternelle à l'université, qui ont réussi à partager leurs connaissances, qui m'ont fait aimer l'école et donné goût pour mon métier de pharmacien-chercheur,

A mes anciens stages, je pense entre autres dans l'ordre chronologique, à Cyril pour mon premier stage en laboratoire, à Zouher, Richard et Alexandra de Genfit, à Luc et Marc de Galapagos, et à Florence, Mme Deprez, Morgane, Adrien, Valérie, Julie, Sandrine, Nathalie et Isabelle, pour mon stage de Master 2. Merci de m'avoir fait découvrir et partager votre passion pour la recherche, et qui m'ont conforté dans mon orientation professionnelle,

Aux fondations Euris et Marcel Bleustein Blanchet, pour leur soutien, sans qui je n'aurais pu réaliser ce parcours universitaire ou du moins avec beaucoup de difficultés, merci pour la confiance que vous m'avez accordé et merci pour l'aide que vous apportez,

Et à tous ceux que je n'ai pas cités mais qui se reconnaîtront car ils sont présents aujourd'hui, merci !

Merci d'avoir contribué de près comme de loin à la rédaction de cette thèse qui clos mes études de Pharmacie.

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS	11
RESUME	14
INTRODUCTION.....	15
PARTIE I - L'UNFOLDED PROTEIN RESPONSE : VOIE DE SIGNALISATION ET FONCTIONS PHYSIOLOGIQUES.....	17
I.1. DESCRIPTION DE LA VOIE DE SIGNALISATION DE L'UPR	18
I.1.1. <i>Activation de la réponse aux protéines mal-conformées.....</i>	18
I.1.2. <i>La branche IRE1</i>	19
I.1.3. <i>La branche PERK</i>	21
I.1.4. <i>La branche ATF6.....</i>	23
I.2. LA REPONSE ADAPTATIVE	25
I.2.1. <i>Diminution de la charge protéique.....</i>	25
I.2.2. <i>Augmentation de la capacité de repliement des protéines</i>	30
I.2.3. <i>Biogénèse du RE.....</i>	31
I.2.4. <i>ERAD.....</i>	33
I.2.5. <i>Métabolisme.....</i>	39
I.2.6. <i>Réponse antioxydante.....</i>	40
I.2.7. <i>Connexion avec des voies de survie cellulaire</i>	40
I.3. LA MORT CELLULAIRE	41
I.3.1. <i>La voie intrinsèque mitochondriale de l'apoptose.....</i>	42
I.3.2. <i>La voie extrinsèque de l'apoptose</i>	44
I.3.3. <i>Apoptose induite par l'activation de la caspase 12.....</i>	45
I.3.4. <i>La mort cellulaire par autophagie.....</i>	45
I.3.5. <i>Autres implications de l'UPR dans la mort cellulaire.....</i>	45
I.4. DUALITE DE REPONSES DE L'UPR	46
I.4.1. <i>Hypothèse sur l'activation préférentielle d'une branche de l'UPR</i>	47
I.4.2. <i>Hypothèse sur la cinétique d'activation.....</i>	47
I.4.3. <i>Hypothèse du déséquilibre des rétrocontrôles entre les branches de l'UPR</i>	48
I.4.4. <i>E2F1, la protéine qui fait pencher la balance ?.....</i>	49
PARTIE II - ROLE DE L'UNFOLDED PROTEIN RESPONSE DANS LA PHYSIOPATHOLOGIE DU CANCER.....	51
II.1. ADAPTATION DES CELLULES A L'ENVIRONNEMENT TUMORAL.....	52
II.1.1. <i>Adaptation à l'hypoxie</i>	52
II.1.2. <i>Adaptation à la privation en nutriments et à l'acidose</i>	54
II.1.3. <i>Communication cellulaire</i>	56
II.1.4. <i>Inflammation</i>	56
II.1.5. <i>Réponse immunitaire</i>	57
II.2. TRANSFORMATION ONCOGENIQUE.....	57

II.3.	AUTOPHAGIE DANS LA CELLULE CANCEREUSE	59
II.4.	ANGIOGENESE	60
II.4.1.	<i>Généralités</i>	60
II.4.2.	<i>Liens UPR et angiogènèse</i>	61
II.5.	METASTASE	64
II.5.1.	<i>Généralités</i>	64
II.5.2.	<i>Implication de la voie UPR dans le processus métastatique</i>	65
II.6.	DORMANCE	67
II.6.1.	<i>Généralités</i>	67
II.6.2.	<i>Implication de la voie UPR</i>	68
II.7.	RESISTANCES AUX TRAITEMENTS ANTICANCEREUX	69
II.7.1.	<i>Expression de pompes d'efflux</i>	70
II.7.2.	<i>Enzymes de détoxification</i>	70
II.7.3.	<i>Mécanismes intracellulaires contrebalançant l'effet du médicament</i>	71
II.7.4.	<i>Perte ou modification de la cible thérapeutique</i>	73
II.8.	PROTEINES DE L'UPR : DE NOUVEAUX MARQUEURS MOLECULAIRES TUMORAUX ?.....	73
II.9.	TABLEAU DE SYNTHESE.....	75
PARTIE III - L'UNFOLDED PROTEIN RESPONSE : VERS DE NOUVELLES STRATEGIES		
THERAPEUTIQUES ANTICANCEREUSES ?.....		
77		
III.1.	LES CLASSES PHARMACOLOGIQUES EN ONCOLOGIE	78
III.1.1.	<i>Les chimiothérapies cytotoxiques</i>	78
III.1.2.	<i>L'hormonothérapie</i>	80
III.1.3.	<i>Agents agissant sur la réponse immunitaire</i>	81
III.1.4.	<i>Les thérapies ciblées</i>	81
III.1.5.	<i>Traitements associés</i>	83
III.2.	CIBLES THERAPEUTIQUES POTENTIELLES.....	84
III.2.1.	<i>Les 3 senseurs de l'UPR et GRP78</i>	84
III.2.2.	<i>Les protéines impliquées dans la réponse UPR</i>	93
III.2.3.	<i>Les agents stressants</i>	98
III.3.	COMBINAISON DES MODULATEURS DE L'UPR AVEC DES MEDICAMENTS DEJA APPROUVES	101
DISCUSSION		104
CONCLUSION.....		108
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		110

Liste des abréviations

4E-BP1 : <i>Eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1</i>	CPT : <i>Cholinephosphotransferase</i>
AARE : <i>amino acid response elements</i>	CReP : <i>Constitutive repressor of eIF2 alpha phosphorylation</i>
ACm : anticorps monoclonal	CTLA-4 : <i>cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4</i>
ACTH : <i>Adreno CorticoTrophic Hormone</i>	CXCL : <i>C-X-C motif chemokine</i>
ADCC : <i>Cytotoxicité Dépendante des anticorps</i>	DAPK1 : <i>Death Associated protein Kinase 1</i>
ADN : <i>acide désoxyribonucléique</i>	DDIT4 : <i>DNA damage-inducible transcript 4 protein</i>
ADP : <i>adénosine diphosphate</i>	DEPTOR : <i>DEP domain-containing mTOR-interacting protein</i>
ALK : <i>Anaplastic lymphoma kinase</i>	DR5 : <i>Death receptor 5</i>
AMP : <i>adenosine monophosphate</i>	EDEM : <i>ER degradation-enhancing α mannosidase-like lectin</i>
AMPK : <i>Adenosine Monophosphate-Activated protein kinase</i>	EGF-R : <i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
APAF-1 : <i>Apoptosis activating Factor-1</i>	eIF2α : <i>α subunit of eukaryotic initiation factor 2</i>
ARE : <i>Antioxidant Response Element</i>	eIF4 : <i>eukaryotic translation initiation factor 4</i>
ARNm : <i>acide ribonucléique messenger</i>	EMA : <i>Agence Européenne du Médicament</i>
ARTC1 : <i>ADP-ribosyltransferase C2 and C3 toxin-like 1</i>	EMT : <i>Epithelial-Mesenchymal Transition</i>
ASK1 : <i>Apoptosis Signal-regulating kinase 1</i>	ERAD : <i>ER-associated degradation</i>
ATF4 : <i>Activating Transcription Factor 4</i>	ERDJ3/4 : <i>Endoplasmic reticulum DNA J domain-containing protein 3/4</i>
ATF6 : <i>Activating Transcription Factor 6</i>	ERO1 : <i>ER oxidoreductin</i>
ATG : <i>Autophagy-related protein</i>	ERK : <i>extracellular signal-regulated kinase</i>
ATP : <i>adenosine triphosphate</i>	ERSE : <i>ER stress Response Element</i>
BCR-ABL : <i>Break point cluster - Abelson</i>	FDA : <i>Food and Drug Administration</i>
BIP : <i>Binding Immunoglobulin Protein</i>	FGF : <i>Fibroblast Growth factor</i>
BMSC : <i>Bone Marrow Stromal Cells</i>	FIP200 : <i>FAK family kinase-interacting protein of 200 kDa</i>
BRAF : <i>serine/threonine-protein kinase B-raf</i>	FoxO1 : <i>Forkhead box protein O1</i>
BRCA1 : <i>Breast Cancer type 1 susceptibility protein</i>	FSH : <i>hormone folliculo stimulante</i>
BTK : <i>Bruton's tyrosine kinase</i>	GABARAP : <i>γ aminobutyric acid receptor-associated proteins</i>
Cab45S : <i>Ca²⁺-binding protein of 45 kDa, isoform S</i>	GADD34 : <i>Growth Arrest and DNA Damage gene 34</i>
CCT : <i>Cytidyllyltransferase</i>	GCLC : <i>γ glutamylcysteine synthetase</i>
CDK : <i>cyclin-dependent kinase</i>	
CD20 : <i>Cluster de différenciation 20</i>	
CHOP : <i>C/EBP-homologous protein</i>	
CK : <i>choline kinase</i>	
COPII : <i>coat protein complex</i>	
COX2 : <i>Cyclo-oxygénase 2</i>	

GCN2 : *General Control Nonderepressible 2*

GnRH : *Gonadotropin-Releasing Hormone*

GRP78 : *Glucose-regulated protein 78*

GST : *Glutathione S-transferase*

HAA : *Hydroxy-Aryl-aldehyde*

HDAC : *Histone désacétylase*

HER-2 : *Human Epidermal Growth Factor Receptor-2*

HERP : *HomoCystéine induced ER protein*

HIF : *Hypoxia inducible Factor*

HO-1 : *Heme oxygenase 1*

HRD1 : *HMG-CoA reductase degradation protein 1*

HRI : *Heme regulated Inhibitor*

HSP : *Heat Shock protein*

IFN : *interferon*

IKK : *Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase*

IL : *interleukine*

IP : *inhibiteur du protéasome*

IP3R : *inositol 1,4,5-triphosphate receptor*

IRE1 : *Inositol-Requiring Enzyme 1*

IRES : *Internal Ribosome Entry site*

ISRIB : *Integrated Stress Response Inhibitor*

JAK : *Janus kinase*

JNK : *JUN N terminal Kinase*

KDEL : *Lysine – Acide Aspartique – Acide glutamique - Leucine*

Keap1 : *Kelch-like ECH-associated protein 1*

KO : *knock-out*

LAMP3 : *Lysosomal associated membrane protein 3*

LH : *hormone lutéinisante*

LOX-L2 : *Lysyl oxidase-like 2*

Maf : *MusculoAponeurotic Fibrosarcoma proteins*

MAP : *Microtubule-associated protein*

MAPK : *Mitogen-activated protein kinase*

MEC : *Matrice extracellulaire*

MEK : *Mitogen-activated protein kinase kinase*

MCL1 : *Induced myeloid leukemia cell differentiation protein Mcl-1*

mLST8 : *Mammalian lethal with SEC13 protein 8*

MM : *myélome multiple*

MMP13 : *matrix metalloproteinase 13*

MRP1 : *Multidrug resistance Related Protein 1*

mTORC1 : *mammalian Target of Rapamycin complexe 1*

MTP : *Microsomal Triglyceride Transfer Protein*

NBD : *Nucleotide Binding Domain*

NF-Y : *Nuclear Transcription Factor Y*

Nrf2 : *Nuclear Factor (erythroid-derived 2)-like 2*

NBR1 : *Next to BRCA1 gene 1 protein*

NFkB : *Nuclear factor NF-kappa-B*

NLRP3 : *NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3*

NQO1 : *NADPH Quinone Oxydoreductase 1*

NRG1 : *Neuregulin-1*

NGF : *nerve growth factor*

OS-9 : *protéine ostéosarcome 9*

p58^{IPK} : *Protein kinase inhibitor of 58 kDa*

PARP : *poly(ADP-ribose) polymérase*

PDGFR : *Platelet-derived growth factor receptor*

PD-1 : *Programmed cell death 1*

PDI : *Protein Disulfide Isomerase*

PDK-1 : *Phosphoinositide-dependent protein kinase-1*

PE : *phosphatidylethanolamine*

PERK : *Protein Kinase RNA-like ER kinase*

P-gp : *P-glycoprotein*

PI3K : *Phosphatidyl Inositol 3 kinase*

PKC : *protein kinase C*

PKR : *Protein kinase RNA-activated*

PLCy : *phospholipase C γ*

PP1c : *Protein phosphatase 1 Cofactor*

PPAR- γ : Peroxisome proliferator-activated receptor gamma
pRAS40 : *Proline-rich AKT1 substrate 1*
PTEN : *Phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome 10*
RAMP4 : *Ribosome-attached membrane protein 4*
RANKL : receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand
RE : réticulum endoplasmique
RIDD : *Regulated IRE1-dependent Decay*
RIP : *Regulated Intramembrane proteolysis*
RNase : ribonucléase
ROS : *Reactive Oxygen Species*
RRN3 : *RNA polymerase I-specific transcription initiation factor*
RTCB : *tRNA-splicing ligase RtcB homolog*
S1P/S2P : *Site 1/2 protease*
SCCA1 : *Squamous Cell carcinoma antigen 1*
Sec61 : *Protein transport protein SEC61*
SERCA : *sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase*
SPARC : *Secreted protein acidic and rich in cysteine*

SREBP : *sterol regulatory element-binding protein*
TGFB : *Transforming growth factor beta*
TNF : *Tumor Necrosis Factor*
TRAF2 : *TNF receptor-associated factor 2*
TRB3 : *Tribbles 3*
TSC : *Tuberous Sclerosis Complex*
TXNIP : *Thioredoxin-interacting protein*
UGT : *UDP-glucuronosyltransferases*
ULK1 : *Unc-51-like kinase 1*
uORF : *upstream Open Reading Frame*
UPR : *Unfolded protein response*
UPRE : *UPR Element*
USP14 : *Ubiquitin Specific Protease 14*
UTR : *untranslated transcribed region*
VCAM1 : *vascular cell adhesion protein 1*
VCIP : *VEGF & type I Collagen Inducible Protein*
VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*
XBP1s/u : *X Box binding Protein spliced/unspliced*
XIAP : *X-linked inhibitors of apoptosis*
XTP3-B : *XTP3-transactivated gene B protein*

Résumé

L'*Unfolded Protein Response* (UPR) est un processus complexe provoqué par l'accumulation de protéines mal-conformées et dont le principal objectif est le rétablissement de l'homéostasie protéique. Plusieurs mécanismes adaptatifs sont ainsi induits comme la limitation de la charge protéique au réticulum endoplasmique, l'augmentation des capacités de repliements des protéines, ou encore l'induction de molécules effectrices impliquées dans le contrôle qualité et dans la dégradation des protéines. L'UPR assure donc la survie cellulaire, lorsque l'homéostasie protéique est rétablie, mais peut aussi induire la mort cellulaire lorsque le stress protéique dépasse ses capacités adaptatives. Ainsi, de par sa dualité d'action sur le destin cellulaire, l'UPR est donc un mécanisme intéressant à étudier mais aussi à moduler dans une perspective thérapeutique. En particulier, les cellules cancéreuses sollicitent particulièrement la voie UPR pour survivre, de par leurs conditions intrinsèques de croissance rapide, mais aussi de par leur environnement tumoral qui provoquent l'accumulation de protéines mal-conformées. Les cellules cancéreuses sont dites dépendantes de l'UPR qui est ainsi associé au développement tumoral (angiogenèse, adaptation à l'hypoxie, métastase, résistances aux traitements etc.). La modulation de l'UPR par de petites molécules chimiques, seules ou en combinaison, provoque ainsi une toxicité vis-à-vis des cellules cancéreuses, ce qui en fait un potentiel thérapeutique intéressant dans cette pathologie où le besoin thérapeutique est insatisfait. Cette modulation peut cibler, soit directement des effecteurs de la voie UPR, soit ses senseurs en induisant un stress réticulaire dans le but de perturber cette homéostasie. Enfin, les recherches concernant l'étude et la caractérisation des effets de cette voie de signalisation continuent, notamment du fait de la complexité des effets de cette voie dans les différents modèles d'études au sein de la cellule prise isolément ou de l'organisme entier. Aussi, le développement de molécules modulatrices de cette voie est en plein essor et prend en compte tous les challenges associés à ce développement, c'est-à-dire la caractérisation et l'optimisation de toutes ses propriétés pour obtenir le meilleur compromis, le potentiel médicament.

Introduction

Le réticulum endoplasmique (RE) est le principal compartiment subcellulaire impliqué dans la synthèse, le repliement, la maturation et la sécrétion des protéines, dans les cellules eucaryotes. Il faut noter par exemple, qu'un hépatocyte synthétise en moyenne 13 millions de protéines par minutes. Le RE est le site d'exécution et de régulation de plusieurs modifications post-traductionnelles, et est ainsi impliqué dans le contrôle qualité des protéines synthétisées, où seules celles correctement conformées pourront être excrétées. Ainsi, les protéines mal-repliées sont retenues au sein du RE et sont ensuite dégradées par une voie de dégradation associée au RE appelée ERAD (*ER-associated degradation*) via le protéasome et/ou l'autophagosome, afin de prévenir la génération de protéines non fonctionnelles et potentiellement toxiques pour l'organisme. Le RE possède d'autres fonctions physiologiques comme la régulation de l'homéostasie du calcium intracellulaire ou encore la biosynthèse des lipides.

Différents facteurs intrinsèques (augmentation de la production protéique, défauts dans le bon repliement protéique, défaut de l'homéostasie lipidique...) et extrinsèques (hypoxie, acidose, privation ou excès de certains nutriment, infections ...) peuvent perturber sa fonction, provoquant un stress par l'accumulation de protéines mal-repliées au sein du RE. Cette accumulation de protéines mal-conformées entraîne l'activation de la voie de signalisation, très conservée entre les espèces, appelée *Unfolded Protein Response* (UPR). Cela déclenche alors une série de mécanismes adaptatifs, nécessaires pour rétablir l'homéostasie protéique au sein du RE. Cependant, lorsque le stress perdure ou lorsque l'intensité devient trop importante, cette voie UPR induit une réponse apoptotique, protégeant ainsi l'organisme des cellules présentant des protéines potentiellement toxiques (**Figure 1**).

Du fait de sa dualité d'action sur le destin cellulaire, la voie UPR est ainsi décrite comme impliquée dans de multiples pathologies comme le cancer, les maladies neurodégénératives, le diabète ou encore les maladies inflammatoires. Un premier exemple, dans une maladie génétique, une forme de rétinite pigmentaire où la protéine rhodopsine mal-conformée, non fonctionnelle, est produite en grande quantité pendant le développement rétinale. Cela active ainsi l'UPR par son accumulation, induisant la mort des cellules de la rétine et conduisant alors à la cécité des patients (1–3). Un deuxième exemple, dans le cas du diabète de type II,

l'UPR serait impliqué dans le développement de la pathologie mais aussi dans la mort des cellules β pancréatiques, soumises à un stress réticulaire trop intense du fait de la demande, trop importante, de production d'insuline (4,5). Aussi, il a été montré que l'UPR jouait un rôle dans les infections virales comme l'infection par les virus de l'hépatite B et C. En effet, cette réponse UPR est utilisée par ces virus pour leurs répliquations (6,7). Enfin, un dernier exemple, l'UPR est impliqué dans la survie des cellules cancéreuses, par l'homéostasie protéique générée face aux stress induits par leur croissance rapide, ainsi que par l'environnement tumoral (8,9). Il y a donc un intérêt biomédical grandissant, à investiguer cette voie UPR mais aussi à développer de nouveaux agents pharmacologiques.

Ainsi, dans cette thèse d'exercice, après avoir développé les fonctions physiologiques de l'UPR, je me focaliserai sur l'implication de cette voie de signalisation dans les conditions physiopathologiques du cancer, où cibler la voie UPR par des petites molécules, constitue une nouvelle approche thérapeutique anticancéreuse prometteuse.

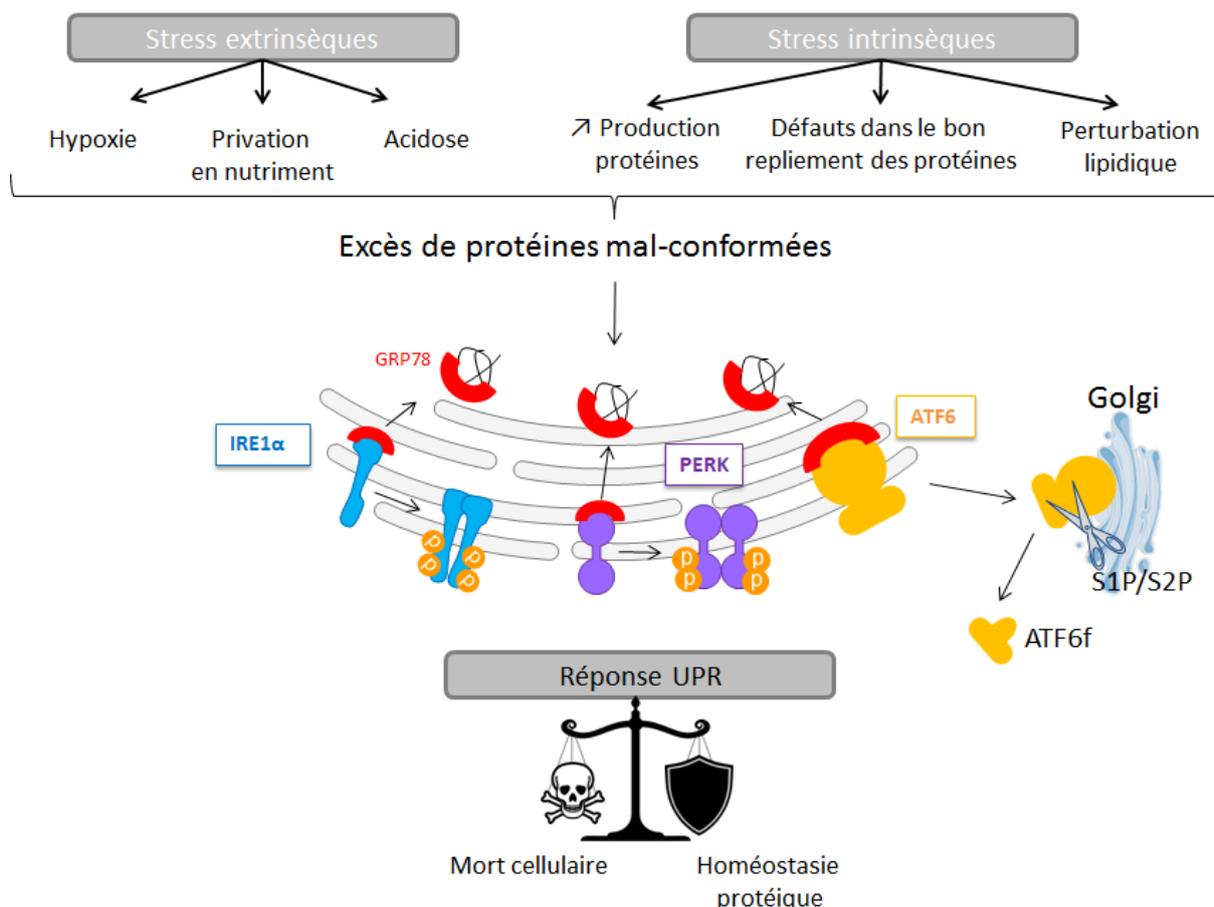


Figure 1 : Différents stress extrinsèques (hypoxie, privation en nutriment, acidose) ou intrinsèques (augmentation de la production de protéines, défauts dans le bon repliement des protéines, perturbation lipidique) peuvent provoquer un excès de protéines mal-conformées. Cela engendre la réponse UPR par ses différents senseurs (IRE1 α , PERK et ATF6) à l'origine d'une réponse qui pourra permettre le retour de l'homéostasie protéique ou au contraire entraîner la mort de la cellule.

**Partie I - L'*Unfolded Protein Response* : voie de signalisation et
fonctions physiologiques**

I.1. Description de la voie de signalisation de l'UPR

I.1.1. Activation de la réponse aux protéines mal-conformées

On distingue 3 protéines transmembranaires senseurs du stress réticulaire dans les cellules de mammifères : IRE1 α (*Inositol-Requiring Enzyme 1 α*), PERK (*Protein Kinase RNA-like ER kinase*) et ATF6 (*Activating Transcription Factor 6*). Chaque protéine, à l'état basal, forme un complexe stable avec la protéine chaperon GRP78 (*Glucose-regulated protein 78*) aussi appelée BiP (*Binding Immunoglobulin Protein*) de la famille des HSP70 (*Heat Shock protein*) (10). GRP78, situé au sein de la lumière du RE via un motif de rétention KDEL, utilise l'ATP pour aider au bon repliement des protéines qu'il reconnaît par l'exposition des surfaces hydrophobes. La dissociation de GRP78 de ces protéines senseurs pour lier les protéines mal-conformées s'accumulant au sein du RE lors d'un stress, opère comme le signal activateur de la voie UPR (11).

I.1.1.1. Activation de la voie UPR dépendante de GRP78

Il faut cependant noter que l'interaction entre GRP78 et les 3 senseurs peut être régulée par plusieurs protéines. En effet, il a été décrit que la cyclophiline B, une protéine chaperon, interagissait avec GRP78, pouvant ainsi stabiliser la liaison de GRP78 aux senseurs, diminuant le stress et la mort cellulaire (12). Un autre exemple, Cab45S (*Ca²⁺-binding protein of 45 kDa, isoform S*), stabilise l'interaction de GRP78 à IRE1, par la liaison de son domaine C terminale au NBD (*Nucleotide Binding Domain*) de GRP78, régulant ainsi la voie IRE1 pour la réduction de l'apoptose (13).

Aussi, l'interaction de GRP78 aux 3 senseurs peut être régulée par des modifications post traductionnelles, comme l'ADP ribosylation ou encore l'AMPylation de GRP78. Cette mono-ribosylation est une modification post traductionnelle réversible, observée en réponse à un stress nutritionnel. Cela entraîne l'activation de la voie UPR, diminuant ainsi la synthèse et le flux protéique au sein du RE pour rétablir l'homéostasie. Cependant, GRP78 ribosylée ne se lierait plus aux protéines mal-conformées. Il a été démontré que cette ribosylation peut être réalisée par une ADP-ribosyl Transferase (ARTC1) (14). Cependant, l'AMPylation serait la modification post traductionnelle la plus fréquente de GRP78 permettant la formation d'un pool inactif de GRP78, tout comme l'oligomérisation. Cette modification rapide

et réversible, serait notamment exercée après le retour de l'homéostasie suite à un stress prolongé, du fait de la longue demi-vie de la protéine GRP78 (15).

I.1.1.2. Activation de la voie UPR indépendamment de GRP78

Il a été démontré que la voie de signalisation UPR pouvait être activée dans des conditions physiologiques, en l'absence de la dissociation de GRP78 aux différents senseurs.

En effet, le VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire peut activer les voies ATF6, IRE1 α et PERK indépendamment de leurs dissociations à GRP78, via l'activation de la phospholipase C γ (PLC γ) et du complexe mTORC1 (*mammalian Target of Rapamycin complexe 1*), permettant ainsi la survie des cellules endothéliales et le développement de l'angiogénèse (16,17).

Aussi, il semblerait que les senseurs de l'UPR, IRE1 et PERK puissent interagir directement avec les protéines mal-conformées, favorisant leurs activations (18).

I.1.2. La branche IRE1

La caractérisation initiale des effecteurs moléculaires de l'UPR a été réalisée chez la levure *Sacharomyces Cerevisiae*, où IRE1p fut le premier senseur caractérisé, il constitue ainsi la branche la plus connue de l'UPR (19). La recherche de son homologue chez les mammifères a permis d'identifier IRE1, une sérine/thréonine kinase et endoribonucléase. Il existe deux isoformes d'IRE1, IRE1 α et IRE1 β , situés tous les deux au niveau du RE, mais qui se distinguent sur plusieurs points.

Le premier point de divergence porte sur leur expression, qui est ubiquitaire pour IRE1 α , et limitée à l'épithélium du tractus gastro-intestinal et respiratoire pour IRE1 β (20,21). Le deuxième porte sur leurs différences d'activation, qui nécessite la dissociation de GRP78 pour IRE1 α , alors qu'IRE1 β lie les protéines mal conformées pour être activé (22). De plus, il ne semblerait pas qu'IRE1 β puisse induire l'UPR ou du moins avec une intensité fortement inférieure à IRE1 α . Ces différences de réponse pourraient s'expliquer par leurs domaines RNase qui ne présentent que 61% d'homologie entre les deux isoformes, déterminant ainsi leurs spécificités fonctionnelles (23). En effet, IRE1 α épisse l'ARNm d'XBP1 (*X Box binding Protein 1*)

principalement, alors que IRE1 β présente une spécificité pour l'ARN ribosomale 28S ainsi que l'ARNm MTP (*Microsomal Triglyceride Transfer Protein*) impliqué dans l'assemblage des chylomicrons dans les entérocytes (23–25).

La séparation de GRP78 d'IRE1 α va entraîner son oligomérisation et sa transautophosphorylation, activant son domaine RNase. Cette endoribonucléase va permettre l'excision d'un intron de 26 nucléotides dans l'ARNm de XBP1u (*X Box binding Protein Unspliced*). L'ARN ligase RTCB (*tRNA-splicing ligase RtcB homolog*) va ensuite permettre de relier les deux fragments formés, décalant ainsi le cadre de lecture, pour former XBP1s (*spliced form*), la forme épissée, et qui est un facteur de transcription (26,27). XBP1s est principalement impliqué dans l'expression de gènes pour le repliement, la voie de dégradation des protéines ERAD ainsi que dans la biosynthèse des lipides. Pour induire ces gènes, XBP1s se lie sur des régions spécifiques des promoteurs appelées ERSE (*ER stress Response Element*) en collaboration avec le facteur de transcription NF- κ B (*Nuclear Transcription Factor κ B*), mais aussi sur les promoteurs présentant le motif UPR (*UPR Element*), en homodimérisant ou en hétérodimérisant avec un autre senseur de l'UPR, ATF6 (28). Il est important de noter, que le motif ERSE est également présent sur le promoteur d'XBP1, ainsi il induit donc sa propre transcription (29).

L'activité RNase d'IRE1 α permet également de dégrader spécifiquement des ARNm codant pour des protéines de la voie sécrétrice par un processus appelé RIDD (*Regulated IRE1-dependent Decay*), contribuant ainsi, à l'état basal, à réduire le flux protéique. Cependant, si l'homéostasie cellulaire n'est pas rétablie, on observe une diminution du splicing d'XBP1s, et une augmentation de l'activité RIDD d'IRE1 α favorisant l'apoptose par la dégradation d'ARNm codant pour des protéines de survie (30,31). Cette dualité d'action d'IRE1 a été notamment bien étudiée dans un type de tumeur cérébrale, le glioblastome, où le rapport des activités de la fonction endoribonucléase et RIDD constitue un facteur pronostique de celui-ci (32).

Aussi, IRE1 α interagit avec une protéine TRAF2 (*Tumor Necrosis Factor (TNF) receptor-associated factor 2*) pour permettre l'activation d'ASK1 (*Apoptosis Signal-regulating kinase 1*) qui active à son tour JNK (*JUN N terminal Kinase*). Cette voie IRE1 α /TRAF2/JNK est impliquée dans l'autophagie, une voie de dégradation des protéines et des organelles, dans l'inflammation ainsi que dans la mort cellulaire (33–36) (**Figure 2**).

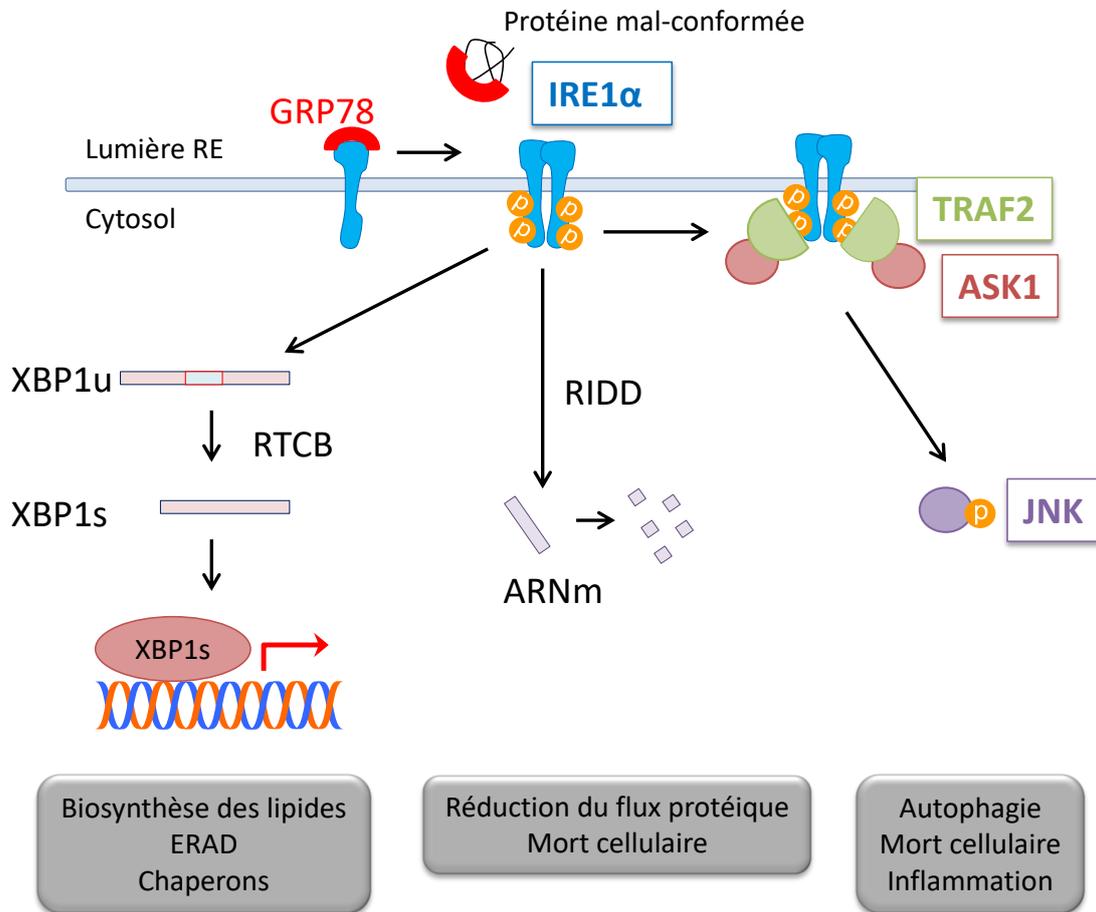


Figure 2 : Activation de la voie IRE1 α et ses conséquences: La dissociation de GRP78 d'IRE1 α lors d'un stress va permettre d'induire l'oligomérisation et l'autophosphorylation d'IRE1 α , nécessaire à son activité RNase. Celle-ci va permettre l'excision d'un intron dans l'ARNm d'XBP1u, qui ensuite par l'action de l'ARN ligase RTCB va permettre de former XBP1s, un facteur de transcription impliqué dans la biosynthèse des lipides, dans les mécanismes ERAD ainsi que dans l'induction de protéines chaperons. IRE1 α est aussi responsable de la dégradation d'ARNm par une activité appelée RIDD impliquée dans la réduction du flux protéique mais aussi dans la mort cellulaire. Enfin, IRE1 α peut interagir avec TRAF2, permettant l'activation d'ASK1 puis de JNK impliqué dans l'autophagie, l'inflammation et la mort cellulaire.

I.1.3. La branche PERK

Le deuxième senseur de l'UPR est PERK, une sérine/ thréonine kinase dont l'activation est similaire à celle d'IRE1 α . En effet, la séparation de GRP78 de la protéine PERK, provoque son oligomérisation et sa transautophosphorylation. Une fois activée, cette kinase va phosphoryler la protéine eIF2 α (*α subunit of eukaryotic initiation factor 2*). Cette phosphorylation réversible d'eIF2 α inhibe alors transitoirement la traduction globale cellulaire des ARN en protéines, comme par exemple la traduction de régulateurs du cycle cellulaire (cycline D1), réduisant ainsi l'accumulation de nouvelles protéines au niveau du RE et la prolifération pendant quelque temps (37). Cette protéine eIF2 α phosphorylée permet cependant la traduction sélective de certains ARNm, dont celui codant pour le facteur de transcription ATF4 (*Activating Transcription Factor 4*). Ce dernier induit l'expression

de gènes impliqués dans l'adaptation au stress (métabolisme cellulaire, autophagie, réponse anti-oxydante). D'autres parts, dans des conditions de stress prolongés, ATF4 favorise l'expression de CHOP (*C/EBP-homologous protein*), un facteur de transcription impliqué dans le processus d'apoptose. ATF4 permet également l'expression de GADD34 (*Growth Arrest and DNA Damage gene 34*), qui, lorsqu'il est associé à la phosphatase PP1C (*Protein phosphatase 1 Cofactor*), permet la déphosphorylation d'eIF2 α . Cela constitue donc une boucle de rétrocontrôle négatif qui permet de lever le frein sur la synthèse protéique, nécessaire pour la synthèse de nouvelles protéines, en particulier les protéines cibles de l'UPR. Cependant, une reprise trop précoce ou trop importante de la synthèse protéique pourrait aggraver le stress réticulaire si l'homéostasie n'est pas rétablie (38). Il existe également une autre phosphatase responsable de la déphosphorylation d'eIF2 α , CReP (*Constitutive repressor of eIF2 alpha phosphorylation*) dont l'expression est constitutive et non induite par le stress réticulaire (39). Il existerait une co-régulation de ces deux phosphatases CReP et GADD34 (40).

eIF2 α peut être également phosphorylée par d'autres kinases appartenant à la même famille que PERK, comme GCN2 (*General Control Nonderepressible 2*) dont l'activation est induite par la déplétion en nutriments (37), ou encore par PKR (*Protein kinase RNA-activated*), dont l'activation est induite par des doubles brins d'ARN lors d'une infection virale (41), ainsi que HRI (*Heme regulated Inhibitor*) dans les érythrocytes(42).

Cependant, le transcriptome induit par ATF4 ne correspond qu'à la moitié des gènes induits par l'activation de la branche PERK, il existe ainsi d'autres facteurs de transcription induits par ce senseur. En effet, PERK phosphoryle et active également le facteur de transcription Nrf2 (*Nuclear Factor (erythroid-derived 2)-like 2*). Dans des conditions normales, Nrf2 est associé à Keap1 (*Kelch-like ECH-associated protein 1*) formant ainsi un complexe inactif (43). La phosphorylation de Nrf2 par PERK induit la dissociation de ce complexe (44). Nrf2 peut être également activé par la protéine kinase C (PKC) (45). Nrf2 libre rejoint alors le noyau où il active, après hétérodimérisation avec les protéines Maf (*MusculoAponeurotic Fibrosarcoma proteins*) ou ATF4, les gènes possédant le motif ARE (*Antioxidant Response Element*) dans leurs promoteurs. Nrf2 est alors principalement impliqué dans la réponse antioxydante de l'UPR ainsi que dans la dégradation des protéines par la voie ERAD (46) (**Figure 3**).

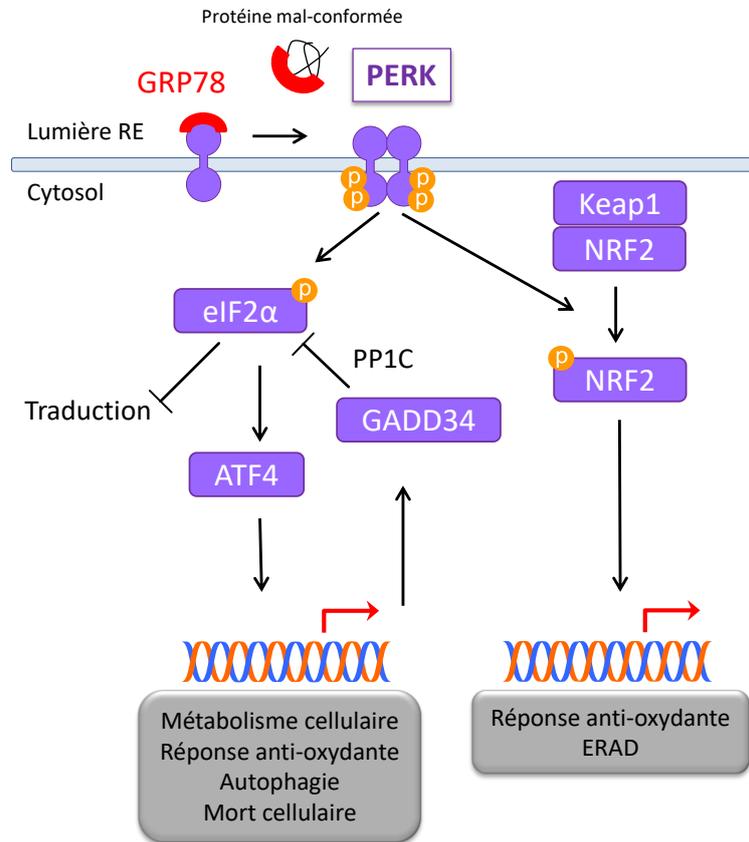


Figure 3 : Activation de la voie PERK et ses conséquences: La dissociation de GRP78 à PERK lors d'un stress va permettre l'oligomérisation et la trans-autophosphorylation de PERK, nécessaire à son activité kinase. PERK phosphoryle eIF2 α , ce qui a pour conséquence l'arrêt de la traduction globale cellulaire et la traduction sélective de certains ARNm comme ATF4. Ce dernier est un facteur de transcription impliqué dans le métabolisme cellulaire, la réponse anti-oxydante, l'autophagie et la mort cellulaire. Aussi, ATF4 induit GADD34, qui lorsqu'il est associé à la phosphatase PP1C permet la déphosphorylation d'eIF2 α . Enfin, PERK phosphoryle et active Nrf2, un facteur de transcription impliqué dans la réponse anti-oxydante et le processus ERAD.

I.1.4. La branche ATF6

ATF6 à l'état basal est retrouvé à l'état de monomère, dimères et oligomères. Il existe deux isoformes d'ATF6 : ATF6 α et ATF6 β , présentant 41% d'identité mais dont les sites de clivage sont conservés. ATF6 β serait un répresseur d'ATF6 α (47).

La dissociation de GRP78 à ATF6 lors d'un stress réticulaire, par un mécanisme non compétitif avec les protéines mal-conformées, permet de démasquer un signal d'adressage au Golgi (48). ATF6 sera alors transportée sous la forme de monomère au niveau de cette organelle par des vésicules recouvertes d'un manteau cytosolique COPII (*coat protein complex*). La forme monomérique d'ATF6 dont le pont disulfure de son domaine luminal est réduit, est le meilleur substrat pour être clivé par la sérine protéase résidante S1P (*Site 1 protease*). En effet la forme monomérique oxydée n'est pas reconnue par S1P, la vésicule est alors retournée au RE (49). Après clivage par S1P, il sera ensuite clivé par la métalloprotéase résidante S2P (*Site 2 protease*), libérant ainsi un facteur de transcription de 50kDa appelé

ATF6f (fragment d'ATF6). Le trafic d'ATF6 est donc régulé par son état d'oligomérisation mais aussi par son état d'oxydoréduction. L'activation d'ATF6 suit ainsi un mécanisme d'activation appelé RIP (*Regulated Intramembrane proteolysis*), par lequel une protéine fonctionnelle est synthétisée comme une large protéine transmembranaire et clivée lors du besoin cellulaire.

Ce facteur de transcription est requis pour optimiser le repliement, la sécrétion et la dégradation des protéines pendant le stress réticulaire, par l'induction de l'expression de gènes codant pour des protéines chaperons, comme GRP78, ou encore pour des protéines impliquées dans la voie de dégradation des protéines ERAD. ATF6f permet également l'expression d'XBP1 via sa liaison au motif ERSE situé sur son promoteur. Cette induction nécessite la collaboration du facteur de transcription NF-Y (27) (**Figure 4**).

L'activation d'ATF6 est donc rapide comparée à celles d'IRE1 α et PERK qui nécessitent une transcription et une traduction des protéines effectrices de leurs branches.

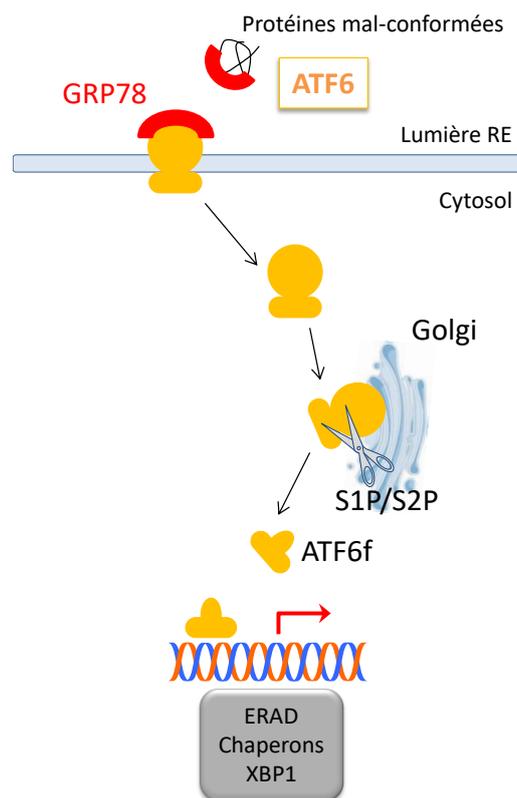


Figure 4 : Activation de la voie ATF6 et ses conséquences: La dissociation de GRP78 à ATF6 lors d'un stress permet l'adressage d'ATF6 au Golgi où il sera clivé par les protéases résidentes S1P et S2P. Cela a pour conséquence la production d'ATF6f un facteur de transcription impliqué dans le processus ERAD, dans l'induction de protéines chaperons ainsi que dans l'induction de l'expression d'XBP1.

I.2. La réponse adaptative

La voie UPR est activée par l'accumulation de protéines mal-conformées au sein du RE, pouvant être provoquée par différents stress, comme la privation en nutriments, l'altération de la balance d'oxydoréduction, le changement de la concentration en calcium intracellulaire, des modifications protéiques post traductionnelles non conformes, l'augmentation de la synthèse protéique etc. (50). Cette voie de signalisation permet de donner une réponse adaptative qui remodèle la voie sécrétrice des protéines et aligne la physiologie cellulaire à la demande imposée par le stress du RE. Cette réponse cellulaire est principalement régit par la modulation du transcriptome de nombreux gènes de la voie sécrétrice des protéines, ce qui pourra conduire à la diminution de la quantité de protéines synthétisées, l'augmentation des capacités de repliement et de modifications post-traductionnelles des protéines, l'augmentation de la capacité du RE par la biogénèse des lipides, la dégradation des protéines mal-conformées accumulées, ou encore le maintien de l'équilibre rédox. L'UPR contribue ainsi à maintenir le contrôle qualité, la fidélité des protéines synthétisées et la survie cellulaire.

I.2.1. Diminution de la charge protéique

I.2.1.1. Principe de la traduction d'un ARNm en protéine

Une fois transcrit, l'ARNm situé dans le cytosol va se lier au ribosome, organe responsable de la traduction, constitué de protéines et d'ARNs ribosomiaux (ARNr). Le ribosome est formé de deux sous unités 60S et 40S. En fonction de la séquence nucléotidique de l'ARNm, le ribosome assemble les acides aminés correspondants pour former la protéine.

La traduction des ARNm comprend 3 étapes : l'initiation, l'élongation et la terminaison (51,52) (**Figure 5**).

Initiation :

L'initiation de la biosynthèse protéique commence généralement au niveau d'un codon AUG, codant pour une méthionine, qui pourra être clivée par la suite.

L'initiation demande l'interaction d'un complexe protéique cap-dépendant eIF4F (formé, entre autre, par eIF4A une hélicase, eIF4G qui relie l'ARNm au ribosome par eIF3 qui lie directement le ribosome, et eIF4E) avec la structure cap situé du côté 5' de l'ARNm.

Le ribosome 40S avec les facteurs d'initiation (eIF1, eIF3) lie le côté 5' UTR (*Untranslated Transcribed region*) de l'ARNm jusqu'à la reconnaissance du codon d'initiation AUG.

Pour commencer la traduction, il y a recrutement au niveau du ribosome 40S du complexe ternaire eIF2-GTP-Met-tRNA_i^{Met}, formant ainsi le complexe de pré-initiation 43S. tRNA_i^{Met} est l'unique initiateur utilisé pour la synthèse protéique, du fait que son anticodon est complémentaire au codon d'initiation AUG. L'assemblage du complexe ternaire est régulé par eIF2B qui catalyse la réaction GDP en GTP.

Après reconnaissance du codon d'initiation, il y a hydrolyse d'eIF2-GTP permettant la liaison de la sous unité ribosomale 60S pour former le complexe d'initiation ribosomal 80S.

Il faut cependant noter qu'il existe 2 types de traduction : cap-dépendant et cap-indépendant aussi appelé IRES (*Internal Ribosome Entry site*) qui recrute directement le ribosome 40S sans avoir besoin du complexe eIF4.

Elongation :

La deuxième étape de la traduction est l'élongation correspondant au parcours du ribosome sur l'ARNm, sous l'action de facteurs d'élongation, qui assemble par l'intermédiaire d'un ARN de transfert (ARNt) l'acide aminé correspondant au codon, pour former la protéine.

Terminaison :

La synthèse protéique s'arrête lorsque le ribosome atteint un codon-stop (UAA, UGA, UAG), le ribosome se détache de l'ARNm et la protéine est libérée dans la cellule. Un même brin d'ARNm peut ainsi coder pour plusieurs protéines.

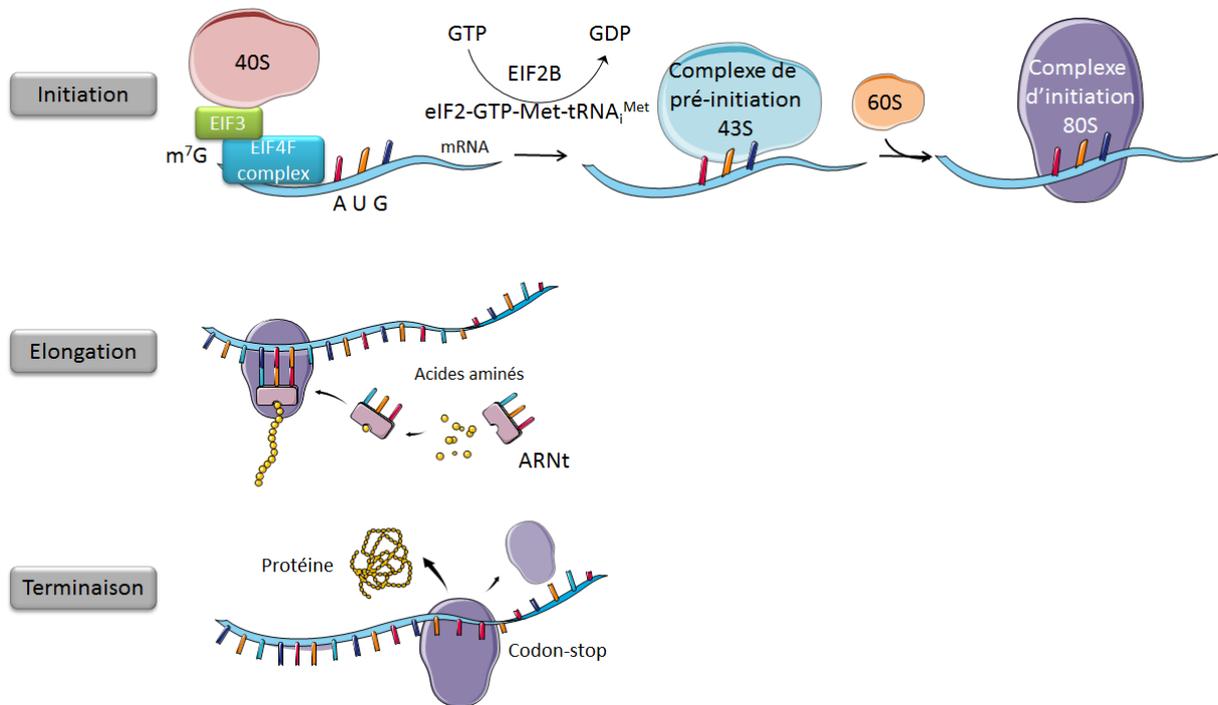


Figure 5 : Les différentes étapes de la traduction. L'initiation au niveau du codon AUG nécessite, lors d'une traduction cap-dépendant, de l'interaction du complexe eIF4F ainsi que du ribosome 40S et des facteurs d'initiation comme eIF3. Dans le cadre d'une traduction cap-indépendant, le ribosome 40S est directement recruté. Ensuite, le recrutement du complexe ternaire eIF2-GTP-Met-tRNA_i^{Met}, dont la régulation est dépendante d'EIF2B, permet la formation du complexe de pré-initiation 43S. Celui-ci s'associe ensuite au ribosome 60S après hydrolyse d'eIF2-GTP pour former le complexe d'initiation 80S. L'étape d'élongation correspond au parcours du ribosome sur l'ARNm et à l'assemblage des acides aminés pour former la protéine. L'étape de terminaison correspond au détachement du ribosome et à la libération de la protéine lorsque celui-ci atteint le codon stop.

I.2.1.2. Réduction de la traduction pendant l'UPR

La branche PERK :

Comme précisé précédemment, l'activation de l'UPR entraîne la phosphorylation d'eIF2 α par PERK. Cette phosphorylation d'eIF2 α inhibe l'échange du GDP en GTP catalysé par EIF2B (53) et eIF2 α lié au GDP ne peut plus se lier à l'ARN de transfert initiateur. Ainsi, eIF2 α phosphorylé ne permet plus la formation du complexe ternaire requis pour l'initiation de tous les ARNm cellulaires.

Cependant, la phosphorylation d'eIF2 α permet la traduction sélective de certains ARNm, comme ATF4, dû à la particularité de ces ARNm. ATF4 comprend deux uORF (*upstream Open Reading Frame*) qui sont des cadres de lectures situés dans la partie non codante de l'ARNm (5'UTR) et qui peuvent être non codant ou coder pour de petits polypeptides. La particularité d'ATF4 est qu'il possède un uORF1 court et un uORF2 long. Dans les conditions non stressées, le ribosome se lie sur l'uORF1 où il initie la traduction, mais s'arrête rapidement au codon-stop, il y a alors libération du ribosome 60S et du 40S. Cependant, du fait que l'uORF1 soit court, certaines sous unités ribosomales 40S restent attachées à l'ARNm. Ainsi, le ribosome 40S continue de parcourir l'ARNm, et reconnaît le codon d'initiation de

l'uORF2. Il y a alors recrutement de l'ARN de transfert d'initiation par le complexe ternaire eIF2-GTP-Met-tRNA_i^{Met}, puis du ribosome 60S. Commence alors la traduction de ce deuxième uORF2, qui présente la particularité d'être long, dépassant le codon d'initiation codant pour ATF4. Ainsi dans les conditions non stressées, il n'y a pas de production du facteur de transcription ATF4. En revanche, dans des conditions de stress, du fait de la phosphorylation d'eIF2 α , le complexe ternaire eIF2-GTP-Met-tRNA_i^{Met} se fait rare dans la cellule. Le ribosome 40S après traduction de l'uORF1 continue donc à parcourir l'ARNm jusqu'au codon d'initiation de l'uORF2, mais ne laissant pas assez de temps pour acquérir ce complexe ternaire rare, continue son parcours jusqu'au codon d'initiation codant pour ATF4, laissant ainsi plus de temps pour acquérir le complexe ternaire rare : la traduction d'ATF4 se réalise alors (**Figure 6**).

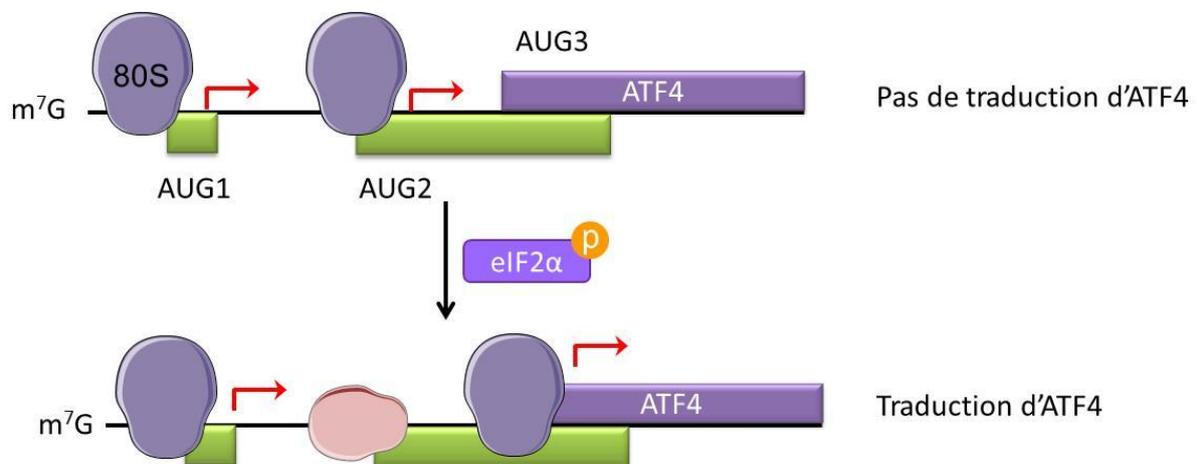


Figure 6 : Traduction sélective d'ATF4 lors d'un stress. En absence de stress, eIF2 α peut se lier au GTP et ainsi permettre la formation du complexe ternaire eIF2-GTP-Met-tRNA_i^{Met}, nécessaire pour la formation du complexe d'initiation 80S. Lors d'un stress réticulaire, eIF2 α est phosphorylé et ne peut plus se lier à l'ARN de transfert initiateur nécessaire à la formation du complexe d'initiation 80S, qui se fait donc rare dans la cellule. ATF4 présente la particularité de présenter 2 cadres de lecture (■), un court et un long. Dans des conditions non stressées, le ribosome initie la traduction au niveau de ces deux cadres de lecture ne permettant pas la production d'ATF4. En revanche, lors d'un stress, du fait de la rareté du complexe ternaire eIF2-GTP-Met-tRNA_i^{Me}, celui-ci a le temps d'être recruté pour induire l'expression d'ATF4.

Aussi, ATF4 est également impliqué dans cette répression traductionnelle. En effet, il induit l'expression d'4E-BP1 (*Eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1*) un répresseur d'eIF4E du complexe protéique eIF4F, impliqué dans la traduction cap-dépendante (54) (**Figure 7**).

De plus, l'activation de la voie PERK/eIF2 α serait nécessaire pour la diminution de la biogénèse ribosomale, très coûteuse sur le plan énergétique. En effet, lors d'un stress le complexe de pré-initiation des ARNr est perturbé par une dissociation PERK-dépendante, de la Polymérase 1 et de RRN3 (*RNA polymerase I-specific transcription initiation factor*) du promoteur des ARNr, impliqué dans la

transcription des gènes codant pour des sous unités ribosomales. De plus, la phosphorylation d'eIF2 α inhibe la traduction des ARNs ribosomiaux dans le nucléole. En effet, une partie d'eIF2 α se localise dans le noyau et communique ainsi avec le nucléole (55).

Pour conclure, cette branche PERK/eIF2 α /ATF4 lors d'un stress réprime la traduction des ARNm ainsi que la biogénèse des ribosomes, contribuant à la réduction de la synthèse protéique dans la cellule.

La branche IRE1 :

IRE1 β induit également une répression traductionnelle par la dégradation de l'ARN ribosomale 28S atténuant la synthèse protéique dans les tissus spécifiques où cette isoforme est exprimée (24).

De plus, l'activité RIDD d'IRE1 α participe à la réduction du flux protéique (**Figure 7**). En effet, lors d'un stress IRE1 dégrade rapidement des ARNm (environ 120) localisés à la membrane du RE, présentant un motif particulier au niveau de leur séquence « *XBP1-like Stem-Loop* » (56–58). Aussi, il a été démontré que l'ARNm substrat de RIDD, devait présenter un statut traductionnel particulier induit par l'inhibition de la traduction par la branche PERK de l'UPR. En effet, la liaison physique des ribosomes, ou la modification de la structure secondaire de l'ARNm par cette liaison, peuvent influencer l'accessibilité de la structure « *XBP1-like Stem-Loop* » à IRE1 α . Cependant, si IRE1 α est hyperactivé cette spécificité additionnelle de PERK ou de la structure « *XBP1-like Stem-Loop* » ne sont plus nécessaires (58). Cela prévient alors la traduction de protéines au niveau du RE, avant les mécanismes protecteurs du facteur de transcription XBP1.

Aussi, l'ARNm de CREP, impliqué dans la déphosphorylation d'eIF2 α , est dégradé par l'activité RIDD d'IRE1 α (59). Cela contribue au maintien de la phosphorylation d'eIF2 α et donc de cette répression traductionnelle.

Ainsi, IRE1 a donc un rôle parallèle avec la branche PERK pour réduire le flux protéique général au niveau du RE, libérant ainsi la charge sur celui-ci, mais aussi sur la machinerie transcriptionnelle et traductionnelle, nécessaire pour le nouveau flux protéique induit par l'UPR.

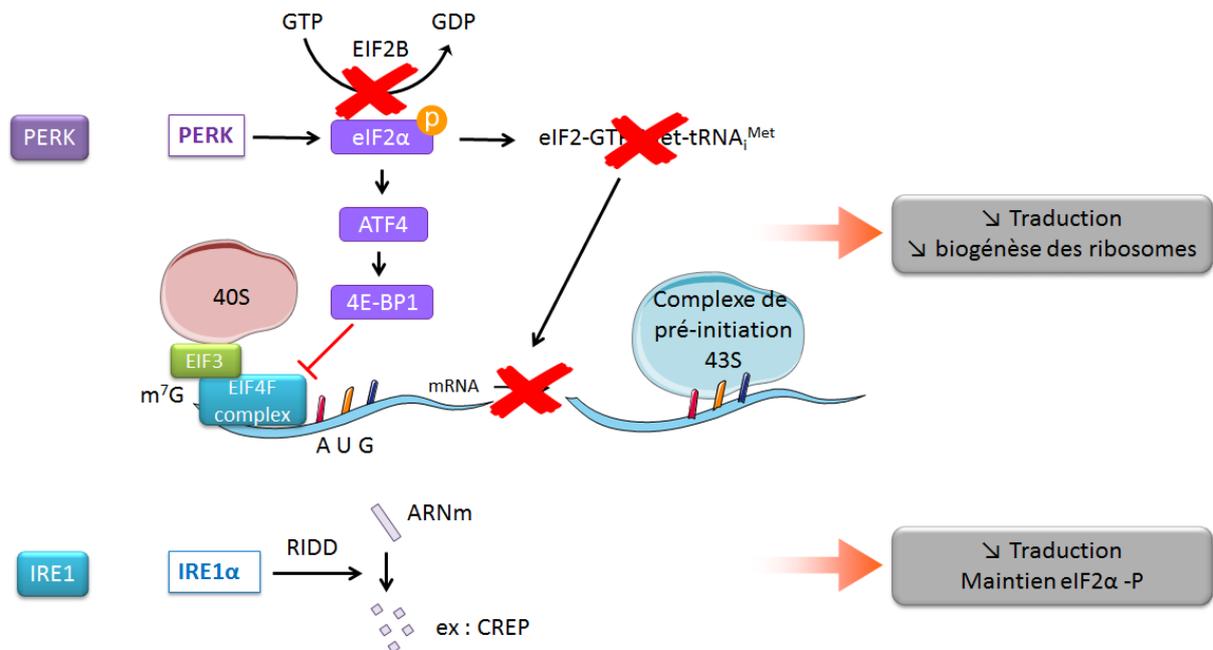


Figure 7 : Réduction de la traduction protéique au cours de l'UPR. Lors d'un stress, la phosphorylation d'eIF2 α par PERK provoque une diminution du complexe ternaire eIF2-GTP-Met-tRNA_i^{Met} nécessaire à la formation du complexe de pré-initiation 43S. La traduction sélective d'ATF4 permet l'induction de 4E-BP1, un répresseur du complexe EIF4F impliqué dans la traduction cap-dépendant. Aussi, PERK perturberait le complexe de pré-initiation des ARN ribosomiaux. Ainsi, l'activation de la voie PERK lors d'un stress entraîne un arrêt global de la traduction et une diminution de la biogénèse des ribosomes, atténuant ainsi la traduction protéique. De plus, IRE1 α par son activité RIDD permet la dégradation d'ARNm dont CREP impliqué dans la déphosphorylation d'eIF2 α .

I.2.1.3. Réduction de l'adressage des protéines au RE

Lors d'un stress du RE, la translocation des protéines de la voie sécrétrice vers le RE est atténuée. Ainsi les protéines restent dans le cytoplasme où elles sont dégradées par le protéasome (60,61).

I.2.2. Augmentation de la capacité de repliement des protéines

L'activation de la voie UPR va permettre l'expression de protéines chaperons, de co-chaperons et de PDI (*Protein Disulfide Isomerase*), au sein du RE, qui sont des protéines qui interviennent dans le repliement des protéines. Ainsi, l'UPR va augmenter la capacité du système de repliement protéique du RE pour conduire à l'homéostasie.

I.2.2.1. Protéines chaperons

L'induction des protéines chaperons par la voie UPR est principalement engendrée par les facteurs de transcription, XBP1s et ATF6f des branches IRE1 α et ATF6 respectivement. En effet, les gènes codant pour des protéines chaperons possèdent le motif ERSE dans leur promoteur nécessaire pour l'induction de leur

transcription. De ce fait, il a été démontré qu'ATF6f et XBP1s induisaient des protéines chaperons comme GRP78, GRP170, GRP94 ou encore la Calréticuline (62).

En plus de l'induction des protéines chaperons, celles-ci sont transportées préférentiellement dans le RE, là où les protéines mal-conformées se sont accumulées (60).

I.2.2.2. Co-chaperons

Associé à cette augmentation de l'expression des protéines chaperons, l'UPR induit également l'expression de protéines co-chaperons qui augmentent l'activité des protéines chaperons de la famille des HSP70 et HSP90 par la stimulation de leur activité ATPase. Ainsi ATF6f et XBP1s induisent l'expression de co-chaperons comme p58^{IPK} (aussi appelé DNAJC3 *DnaJ homolog subfamily C member 3*), ERdj3 (*Endoplasmic reticulum DNA J domain-containing protein 3*, aussi appelé DNAJB11) et ERdj4 (*Endoplasmic reticulum DNA J domain-containing protein 4*, aussi appelé DNAJB9) (62,63).

I.2.2.3. Les PDI

La lumière du RE est un environnement oxydant crucial pour la formation des ponts disulfures dans les protéines. Cette réaction est catalysée par les protéines disulfures isomérases (PDI). ATF6f et XBP1s induisent plusieurs PDI dont PDI-A4 (*Protein disulfide-isomerase A4*, aussi appelé ERp72 *Endoplasmic reticulum resident protein 72*), PDI-A6 (*Protein disulfide-isomerase A6*, aussi appelée PDI-P5) et PDI-A3 (aussi appelé GRP58 ou ERp57) (62,63). Aussi, l'induction de la voie UPR, en particulier via ATF6f, induit l'expression d'ERO1 (*ER oxidoreductin*), une oxydoréductase nécessaire pour la réoxydation des PDI après oxydation de leurs substrats (62).

I.2.3. Biogénèse du RE

L'activation de la voie UPR intervient dans la biogénèse du RE, en augmentant sa taille et en induisant l'expression de protéines réticulaires impliquées dans son fonctionnement, ce qui améliore sa capacité de production des protéines et leur bon repliement.

Ainsi, il a été démontré que l'expression d'XBP1s entraînait l'augmentation de la taille du RE mais aussi d'autres organelles comme la mitochondrie, le lysosome mais aussi la taille cellulaire (63–66). Ce phénomène d'expansion pourrait s'expliquer en partie par l'induction de la biosynthèse de la phosphatidylcholine, un phospholipide prédominant dans les membranes du RE. En effet, XBP1s augmenterait l'activité de deux enzymes, CCT (*Cytidyllyltransferase*) et CPT (*Cholinephosphotransferase*), impliquées dans la biosynthèse de ce phospholipide. Cela peut être corrélé avec les observations réalisées sur des cellules sécrétrices (plasmocytes, cellules pancréatiques) où l'augmentation de la taille du RE est importante pour le développement de ces cellules et où XBP1s joue un rôle central (64,67).

De plus, la branche ATF6 contribuerait également à ce phénomène d'expansion du RE. En effet, ATF6 α serait aussi impliqué dans la biosynthèse de la phosphatidylcholine mais de manière différente d'XBP1s, par l'augmentation de l'activité enzymatique de la CK (*Choline Kinase*) (68) (**Figure 8**).

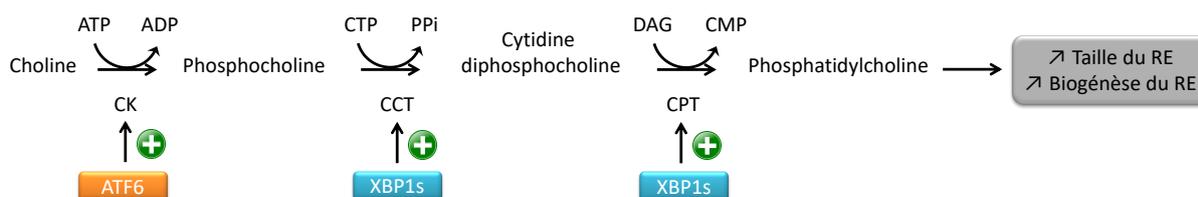


Figure 8 : Biosynthèse de la phosphatidylcholine. La choline kinase (CK) permet le transfert d'un phosphate à partir de l'ATP sur la choline pour former la phosphocholine. Cette dernière est prise en charge par la Cytidyllyltransferase (CCT) permettant le transfert d'une cytidine phosphate à partir de la cytidine triphosphate (CTP), formant ainsi la cytidine diphosphocholine. La cholinephosphotransferase (CPT) catalyse alors le transfert d'un diacylglycérol (DAG) sur la phosphocholine, libérant ainsi la cytidine monophosphate (CMP), pour former la phosphatidylcholine. Comme que la phosphatidylcholine est un phospholipide prédominant de la membrane du RE, cela contribue à la biogénèse et à l'expansion du RE. ATF6 augmenterait l'activité enzymatique de la choline kinase et XBP1s celle de la CCT et de la CPT.

Aussi, il est à noter qu'une perturbation de l'homéostasie lipidique peut être à l'origine de l'activation de la voie UPR. En effet, des modifications de la composition lipidique des membranes du RE peuvent perturber l'homéostasie calcique, la translocation, le transport ou le trafic des protéines, causant ainsi un stress protéotoxique. De plus, ces lipides, notamment les acides gras saturés, peuvent également activer directement l'UPR indépendamment des protéines mal-conformées (69).

I.2.4. ERAD

I.2.4.1. Voie ubiquitine-protéasome (ERAD I)

La voie ERAD I consiste en la reconnaissance des protéines solubles à dégrader, puis à la rétrotranslocation de celles-ci vers le cytoplasme où la machinerie protéasomale se situe, suivi d'une polyubiquitinylation servant de signal pour la dégradation, et enfin se terminant par la dégradation des protéines par le protéasome (70) (**Figure 9**).

Reconnaissance :

Ainsi, dans un premier temps, les protéines mal-conformées sont reconnues par les protéines chaperons comme les membres de la famille HSP70 (ex : GRP78), HSP40 (ex : Erdj1-5), HSP90 (ex : GRP94), calnexine, calréticuline ou encore des PDI. Ces différentes protéines reconnaissent les protéines mal-conformées par l'exposition de domaines hydrophobes ou encore par l'exposition de certains motifs glucidiques.

L'activation de la voie UPR et en particulier IRE1 α et ATF6 via leurs facteurs de transcription XBP1s et ATF6f induisent l'expression de protéines chaperons impliquées dans la reconnaissance de ces protéines mal-conformées pour être dégradées au niveau du protéasome.

Rétrotranslocation :

Ensuite, ces protéines seront amenées au niveau de la machine de rétrotranslocation (rétrotranslocon) et/ou auprès d'une E3 ligase, nécessaire pour la rétrotranslocation des protéines du RE au cytoplasme. Ainsi, différentes protéines interviennent lors de cette étape, comme HERP (*HomoCystéine induced ER protein*) qui sert de récepteur des protéines non glycosylées, ou encore EDEM (*ER degradation-enhancing α mannosidase-like lectin*), OS-9 (*protéine ostéosarcome 9*) et XTP3-B (*XTP3-transactivated gene B protein*) reconnaissant les protéines mal-conformées glycosylées.

Ainsi, il a été démontré que XBP1s de la branche IRE1 α induisait l'expression d'EDEM (29,63,71), EDEM2(72) et HERP (28,63). Du fait de l'hétérodimérisation d'ATF6f avec XBP1s pour induire les gènes dont les promoteurs présentent le motif UPRE, la branche ATF6 serait également impliquée dans l'induction de certains gènes de la voie ERAD (28).

La rétrotranslocation se réalise grâce à différents complexes qui permettent de former un canal au niveau de la membrane du RE et donc la sortie des protéines précédemment liées à des protéines interagissant avec ce complexe. Le canal de rétrotranslocation est formé du complexe protéique Sec61 (*Protein transport protein SEC61*), des protéines de la famille Derlin mais aussi de certaines E3 ubiquitine ligase.

Lors d'un stress, la branche IRE1/XBP1 induirait l'expression des protéines Derlin 1, 2 et 3 et accélérerait ainsi le processus ERAD (73). De plus cette même branche induit l'expression d'ERdj4 et RAMP4 (*Ribosome-attached membrane protein 4*) qui sont deux protéines qui seraient associées au complexe Sec61 (28,63,74,75).

Ubiquitylation :

La plupart des substrats ERAD seront poly-ubiquitylés pour être adressés et dégradés au protéasome. La conjugaison de l'ubiquitine nécessite d'abord l'activation d'une enzyme E1 (*E1 ubiquitin-activating enzyme*) pour réaliser une liaison thioester avec une molécule d'ubiquitine. Ensuite, cette molécule d'ubiquitine sera transférée à l'enzyme E2 (*E2 ubiquitin-conjugating enzyme*). Puis la liaison covalente de l'ubiquitine au substrat ERAD est catalysée par l'enzyme E3 ubiquitin-ligase.

L'activation de la voie UPR induit l'expression d'E3 ubiquitin-ligase comme HRD1 (*HMG-CoA reductase degradation protein 1*), dont l'expression serait dépendante des branches IRE1/ATF6 (28,76).

Dégradation au protéasome :

Une fois polyubiquitylée, la protéine est reconnue par des récepteurs au niveau du protéasome 26S. Le protéasome 26S est formé de deux sous-unités régulatrices 19S et d'un cœur catalytique 20S. Afin d'améliorer l'efficacité de dégradation, la protéine pourra être dé-ubiquitylée et/ou déglycosylée par des enzymes. Le substrat entre ensuite au niveau du site catalytique 20S du protéasome, où il est clivé en petits fragments peptidiques. L'ubiquitine générée par ce processus pourra être recyclée.

Une enzyme de déubiquitylation USP14 (*Ubiquitin Specific Protease 14*) se lierait à la forme inactive d'IRE1 α dans des conditions normales. Lors d'un stress,

l'activation de la voie UPR, entrainerait la dissociation d'USP14 permettant son action pour cette dernière étape de l'ERAD I (77).

La branche PERK/NRF2 est également impliquée dans la voie de dégradation ERAD. En effet, NRF2 induit l'expression du protéasome 26S (78), 19S ainsi que de 12 des 14 sous-unités du protéasome 20S (79,80).

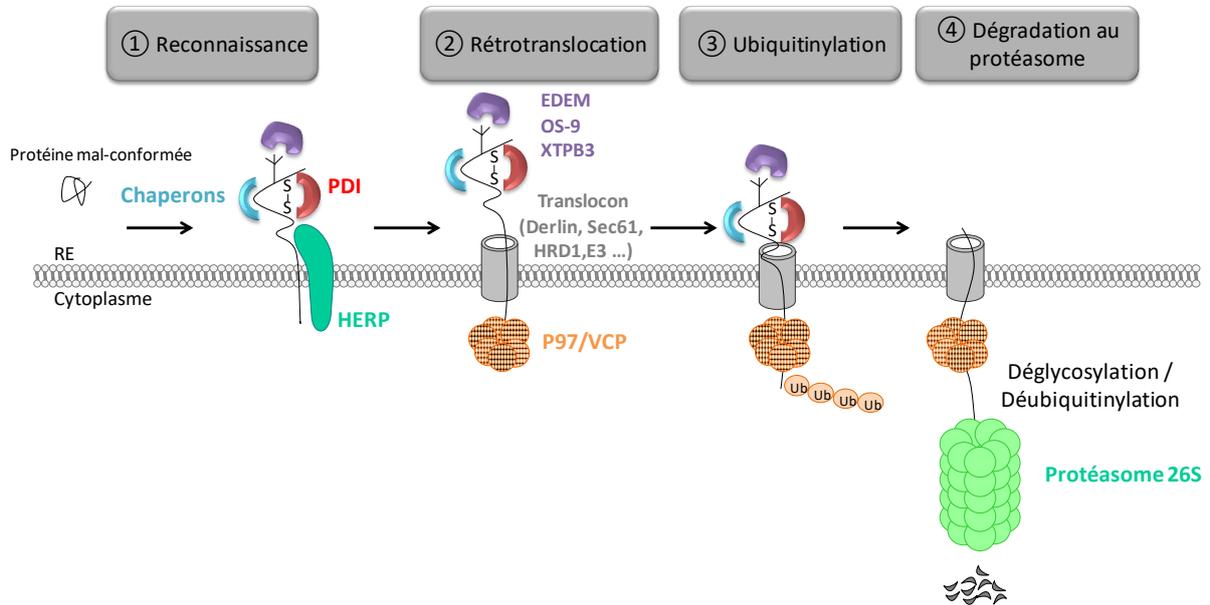


Figure 9 : ER-associated degradation I (ERAD I). Les protéines mal-conformées sont reconnues par différentes molécules comme les protéines chaperons, les PDI, HERP, EDEM etc. en fonction de leurs particularités. La protéine entre ensuite en contact avec la machinerie de la rétrotranslocation (Sec61, Derlin, E3 ubiquitine ligase ...) nécessaire pour son passage du RE au cytoplasme. Ensuite, la plupart de ces protéines seront poly-ubiquitinylées pour être adressées et dégradées par le protéasome.

I.2.4.2. Autophagie (ERAD II) :

L'autophagie est une autre voie de dégradation des protéines induite par l'UPR. En effet, si l'efficacité de la voie ERAD I est compromise, les protéines peuvent s'agréger. L'autophagie permet alors de capturer les protéines solubles et insolubles dans une structure composée d'une double membrane phospholipidique, appelée autophagosome, qui sera délivrée au lysosome pour dégradation. L'autophagie permet également de recycler des organelles endommagées ou non fonctionnelles. Ainsi, la formation de l'autophagosome comprend différentes étapes : l'induction, la nucléation, l'élongation et la maturation de l'autophagosome (81,82) (**Figure 10**).

Induction de l'autophagosome :

L'induction de l'autophagie est réalisée par l'activation du complexe ULK1 (*Unc-51-like kinase 1*) formé d'ULK1, ATG13 (*Autophagy-related protein 13*), FIP200

(*FAK family kinase-interacting protein of 200 kDa*) et ATG101. Celui-ci permet l'induction de la double membrane ou l'isolation de la membrane connue sous le nom de phagophore. La double membrane peut être formée à partir des structures du RE, du Golgi, de la mitochondrie, ou issue de la synthèse de novo, en fonction du type cellulaire, du stress inducteur et de l'étendu de l'autophagosome à produire. Ce complexe est modulé par différentes phosphorylations d'ULK1 menant à son activation ou à son inhibition. Le complexe mTORC1 formé entre autre de mTOR, Raptor, mLST8/GβL (*Mammalian lethal with SEC13 protein 8*), pRAS40 (*Proline-rich AKT1 substrate 1*) et DEPTOR (*DEP domain-containing mTOR-interacting protein*), est un régulateur clé de l'autophagie. En effet, dans des conditions normales, celui-ci phosphoryle la sérine 757 d'ULK1 déstabilisant sa liaison avec AMPK (*Adenosine Monophosphate-Activated protein kinase*) nécessaire pour son activation, c'est donc un inhibiteur de l'induction de l'autophagie (83). AMPK est le principal senseur de l'énergie intracellulaire (senseur du ratio ATP/AMP), qui dans des conditions de stress ou de privation en nutriment se lie à ULK1 et le phosphoryle à plusieurs endroits permettant son activation (84). De plus l'activation d'AMPK entraîne la phosphorylation de TSC (*Tuberous Sclerosis Complex*), une *GTPase Activating Protein*, impliquée dans la régulation de ce complexe mTORC1 et permet ainsi d'enlever cette inhibition de l'autophagie par ce dernier. De plus, le RE étant la principale organelle de stockage du calcium intracellulaire, peut relarguer suite à un stress cet ion dans la cellule (85). L'augmentation de la concentration intracellulaire en calcium est également impliquée dans l'induction de l'autophagie, par une voie impliquant la CaMKK-β (*Ca²⁺/Calmodulin-dependent kinase kinase- β*) nécessaire pour l'activation d'AMPK, impliquée dans la régulation négative de mTOR, un inhibiteur de l'autophagie (86,87).

Ainsi, l'activation de la voie UPR est impliquée dans cette étape d'induction de l'autophagosome. En effet, CHOP le facteur de transcription induit par ATF4 de la branche PERK de l'UPR permet l'expression d'ERO1α une oxydoréductase impliquée dans la formation des ponts disulfures des protéines au sein du RE. La surexpression d'ERO1α stimulerait l'activité du récepteur à l'inositol 1,4,5-triphosphate (IP3R), entraînant la libération de calcium dans la cellule et ainsi l'autophagie (88). De plus, BCL-2 (*Apoptosis regulator Bcl-2*), localisé au niveau du RE, jouerait également un rôle dans le stockage du calcium dans cette organelle (89). Ainsi, la diminution de la quantité en BCL-2, induite par CHOP (90) mais aussi la phosphorylation de BCL-2 par JNK (91,92), affecterait sa fonction et entrainerait la

libération de calcium dans la cellule, induisant l'autophagie. Enfin, ATF4/CHOP induisent des inhibiteurs de mTORC1 : DDIT4 (*DNA damage-inducible transcript 4 protein*) (93) et TRB3 (*Tribbles 3*)(94–96), et donc contribuent à l'activation de l'autophagie.

Nucléation :

Le complexe Beclin 1/PI3K (*Phosphatidyl Inositol 3 kinase*) permet la nucléation, l'incurvation du pré-autophagosome et la construction de l'autophagosome (97). Ce complexe est responsable de la formation de PI3P (*phosphatidylinositol 3-phosphate*) nécessaire pour le recrutement d'effecteurs. Il existe deux complexes PI3K, formés de Vps34 (*Phosphatidylinositol 3-kinase VPS34*), p150, Beclin-1, ATG14L (pour le complexe 1 PI3K) ou UVRAG (*UV radiation resistance-associated gene protein*) (pour le deuxième complexe PI3K). Dans des conditions normales, Beclin-1 interagit avec BCL-2, empêchant ainsi la formation de ce complexe (98).

L'activation de la voie IRE1 α /TRAF2/JNK serait impliquée dans cette étape de nucléation de l'autophagie. En effet, Ogata et al. ont montré que la formation des autophagosomes dans des cellules de neuroblastome était induite lors d'un stress et l'inhibition d'IRE1 α et/ou de JNK inhibait ce phénomène (35). Cependant, la formation des autophagosomes dans ce type cellulaire ne serait pas impactée par l'inhibition d'ATF6 et de PERK. Le mécanisme par lequel cette branche de l'UPR induirait l'autophagie serait en partie lié à la phosphorylation de BCL-2 par JNK entraînant sa dissociation de Beclin-1 nécessaire pour la formation du complexe avec PI3K (92). Ainsi l'activation de JNK dans les phases précoces activerait l'autophagie cytoprotectrice, alors qu'une activation prolongée dans le temps de JNK induirait l'apoptose (35). De plus, comme détaillé précédemment, la diminution de la quantité en BCL-2 par CHOP participerait également à cette dissociation de Beclin-1/PI3K (90). Enfin, il a été démontré qu'ATF4 induit l'expression de Beclin 1 (99).

La branche ATF6 serait également impliquée dans cette étape de l'autophagie mais par une voie qui serait dépendante de l'IFN γ . En effet cette cytokine de défense contre les pathogènes induirait l'hétérodimérisation d'ATF6f avec C/EBP- β préalablement activé, pour induire l'expression de DAPK1 (*Death Associated protein Kinase 1*) (100). Le mécanisme d'action de DAPK1 dans l'autophagie serait multiple : DAPK1 phosphorylerait Beclin-1 entraînant sa dissociation de BCL-2(101),

et il se lierait également à MAP1B (*Microtubule-associated protein 1B*) impliqué dans l'élongation de l'autophagosome (102).

Expansion et élongation de la vésicule :

L'élongation de l'autophagosome se réalise par deux systèmes de conjugaison, analogues aux systèmes d'ubiquitinylation des protéines.

Le premier est un complexe formé d'ATG12/ATG5/ATG16L1, nécessaire pour la formation de la membrane. ATG12 est d'abord activé par ATG7 (analogue de l'enzyme E1) par une réaction ATP dépendante. Ainsi, ATG12 peut se lier de manière covalente à ATG5 grâce à l'intervention d'ATG10, puis ensuite ce complexe ATG12-ATG5 peut recruter ATG16-L1. Ce dernier complexe permet alors le recrutement d'un autre complexe MAP1LC3 sur l'autophagosome en formation.

Ce complexe MAP1LC3 (*Microtubule-associated proteins 1A/1B light chain 3B*) aussi appelé LC3 intervient dans la biogénèse de l'autophagosome. La protéase ATG4B clive le résidu arginine du précurseur LC3 (proLC3) pour produire LC3-I situé dans le cytosol. La liaison covalente au phosphatidyléthanolamine (PE) par ATG7 et ATG3 (enzyme E2) permet de former LC3-II, associé à l'autophagosome. Cette conversion LC3-I en LC3-II est notamment utilisée comme un marqueur cellulaire d'identification et de suivi des autophagosomes. LC3 fait partie de la famille d'ATG8 qui comprend également les *γ aminobutyric acid receptor-associated proteins* (GABARAPs), qui sont des protéines qui s'intègrent également à la membrane de l'autophagosome. Ainsi, ces protéines interviennent dans l'élongation et le recrutement d'effecteurs et de récepteurs pour la capture des substrats à éliminer comme p62 (Sequestosome-1), qui agit comme un récepteur des substrats ubiquitinylés, ou encore NBR1 (*Next to BRCA1 gene 1 protein*).

Lors d'un stress, la branche PERK/eIF2α/ATF4/CHOP contribue à cette étape d'élongation de l'autophagosome (99,103). En effet, ATF4 permet l'induction de la transcription des gènes codant pour les deux systèmes de conjugaison impliqués dans l'élongation de l'autophagosome : ATG16L1, ATG12, MAP1LC3, ATG3 et GABARAP-L2 via sa liaison au motif AARE (*amino acid response elements*) aussi appelé CARE (*C/EBP-ATF Response Element*) présent sur le promoteur de ces derniers (99,103). De plus, ATF4 s'hétérodimérise avec CHOP pour induire l'expression d'ATG7, NRB1, P62 (99,103). Enfin, CHOP se lie sur le motif CHOP-RE des promoteurs d'ATG10, GABARAP et ATG5 pour induire leurs expressions (99,103).

En revanche, XBP1 de la branche IRE1 α a montré un effet inhibiteur sur cette étape de l'autophagie. En effet, XBP1 inhiberait FoxO1 (*Forkhead box protein O1*) un inducteur de l'autophagie, suggérant la dualité d'action de cette voie de signalisation en réponse aux protéines mal-conformées(104–106).

Maturation de l'autophagosome :

L'étape finale de l'autophagie comprend le transport de l'autophagosome par le réseau de microtubule et la fusion de celui-ci avec les lysosomes, pour former l'autolysosome, dans lequel le contenu sera dégradé par des hydrolases résidentes.

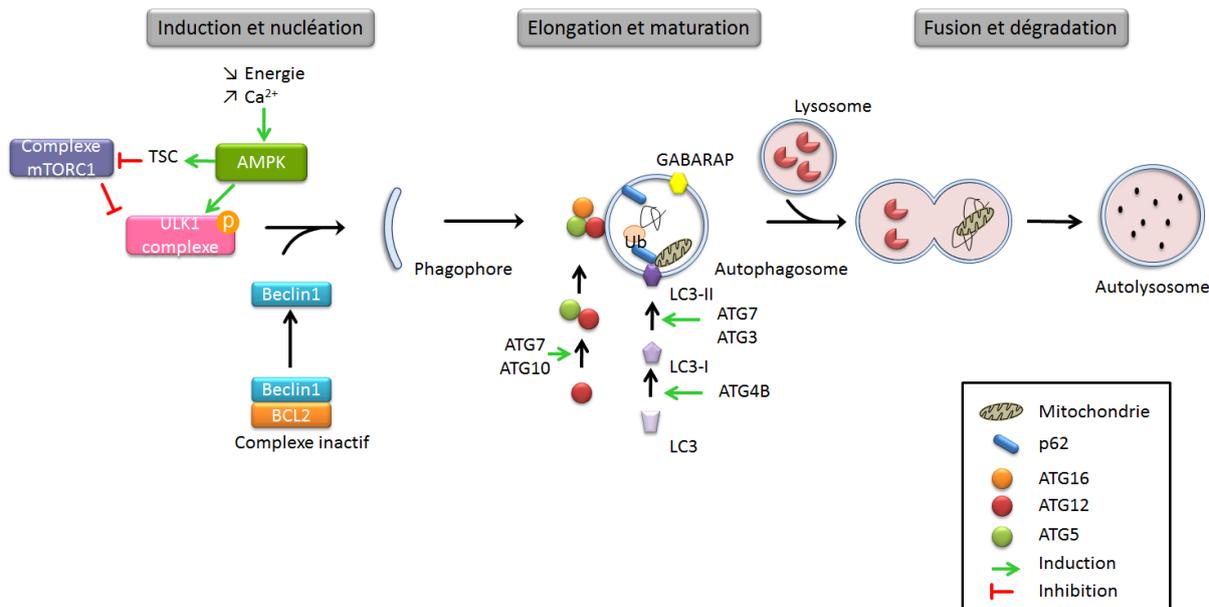


Figure 10 : **Autophagie (ERAD II)**. L'autophagie est initiée par le complexe ULK1, permettant la formation de la double membrane appelée phagophore. Ce complexe est modulé positivement par l'AMPK, senseur de l'énergie intracellulaire, et négativement par le complexe mTORC1. Le recrutement de Beclin1 après dissociation avec BCL-2 permet la nucléation, l'incurvation du pré-autophagosome et la construction de l'autophagosome. Ensuite, l'élongation de celui-ci est réalisée par deux systèmes ATG12/ATG5/ATG16L1 et LC3/GABARAP. Ceux-ci sont également impliqués dans le recrutement d'effecteurs nécessaires à la capture des substrats à éliminer. Ensuite cet autophagosome sera fusionné aux lysosomes, pour former l'autolysosome dont le contenu sera dégradé par les hydrolases lysosomales.

I.2.5. Métabolisme

L'UPR permet de restaurer l'homéostasie protéique en augmentant principalement les capacités de repliement et de dégradation des protéines. Cependant, d'un point de vue métabolique, cela est consommateur en énergie (ex : besoin d'ATP pour l'activité des protéines chaperons), en acides aminés (ex : pour la synthèse des protéines), mais aussi en sucres (ex : pour les modifications post-traductionnelles).

Ainsi, l'activation de la branche PERK induit l'expression de transporteurs d'acides aminés (*neutral amino acid transporter*), d'enzymes impliquées dans la synthèse des acides aminés (*Asparagine synthetase*, *aspartate amino-tranférase*, *pyrroline-5carboxylate reductase*), dans la liaison des acides aminés aux ARNt pour la traduction (*Trp-tRNA-S*, *glycyl-tRNA synthetase*) ou encore dans le métabolisme glucidique (*glutamine-fructose 6 phosphate amidotransferase*) (107). La réponse de l'UPR via PERK est anticipatrice c'est-à-dire qu'elle est initiée par le flux protéique et non par la déplétion en acides aminés qui active GNC2 et phosphoryle eIF2 α également (37) .

I.2.6. Réponse antioxydante

Lors d'un stress du RE, des espèces réactives de l'oxygène (aussi appelés ROS : *Reactive Oxygen Species*) peuvent être générées suite aux processus métaboliques cellulaires (comme la phosphorylation oxydative). Face à ce stress oxydant, il est ainsi nécessaire et vital pour la cellule de détoxifier ces composés.

Ainsi, l'activation de la voie UPR et en particulier de la branche PERK via ATF4 et Nrf2 induit une réponse antioxydante (46).

En effet, Nrf2 via sa liaison sur le motif ARE des promoteurs, induit l'expression d'enzyme antioxydantes comme NQO1 (*NADPH Quinone Oxydoreductase 1*)(108), HO-1 (*Heme oxygenase 1*), GST (*Glutathione S-transferase*)(109), GCLC (*γ glutamylcysteine synthetase*)(110), ainsi que le transporteur cellulaire *cysteine-glutamate exchange transporter*(111), empêchant l'efflux du glutathion. Aussi, ATF4 augmente la biosynthèse du glutathion, essentiel pour l'élimination des ROS (112).

I.2.7. Connexion avec des voies de survie cellulaire

Par l'ensemble des mécanismes adaptatifs induits par l'UPR l'activation de cette voie permet de rétablir l'homéostasie protéique et contribue ainsi, à la survie des cellules. En plus de cela, il a été démontré que l'activation de la voie UPR induisait des mécanismes de pro-survie.

En effet, Guo et ses collègues ont montré qu'XBP1s induisait la voie ERK1/2 (*Extracellular signal-regulated kinase 1/2*), impliquée dans la survie cellulaire (113) et diminuait l'expression de CHOP favorisant la croissance des chondrocytes (114).

De plus, l'activation de la voie UPR entraîne l'activation de la voie de pro-survie NFκB (*Nuclear factor NF-kappa-B*): IRE1 interagit avec IKK (*Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase*) pendant le stress, permettant la phosphorylation d'IκBα qui sera dégradé par le protéasome. IκB forme un complexe avec NFκB le facteur de transcription. La phosphorylation d'IκB entraîne une dissociation du complexe avec NFκB qui peut aller au noyau et induire les gènes de pro-survie. PERK contribue également à l'activation de la voie NFκB du fait de l'arrêt de la traduction globale qui entraîne une diminution de la traduction d'IκBα et qui présente une courte demi-vie (115). Ainsi, IRE1α est un pivot du destin cellulaire car il intervient aussi bien dans la survie cellulaire mais aussi dans la mort cellulaire (116).

Enfin, pendant la phase adaptative CHOP induit TRB3 (Tribbles 3) cytoplasmique permettant la translocation de la procaspase 3 dans le noyau la protégeant de son activation et contribuant à la survie cellulaire (117) .

I.3. La mort cellulaire

Il existe deux formes de mort cellulaire : l'apoptose et la nécrose. La première est une mort cellulaire programmée, conduisant à la condensation nucléaire et cytoplasmique en vésicules, ou corps apoptotiques, et où l'intégrité de la membrane plasmique est conservée. Ces vésicules seront ensuite reconnues et dégradées par des macrophages de l'environnement : l'homéostasie tissulaire est donc maintenue. Il existe différentes voies d'activation de l'apoptose cellulaire dont la voie extrinsèque, stimulée par des signaux de morts extracellulaires, et la voie intrinsèque mitochondriale. A l'opposé, la nécrose quant à elle est une mort cellulaire qui survient généralement lors d'un dommage tissulaire, par lequel la cellule va gonfler et éclater, déversant ainsi son contenu dans le tissu environnant et provoquant une inflammation de celui-ci (118).

Il est admis que lorsque le stress est trop intense ou de durée trop importante, la voie UPR peut induire la mort cellulaire, protégeant ainsi l'organisme des cellules présentant des protéines mal-conformées et potentiellement toxiques. Différents mécanismes induits par l'UPR mènent à la mort cellulaire, en particulier par le facteur de transcription CHOP, qui est induit principalement par la voie PERK et dont l'inhibition *in vitro* et *in vivo* contribue à la survie cellulaire ; mais également par les autres branches de l'UPR comme la voie IRE1α.

I.3.1. La voie intrinsèque mitochondriale de l'apoptose

I.3.1.1. Présentation de la voie mitochondriale de l'apoptose

La voie intrinsèque de l'apoptose peut être induite par la voie extrinsèque ou encore par la dérégulation de la balance entre les protéines pro-apoptotiques et les protéines anti-apoptotiques Bcl-2. Ces dernières séquestrent des protéines apoptotiques comme Bad, Bax, Bim, Noxa ou encore Puma. Bax et/ou Bak lorsqu'ils sont libres peuvent former des canaux au niveau de la membrane mitochondriale, conduisant à l'augmentation de la perméabilité de cette organelle. Cela est alors responsable de la libération de protéines dans le cytoplasme comme le cytochrome c. Cette protéine recrute alors APAF-1 (*Apoptosis activating Factor-1*) pour former le complexe cytosolique d'apoptosome, nécessaire pour le recrutement et l'activation de la pro-caspase 9, puis de la pro-caspase 3. Les caspases sont des protéases à cystéines qui induisent la protéolyse de protéines cibles, elles sont dites activatrices ou effectrices en fonction de leur rang dans la cascade. Elles existent sous forme de pro-enzymes inactives au sein du cytoplasme (**Figure 11**).

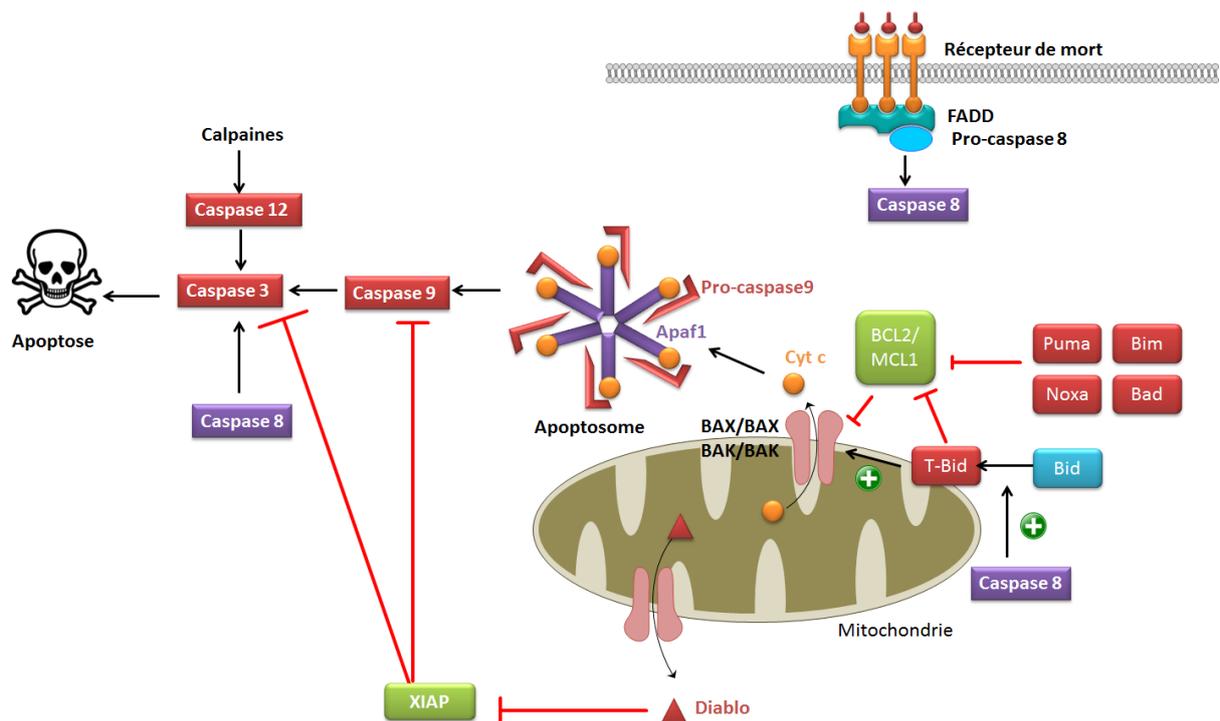


Figure 11 : La réponse apoptotique. La voie extrinsèque de l'apoptose induit par l'activation de récepteur de mort permet l'activation de la caspase 8. Cette dernière peut induire la voie intrinsèque mitochondriale par le clivage de Bid en T-Bid impliqué dans la perméabilisation mitochondriale, mais peut également induire la cascade des caspases dont la finalité est l'apoptose. La voie intrinsèque mitochondriale est induite par un déséquilibre entre les protéines pro-apoptotiques (Bim, Bax, Bak, Puma, Noxa, Bad ...) et antiapoptotiques (Bcl2, Mcl1 ...). BAX et BAK forment des canaux au niveau de la mitochondrie permettant la libération du cytochrome c, qui, associé à APAF1 et la pro-caspase 9 forment l'apoptosome. Celui-ci permet l'activation de la cascade des caspases et donc de l'apoptose. Il y a également libération de diablo, un inhibiteur de XIAP lui-même inhibiteur de certaines caspases.

I.3.1.2. Implication de CHOP dans la voie mitochondriale

Le facteur de transcription CHOP, de la famille C/EBP, présente dans son promoteur deux motifs distincts : ERSE et C/EBP-ATF(119). Ainsi, il est donc induit par ATF4 (119), et pourrait être également induit par XBP1s et ATF6f via le motif ERSE, mais cette induction n'a pas été démontrée (63). CHOP peut être également induit par d'autres voies comme p38 MAPK (*Mitogen-activated protein kinase*) (120). Ainsi CHOP est un facteur de transcription résultant de l'activation d'une ou plusieurs voies de l'UPR.

CHOP contribue à l'induction de la voie intrinsèque de l'apoptose car il diminue l'expression des protéines anti-apoptotiques Bcl2, et augmente l'expression des protéines pro-apoptotiques comme Bim (121) et PUMA (122), faisant ainsi pencher la balance vers l'apoptose (90,123). CHOP induit également la translocation de BAX du cytosol à la mitochondrie contribuant à ce phénomène de perméabilisation mitochondriale (124).

De plus, CHOP induit une déplétion du stock cellulaire en glutathion GSH, élément essentiel pour la détoxification des radicaux libres, des espèces électrophiles et pour le maintien de l'intégrité des protéines en prévenant l'oxydation des thiols et en réduisant les ponts disulfures (90). Par cette action, CHOP contribue à la génération d'espèces réactives de l'oxygène ROS délétères pour la cellule. En effet, ceux-ci stimulent la dissociation du cytochrome c à la cardiolipine et contribuent également à la formation de pores mitochondriaux. Cette génération de ROS est renforcée par l'induction de l'expression d'ERO1 α par CHOP, une oxydase impliquée dans la formation des ponts disulfures dans les protéines. En effet, la surexpression d'ERO1 α est nocive pour la cellule car elle contribuerait à l'hyperoxydation de la lumière du RE, accentuant le mauvais repliement des protéines synthétisées et contribuant aussi à la formation de ROS impliqués dans la mort cellulaire (125).

Aussi, CHOP lorsqu'il dimérise avec ATF4, induit l'expression de TRB3 (*Tribbles 3*), une pseudokinase qui est impliquée dans le rétrocontrôle négatif de CHOP (94), et qui présente des fonctions anti-apoptotiques(117). Ainsi, TRB3 présente, comme l'UPR, une dualité d'action et est également impliquée dans l'apoptose des cellules. En effet, les produits générés par le clivage de TRB3 par la caspase 3 sont impliqués dans une boucle de rétrocontrôle positif de l'apoptose (117).

I.3.1.3. Implication de la voie PERK/ eIF2 α dans la voie mitochondriale

XIAP (*X-linked inhibitors of apoptosis*) est une protéine anti-apoptotique qui se lie aux caspases, bloquant ainsi leur activité protéolytique. L'activation de la voie PERK, en particulier lorsqu'eIF2 α est phosphorylé, diminue la traduction de cette protéine XIAP, qui, associé à l'augmentation de l'ubiquitination de XIAP par ATF4, promeuvent sa dégradation et donc contribuent au maintien de l'activité caspase (126). Aussi ATF4 serait essentiel à l'induction des protéines pro-apoptotiques Puma et Noxa (127).

I.3.1.4. Implication de la voie IRE1

La voie IRE1/TRAF2/ASK1/JNK est également impliquée dans l'apoptose. Les protéines JNKs appartiennent à la grande famille des MAPK, et son activation continue, par phosphorylation, est impliquée dans l'apoptose cellulaire, alors que son activation aiguë et transitoire serait impliquée dans la prolifération cellulaire, montrant encore la dualité d'action de cette voie UPR (128,129). JNK phosphorylé va au noyau où il active des facteurs de transcription comme AP1, Jun D, ATF2, ATF3 ou encore c-Myc et p53. JNK phosphoryle également les protéines BCL2 anti-apoptotiques supprimant leurs effets, et phosphoryle des protéines pro-apoptotiques Bim, Bmf activant leurs effets. JNK permet également le clivage de Bid en tBid impliqué dans la perméabilisation mitochondriale par l'inhibition des protéines Bcl-2 (130).

De plus IRE1 α interagit directement avec BAX et BAK. Cette interaction serait impliquée dans l'activation de la voie IRE1 α , indépendamment de la fonction pro-apoptotique de ces protéines, mais cela renforce le lien entre cette branche IRE1 α et le destin cellulaire (131).

I.3.2. La voie extrinsèque de l'apoptose

La voie extrinsèque de l'apoptose est induite par la liaison de ligands extracellulaires, signaux de morts, sur des récepteurs de morts. L'activation de ces récepteurs permet le recrutement et l'activation de la pro-caspase 8. Cette dernière peut induire la mort cellulaire par différentes voies : une voie directe par l'activation de la cascade des caspases ; ou encore par la voie mitochondriale par le clivage de Bid en tBid (**Figure 11**).

Ainsi, il a été démontré que CHOP induisait l'expression de DR5 (*Death receptor 5*), un récepteur de mort, renforçant la démonstration de son effet apoptotique dans l'UPR (132,133).

I.3.3. Apoptose induite par l'activation de la caspase 12

Le RE est la principale organelle responsable du stockage du calcium dans la cellule. La libération de calcium lors d'un stress, de l'ordre du millimolaire, permet l'activation de la m-calpain, une cystéine protéase impliquée dans le clivage de nombreux substrats et en particulier de la pro-caspase 12 en caspase 12 puis de la cascade des caspases (134). La libération de calcium jouerait donc un rôle supplémentaire dans l'induction de l'apoptose dans la cellule suite au stress du RE (**Figure 11**).

ERO1 α induit par CHOP contribue à la libération de calcium dans le cytoplasme, contribuant à l'induction de l'apoptose de manière calcium dépendant (88,118,134).

De plus, l'activation d'IRE1 α et β lors d'un stress, et en particulier de leur activité kinase, permet le recrutement de TRAF2. Dans les cellules non stressées, TRAF2 forme un complexe stable avec la pro-caspase 12. La dissociation de TRAF2/pro-caspase 12 lors d'un stress permet l'activation de cette caspase impliquée dans l'initiation de l'apoptose (33).

I.3.4. La mort cellulaire par autophagie

Il existerait une mort cellulaire programmée non apoptotique mais autophagique (135). En effet, une sur-activation de ce processus physiologique normalement protecteur, pourrait être délétère pour la cellule et contribuerait à la mort cellulaire. Ainsi plusieurs études démontrent cet effet néfaste, qui varie en fonction du type cellulaire étudié ainsi que de la nature et de la concentration de l'agent stresseur (136–140). Cependant, le lien de cause à effet entre l'autophagie et la mort cellulaire n'est pas clairement établi et cela fait l'objet de nombreux débats (141). L'UPR est notamment décrit pour induire l'autophagie.

I.3.5. Autres implications de l'UPR dans la mort cellulaire

L'activation de la voie UPR en particulier de la branche PERK conduit à la phosphorylation d'eIF2 α et cela a pour conséquence, entre autre, un arrêt global de

la synthèse protéique ainsi qu'une synthèse sélective de certaines protéines.

CHOP et ATF4 induisent l'expression d'un facteur de transcription ATF5, préférentiellement traduit lorsqu'eIF2 α est phosphorylé (142). ATF5 induit l'expression de gènes impliqués dans l'apoptose comme Noxa, Apaf-1. Aussi, la phosphorylation d'eIF2 α bloque l'expression des protéines de survie MCL1 (*Induced myeloid leukemia cell differentiation protein Mcl-1*) de la famille BCL2 et contribue ainsi à l'apoptose (143).

Enfin, IRE1 α est capable de dégrader des microARNs, qui sont des régulateurs négatifs de l'expression génique, et en particulier ceux qui répriment la traduction de l'ARNm de la caspase 2, entraînant l'entrée en apoptose(144). De plus, la destruction du microARN-17 augmente la stabilité de l'ARNm de TXNIP (*Thioredoxin-interacting protein*) qui active l'inflammasome NLRP3 (*NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3*), causant le clivage de la procaspase 1 et la sécrétion d'IL1 β (145). Aussi, l'activité RIDD serait un des points clés de l'orientation de l'UPR vers l'apoptose. En effet, il a été observé une augmentation de l'activité RIDD lorsque le destin cellulaire s'engage vers la mort (31).

I.4. Dualité de réponses de l'UPR

Dans la littérature, de nombreuses études étudient l'inhibition ou l'activation d'une branche de l'UPR pour en déterminer son effet sur un événement. Cependant, les trois branches de l'UPR fonctionnent simultanément au sein de la cellule. De plus, plusieurs divergences ont été observées dans les réponses induites par l'UPR. Cela peut être imputé aux variabilités des modèles cellulaires ainsi qu'aux agents stressés utilisés.

A travers cette présentation générale des effets de l'activation de la voie UPR, nous ne pouvons que confirmer sa dualité d'action sur le destin cellulaire. Ainsi, quand est-ce que la réponse induite par l'UPR conduit-elle à la mort cellulaire plutôt qu'à la survie ? Il s'agit là d'une information cruciale pour la recherche pharmaceutique, car des cibles potentielles pourraient n'être que transitoirement disponibles.

Différentes théories sont avancées comme l'activation préférentielle d'une branche plutôt qu'une autre, la cinétique d'activation des différentes branches de l'UPR, ou encore basée sur les rétrocontrôles entre les voies.

I.4.1. Hypothèse sur l'activation préférentielle d'une branche de l'UPR

Lin et ses collaborateurs ont pour la première fois essayé de trouver un rationnel moléculaire sur le destin cellulaire induit par l'UPR. Dans leurs travaux ils démontrent que les branches IRE1 α et ATF6 sont atténuées lors d'un stress persistant, alors que l'activation de la branche PERK persiste, notamment par l'expression de CHOP qui conduit à la mort cellulaire. Ainsi, ils concluent alors que l'activation des 3 branches lors d'un stress et en particulier d'IRE1 α offre une fenêtre d'opportunité pour rétablir l'homéostasie cellulaire. Si cette dernière n'est pas atteinte, les voies IRE1 α et ATF6 s'atténuent, faisant pencher la balance de la décision sur le destin cellulaire vers l'apoptose, où la voie PERK joue un rôle crucial (1) (Figure 12).

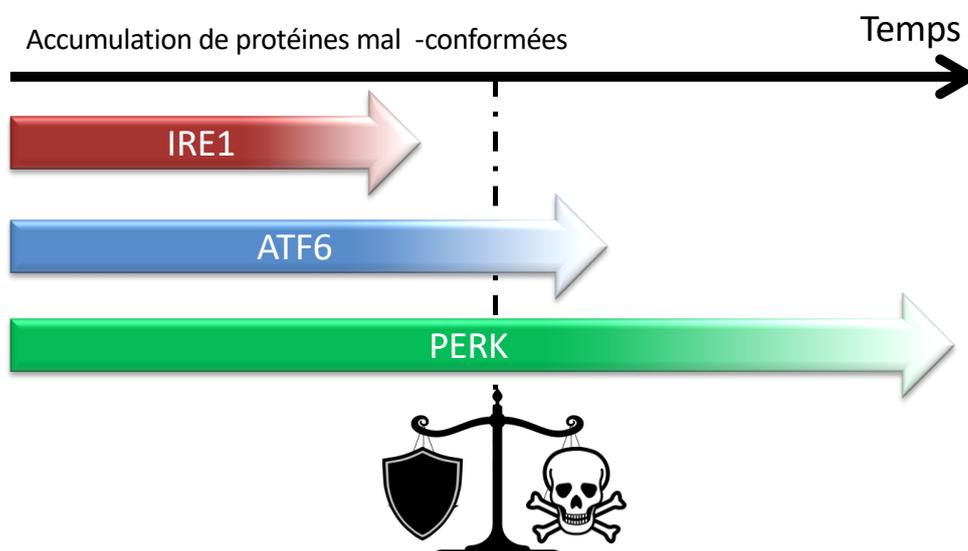


Figure 12 : Hypothèse sur l'activation préférentielle d'une branche de l'UPR sur le destin cellulaire. Lors d'un stress réticulaire, l'ensemble des branches de l'UPR sont activées. Lorsque le stress persiste les branches IRE1 et ATF6 s'atténueraient alors que la branche PERK persisterait pour conduire à la mort cellulaire.

I.4.2. Hypothèse sur la cinétique d'activation

Walter et ses collaborateurs suggèrent quant à eux que l'apoptose induit par l'UPR n'est pas due à l'activation préférentielle d'une des branches de l'UPR mais serait plutôt due aux différences de cinétique d'activation de celles-ci. Ils démontrent ainsi qu'un pic d'expression d'XBP1s de la voie IRE1 α apparaît plus rapidement dans les cellules qui survivent que dans les cellules qui succombent au stress. L'hypothèse émise est alors une réponse protectrice de la voie IRE1 α qui permet d'agir rapidement (la quantité d'XBP1s ne semble pas être déterminante dans cette réponse). De plus, ils ont montré qu'un faible taux d'expression du facteur de transcription ATF4 de la voie PERK permettait la survie cellulaire. Ainsi, ils concluent que si les cellules montrent un pic d'expression de ces deux facteurs de transcription,

XBP1s et ATF4, au même moment, les cellules succombent au stress. A l'inverse, un pic d'expression d'XBP1s précédant celui d'ATF4 serait plutôt un signe de survie cellulaire (146) (**Figure 13**).

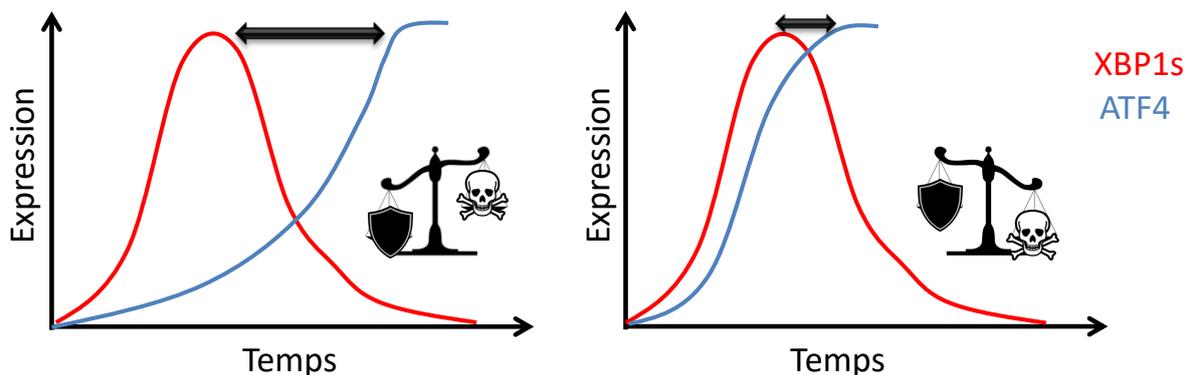


Figure 13 : **Hypothèse de la cinétique d'activation de l'UPR sur le destin cellulaire.** Un pic simultané d'expression d'XBP1s et d'ATF4 contribuerait à la mort cellulaire, alors qu'un pic d'expression décalé dans le temps serait plutôt favorable à la survie.

I.4.3. Hypothèse du déséquilibre des rétrocontrôles entre les branches de l'UPR

Une autre théorie repose sur les différents rétrocontrôles présents au niveau de cette voie UPR (**Figure 14**).

Tout d'abord il existe un rétrocontrôle négatif de la branche IRE1 α sur la branche PERK, en lien avec la première hypothèse. En effet, la branche IRE1 α par son facteur de transcription XBP1s induit l'expression de p58^{IPK} (*Protein kinase inhibitor of 58 kDa*) (63). Cette protéine appartenant à la famille des HSP40 interagit avec PERK pour inhiber son activité kinase, diminuant ainsi la phosphorylation d'eIF2 α et permettant le retour à la traduction globale des protéines, qui peut être délétère si l'homéostasie protéique n'est pas rétablie (147).

Aussi, il existe des rétrocontrôles négatifs au sein d'une même branche de l'UPR. En effet, au sein de la voie PERK, l'expression de GADD34 est induite par ATF4, permettant la déphosphorylation d'eIF2 α , réalisée préalablement par l'activation de PERK (148). De la même façon, il existe un rétrocontrôle négatif au sein de la branche IRE1 α . En effet, il a été démontré qu'XBP1u réprimait les facteurs de transcription XBP1s et ATF6f. En effet, XBP1u peut former un complexe avec XBP1s et ATF6f dans le noyau. Ces complexes seront dégradés dans le cytoplasme par le protéasome du fait de la présence d'un domaine de dégradation sur XBP1u (149,150).

De plus, des différences de stabilité entre des protéines de survie et des protéines de mort induites par l'UPR ont été décrites. En effet, GRP78 qui est une protéine de pro-survie présente une longue demi-vie de son ARNm ainsi que de sa protéine (environ 46h), alors que la protéine pro-apoptotique CHOP présente une demi-vie relativement courte (entre 2 et 3h pour l'ARNm, et 4h pour la protéine) (151).

Pour conclure sur cette hypothèse, par ces différents rétrocontrôles négatifs sur les branches de l'UPR, la cellule garantie un certain équilibre de la réponse. Ainsi, un déséquilibre de ceux-ci par l'intensité et la durée du stress généré pourrait être à l'origine de la réponse apoptotique par l'atteinte d'un seuil d'expression de CHOP responsable de l'induction apoptotique (152).

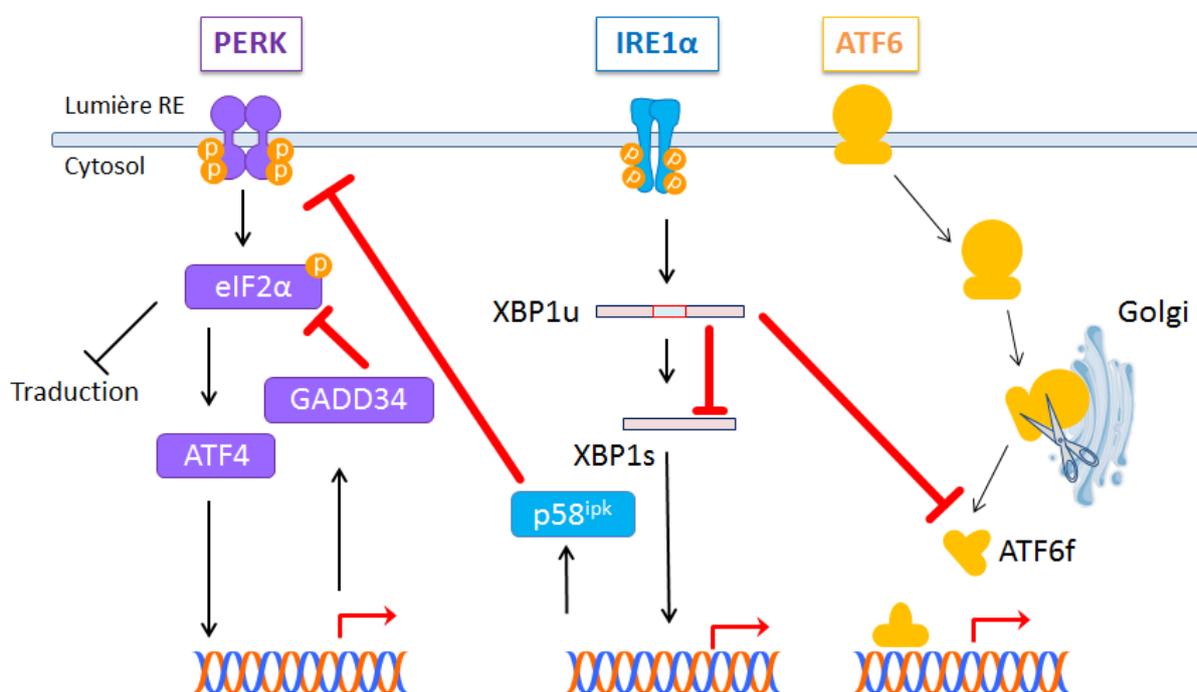


Figure 14 : **Hypothèse du déséquilibre des rétrocontrôles de l'UPR sur le destin cellulaire.** Il existe différents rétrocontrôles dans la voie de l'UPR, au sein de la même branche mais aussi entre les différentes branches. Au sein de la branche IRE1 α , XBP1u est un répresseur de l'expression d'XBP1s et d'ATF6f. Au sein de la branche PERK, ATF4 induit GADD34 impliqué dans la déphosphorylation d'eIF2 α . Entre les différentes branches, XBP1s induit l'expression de p58^{IPK} responsable de l'inhibition de l'activité kinase de PERK.

1.4.4. E2F1, la protéine qui fait pencher la balance ?

E2F1 est un facteur de transcription impliqué dans différentes fonctions cellulaires comme la prolifération, la différenciation ou encore la mort cellulaire. La régulation de l'expression E2F1 pourrait être la clé de du destin cellulaire suite à l'activation de la voie de signalisation UPR (153). En effet, suite à un stress du RE, XBP1s induit l'expression d'E2F7. Celui-ci, avec ATF6, lie le promoteur d'E2F1 résultant en la répression de l'expression d'E2F1. La synchronisation (dans l'espace

et dans le temps) des deux voies de l'UPR, IRE1 α et ATF6, serait donc nécessaire pour réprimer l'expression de ce facteur de transcription. La diminution de l'expression d'E2F1 entraîne l'augmentation de l'expression des facteurs pro-apoptotiques Noxa et Puma. Ainsi, la répression de la transcription d'E2F1 serait donc le point de non-retour de l'UPR conduisant à la mort cellulaire (127) (**Figure 15**).

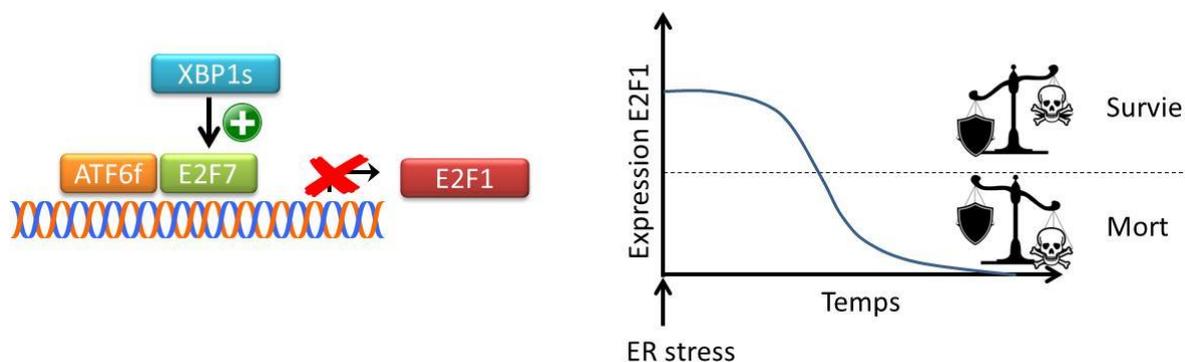


Figure 15 : Hypothèse sur l'expression d'E2F1 sur le destin cellulaire induit par l'UPR. XBP1s induit l'expression d'E2F7. Ce dernier, avec ATF6 lie le promoteur d'E2F1 pour réprimer son expression. La diminution de l'expression d'E2F1, par la synchronisation dans le temps et dans l'espace des voies IRE1 α et ATF6, contribuerait à la mort cellulaire.

**Partie II - Rôle de l'*Unfolded Protein Response* dans la
physiopathologie du cancer**

Les cellules cancéreuses prolifèrent et survivent dans un environnement tumoral, normalement incompatible à la croissance rapide et à l'expansion clonale. En effet, cet environnement est faiblement vascularisé, limitant les apports en oxygène, en nutriments, en glucose, en facteurs de croissance etc. (154), qui sont des éléments essentiels pour la survie cellulaire. Ainsi, de telles conditions devraient normalement conduire à la mort des cellules. Cependant, les cellules tumorales utilisent des voies adaptatrices, comme l'UPR, pour faire face à ce stress généré par l'environnement. Ainsi l'UPR constitue une voie « d'addiction non oncogène » pour les cellules tumorales (**Figure 16**).

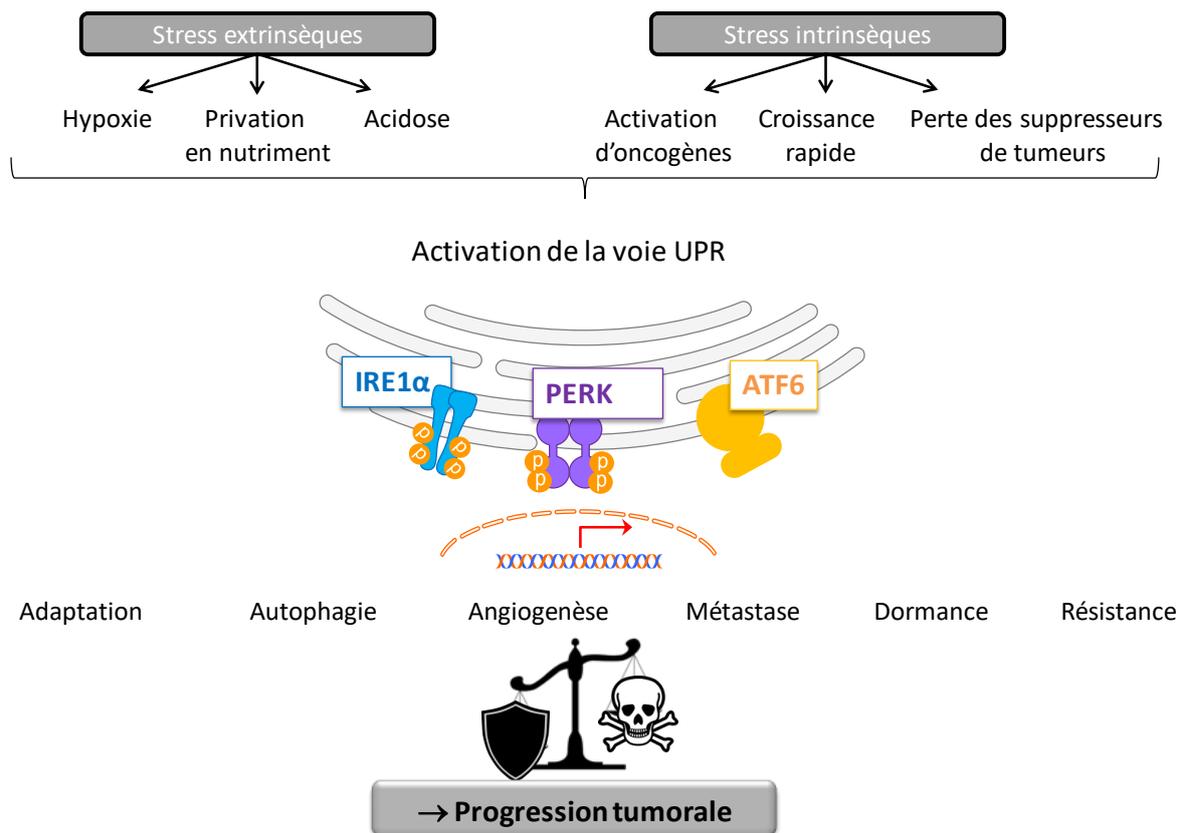


Figure 16 : Implication de l'UPR dans le cancer. Différents stress extrinsèques, propres à l'environnement tumoral (hypoxie, privation en nutriment, acidose) et intrinsèques, propres aux caractéristiques de la cellule cancéreuse (activation d'oncogènes, croissance rapide, perte de suppresseurs de tumeurs) contribuent à l'activation de la voie UPR. L'UPR dans les cellules cancéreuses serait impliqué dans l'adaptation à l'environnement, l'autophagie, l'angiogénèse, les métastases, la dormance, les résistances aux traitements, contribuant à la progression tumorale.

II.1. Adaptation des cellules à l'environnement tumoral

II.1.1. Adaptation à l'hypoxie

L'hypoxie, qui est une diminution de la quantité en oxygène dans un tissu, est toxique pour les cellules saines mais aussi pour les cellules cancéreuses (altération des lipides, dommages de l'ADN ...). Ces dernières développent alors des changements génétiques et adaptatifs pour survivre et proliférer dans ces conditions.

Dans les conditions hypoxiques, les cellules, entre autres, changent leur métabolisme, induisent l'expression de facteurs de transcription spécifiques comme HIF-1 et HIF-2 (*Hypoxia inducible Factor*) responsables d'une réponse adaptative à l'hypoxie ; développent l'angiogénèse, qui est une production de nouveaux vaisseaux sanguins pour augmenter l'apport en nutriments et en oxygène ; et diminuent leurs dépenses énergétiques. La tolérance à l'hypoxie est donc cruciale et est impliquée dans l'invasion des tumeurs, dans la cascade métastatique mais aussi dans la résistance aux traitements anticancéreux, par un manque de diffusion de ces derniers, ou encore la résistance aux radiations ionisantes qui nécessitent la présence d'oxygène pour provoquer des dommages de l'ADN cellulaire (**Figure 17**).

Il a été observé que la phosphorylation d'eIF2 α était induite par l'hypoxie, de manière PERK dépendante et HIF-1 indépendante (155), mais dont le mécanisme exacte est encore incertain, probablement par l'accumulation de protéines mal-conformées induites par la perturbation de la balance redox lors de l'hypoxie. En effet, l'hypoxie n'est pas favorable à la formation de ponts disulfures dans les protéines et contribue donc à la formation de protéines mal-conformées. La phosphorylation d'eIF2 α permet ainsi de réduire la synthèse protéique, qui est le deuxième processus le plus énergétique de la cellule. Ainsi la branche PERK est fortement décrite comme impliquée dans la croissance tumorale dans les conditions hypoxiques (156,157).

Aussi, la survie des cellules tumorales en condition hypoxique serait dépendante de l'expression d'XBP1s (158). Un lien fonctionnel entre IRE1 et HIF-1 pourrait exister du fait que l'expression transcriptionnelle et protéique d'HIF-1 est diminuée lors de l'inhibition d'IRE1(159).

Enfin, Nrf2 est la principale réponse antioxydante de la voie de signalisation de l'UPR. Il a été démontré que le niveau d'expression de Nrf2 était associé à de faibles pronostics de survie des patients dans de nombreux cancers en particulier dans le cancer du poumon (160).

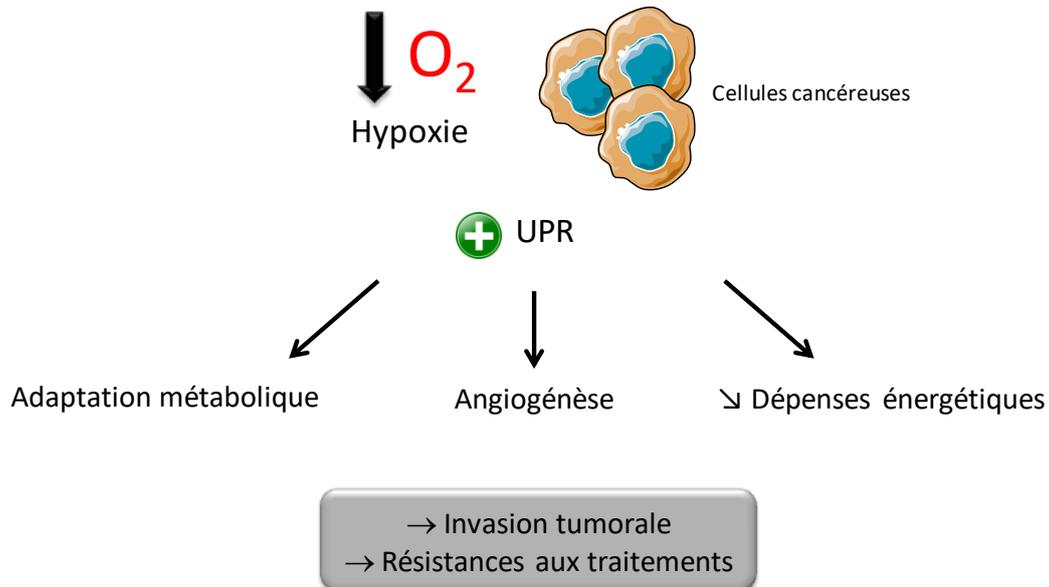


Figure 17 : **Implication de l'UPR dans l'adaptation à l'hypoxie.** L'UPR est induit par l'hypoxie et contribuerait à l'adaptation métabolique, à l'angiogénèse, ainsi qu'à la réduction des dépenses énergétiques. L'ensemble de ces effets favorisent l'invasion tumorale et la résistance aux traitements.

II.1.2. Adaptation à la privation en nutriments et à l'acidose

Les cellules cancéreuses prolifèrent rapidement ce qui nécessite un apport en nutriments adéquat (glucose, acides aminés...), indispensable à leur bon fonctionnement (production d'ATP, synthèse protéique, production d'intermédiaires métaboliques etc.).

Il a été observé que les cellules cancéreuses changeaient leur métabolisme glucidique comparé à une cellule saine, on parle d'effet « Warburg ». Dans des conditions normales aérobies, le glucose est métabolisé en pyruvate, puis pris en charge par le cycle de Krebs dans la mitochondrie. Ce cycle permet la production de coenzymes réduites, NADH et FADH₂, qui pourront être oxydées par la chaîne respiratoire mitochondriale, on parle de phosphorylation oxydative. L'ensemble de ces étapes permet ainsi une production importante d'ATP (environ 36 molécules d'ATP par molécule de glucose). Cependant, les cellules cancéreuses transforment préférentiellement ce pyruvate en lactate, malgré la présence d'oxygène, permettant seulement la production d'un peu d'ATP (2 molécules d'ATP par molécule de glucose) mais cela est fait beaucoup plus rapidement, c'est l'effet « Warburg » (**Figure 18**). Il est à l'origine d'une acidification du milieu intracellulaire et extracellulaire, par la sécrétion des lactates dans le milieu extracellulaire. Cette acidose lactique aurait des effets bénéfiques pour les cellules cancéreuses car cela

contribuerait à leur survie ainsi qu'à l'inhibition des fonctions des lymphocytes T (prolifération, sécrétion de cytokines)(161,162).

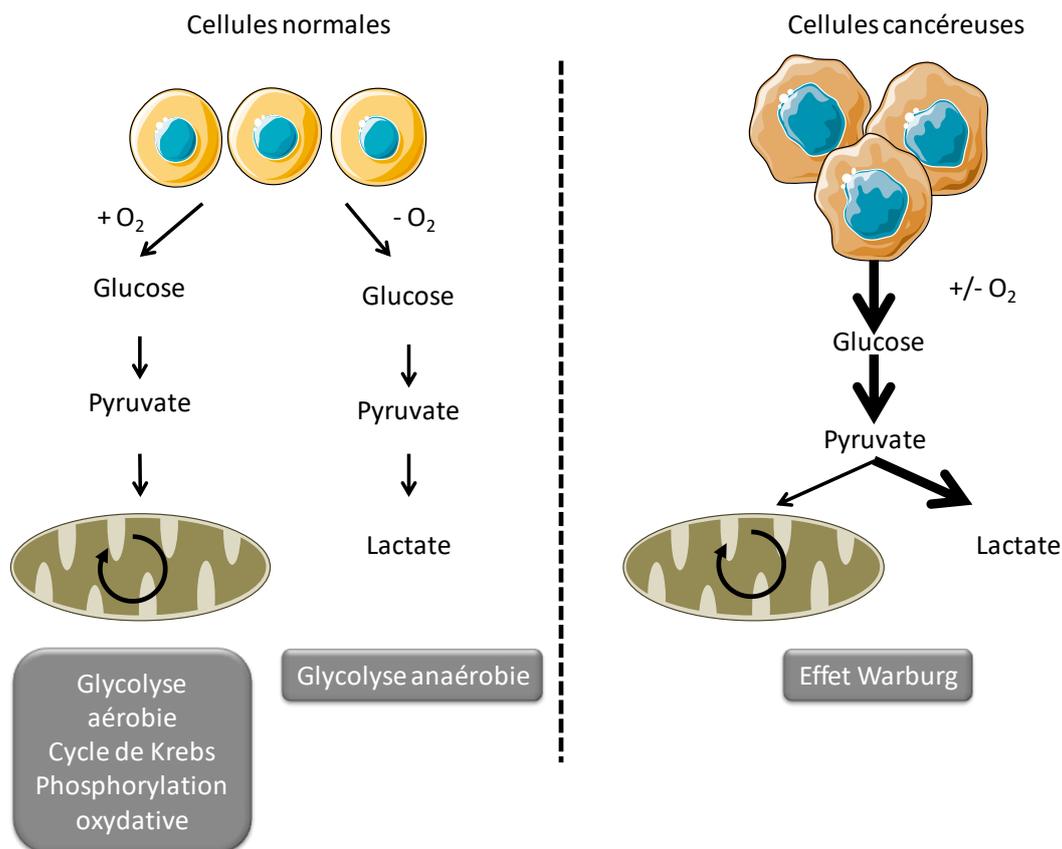


Figure 18 : Métabolisme des cellules cancéreuses. Dans des conditions aérobies, les cellules métabolisent le glucose en pyruvate, qui par le cycle de Krebs et la phosphorylation oxydative permet une production importante d'ATP. En condition anaérobie, le pyruvate est métabolisé en lactate, permettant une faible production d'ATP. Les cellules cancéreuses, malgré la présence d'oxygène, métabolise préférentiellement le pyruvate en lactate, on parle d'effet Warburg.

Ainsi, les cellules cancéreuses survivent et prolifèrent dans un environnement où le manque de glucose ainsi que le pH acide peuvent engendrer des malformations des protéines (défaut de glycosylation, défaut de repliement des protéines par la modification de leurs charges etc.) et activer l'UPR.

Comme détaillé dans la partie I.2.5, l'activation de la branche PERK de l'UPR permet l'expression de transporteurs d'acides aminés mais aussi d'enzymes impliquées dans la synthèse des acides aminés. De plus, PERK serait impliqué dans la glycolyse des cellules cancéreuses. En effet, son inhibition dans des cellules de gliome entraîne une diminution de la production d'ATP/lactate, ainsi qu'une inhibition de l'hexokinase 2 (enzyme responsable de la conversion du glucose en glucose-6-phosphate) limitant la croissance tumorale (163). Il est à noter que l'hexokinase 2 est surexprimée dans de nombreux types de cancers et est associée à un mauvais pronostic pour les patients, peut-être par son implication dans cet effet Warburg (164,165).

Enfin, la cellule cancéreuse met également en place d'autres mécanismes pour s'adapter à cette privation en nutriments, comme l'autophagie pour les recycler (166), mais également l'angiogenèse, pour permettre un apport plus important en nutriments et en oxygène. L'implication de l'UPR dans ces deux processus cellulaires a été décrite et est détaillée dans les parties II.3 et II.4 respectivement.

II.1.3. Communication cellulaire

Le microenvironnement tumoral constitue un élément essentiel au développement tumoral, notamment par les interactions qu'il entretient avec les cellules tumorales, de manière direct (par contact) et indirect (via la sécrétion de molécules). De nombreuses études *in vitro* ne prennent pas en compte celui-ci, du fait de la difficulté à le mettre en place et à l'étudier, mais cela constitue un point important pour l'étude du développement tumoral dans sa globalité. Ainsi, l'UPR intervient dans la régulation de ce microenvironnement par son implication dans l'inflammation, la communication cellulaire et sur la réponse immunitaire (167).

Tout d'abord, GRP78, la protéine chaperon du RE associé aux effecteurs de l'UPR est également retrouvée à la surface cellulaire des cellules cancéreuses. Son expression à la membrane est à l'origine d'une communication cellulaire. Son interaction avec l' α 2-macroglobulin ou encore avec CRIPTO promeut la croissance tumorale (168,169).

De plus, il a été démontré que PERK et IRE1 étaient essentiels à la sécrétion des exosomes. Ces derniers sont des vésicules contenant de nombreux constituants, et qui seront reversés dans le milieu extracellulaire contribuant à la communication cellulaire (167).

II.1.4. Inflammation

Les cellules stromales de la moelle osseuse (BMSC, *Bone Marrow Stromal Cells*) sont un élément clé au développement du myélome multiple. En effet, les plasmocytes tumoraux adhèrent à ces cellules via VCAM-1, une glycoprotéine de surface. Aussi, les BMSCs sécrètent des facteurs importants à la croissance tumorale comme l'IL6 ainsi que des cytokines promouvant la dégradation de l'os. On retrouve parmi elles le TNF α et RANKL, qui stimulent la différenciation et l'activité des ostéoclastes. Il a été démontré qu'XBP1s était surexprimé dans ces cellules

BMSCs et était impliqué dans l'expression de ces protéines VCAM1, IL6 et RANKL *in vitro* et *in vivo*. L'inhibition de son expression dans ces cellules a permis de diminuer la croissance des cellules cancéreuses de myélome multiple (MM) ainsi que de réduire la formation des ostéoclastes (170).

II.1.5. Réponse immunitaire

L'immunité anti-tumorale est également modulée par l'UPR. Les cellules cancéreuses peuvent transmettre leur stress du RE (« *Transmissible ER Stress* ») par la sécrétion de facteurs solubles et ainsi induire un stress du RE dans les cellules de l'environnement tumoral. Ainsi, l'UPR est impliqué dans la sécrétion de facteurs pro-inflammatoires par les macrophages (XBP1s induit l'expression d'IL6 et de TNF α), mais aussi dans la capacité de présentation des antigènes des cellules dendritiques. De plus, l'activation de l'UPR dans ces cellules entraîne la sécrétion de molécules immunosuppressives comme l'arginase (171).

II.2. Transformation oncogénique

La transformation est un processus par lequel une cellule devient cancéreuse. Cela est la résultante d'altérations génétiques qui aboutissent à l'activation d'oncogènes, qui stimulent la croissance cellulaire, dérivant de gènes normaux appelés proto-oncogènes ; et à l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs, dont le rôle est d'inhiber la croissance cellulaire.

Nous retrouvons parmi les oncogènes, BRAF muté, qui dérive du proto-oncogène BRAF, une sérine/thréonine kinase impliquée dans l'envoi de signaux pour la prolifération cellulaire. La mutation V600E sur BRAF, principalement retrouvée dans les mélanomes, conduit à l'activation constitutive de son activité kinase, donc à la prolifération des cellules cancéreuses. Il a été démontré que l'oncogène BRAF induisait un stress chronique aboutissant à l'activation de l'UPR. En effet celui-ci active l'autophagie cytoprotectrice par les voies IRE1/ASK1/JNK et PERK, permettant la progression du mélanome (172,173).

Un autre oncogène est Myc, un facteur de transcription qui induit l'expression de nombreux gènes dont ceux impliqués dans le cycle cellulaire, comme les cyclines D et E, et induit donc une prolifération cellulaire. Myc est également impliqué dans la biogénèse ribosomale, et son activation résulte en une augmentation importante de la synthèse protéique. Les oncogènes c-Myc et N-Myc activent la

branche PERK de l'UPR dans un modèle murin de lymphome pour induire, comme BRAF muté, l'autophagie cytoprotectrice (174).

Un dernier exemple, l'oncogène HRas, une GTPase impliquée dans la division cellulaire. Cette protéine lorsqu'elle est mutée induit une prolifération puis une sénescence prématurée. Il a été démontré que HRas muté induisait l'UPR et en particulier IRE1 α pour induire cette sénescence prématurée via son activité RNase, mais est aussi important pour la prolifération tumorale induite par Ras via XBP1s (175,176). ATF4 serait quant à lui important pour cette sortie de sénescence lors de la transformation (177).

Parmi les suppresseurs de tumeurs, on retrouve les gènes TSC 1 et 2 permettant l'expression des protéines hamartine et tubérine respectivement. Le dimère de ces protéines inhibe le complexe mTOR. Ainsi, la perte d'expression de ces protéines conduit à une activation constitutive de mTOR, résultant au développement tumoral (5). De plus, la perte de ces gènes suppresseurs de tumeurs résulte en l'activation des voies UPR en particulier de la voie PERK via l'augmentation importante de la phosphorylation d'eIF2 α , mais cela rendrait plus sensibles les cellules à un stress du RE (178,179).

Un autre suppresseur de tumeur est BRCA1 (*Breast Cancer type 1 susceptibility protein*), impliqué notamment dans la réparation de l'ADN. BRCA1 muté, induit la surexpression de la protéine chaperonne GRP78 (180).

Aussi, PTEN (*Phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome 10*), une protéine suppresseur de tumeur est mutée ou délétée dans de nombreux cancers, conduisant à l'activation constitutive de la voie PI3K/AKT et ainsi à la prolifération tumorale. Cette dernière est notamment dépendante de l'expression de GRP78 et de la phosphorylation d'eIF2 α (181,182).

Ainsi, nous venons de voir que la transformation oncogénique entraîne l'activation de la voie de signalisation de l'UPR, ce qui s'interprète par le fait qu'une cellule cancéreuse a besoin d'augmenter la taille de son RE pour pouvoir se diviser tout en préservant l'homéostasie protéique nécessaire à sa survie. Cependant, y aurait-il un lien entre le stress du RE et l'induction de cette transformation ?

Il a été démontré que lors d'un stress du RE, p53, un gène suppresseur de tumeur, est d'autant plus dégradé par le protéasome. Cela pourrait ainsi favoriser la transformation, mais aucun lien direct entre l'activation de l'UPR et l'induction

d'oncogènes n'a été établi (183). En revanche XBP1s serait un élément clé dans le développement de la pathologie du myélome multiple (MM), un type de cancer caractérisé par la prolifération anormale de plasmocytes tumoraux. Dans des conditions saines, XBP1s est essentiel à la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes et à la sécrétion des immunoglobulines. Son rôle dans la transformation des plasmocytes a été évoqué par l'acquisition d'un phénotype de MM dans un modèle *vivo* de souris transgénique Eμ-XBP1s où XBP1s est surexprimée (184) (Figure 19).

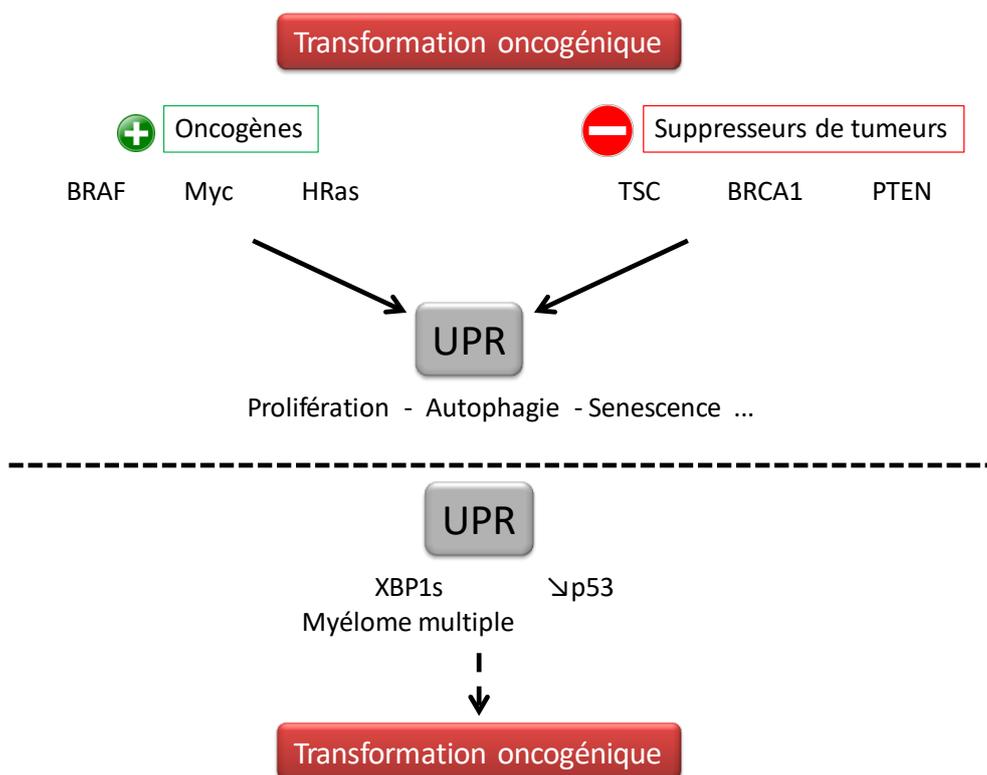


Figure 19 : Implication de la voie UPR dans la transformation oncogénique, processus par lequel une cellule devient cancéreuse. La transformation oncogénique est la résultante de l'activation d'oncogènes (BRAF, Myc, HRas etc.) et de l'inactivation de supresseurs de tumeurs (TSC, BRCA1, PTEN etc.). Cette transformation est associée à l'induction de l'UPR favorable à la cellule cancéreuse. Aussi, l'UPR pourrait également contribuer à cette transformation oncogénique notamment par la dégradation plus importante de p53 lors d'un stress du RE mais également par l'induction d'un phénotype de myélome multiple lors de la surexpression d'XBP1s.

II.3. Autophagie dans la cellule cancéreuse

L'autophagie, qui est la voie de dégradation des protéines et des organelles mais qui est aussi un mécanisme adaptatif induit par l'UPR, serait impliquée dans la tumorigénèse. En effet, l'autophagie fournit une source de nutriments non négligeable pour la cellule, certaines tumeurs seraient même dites « autophagie-addictes » en particulier celles où Ras et BRAF sont mutées (185). De plus, l'autophagie est impliquée dans la survie cellulaire en condition hypoxique (186).

Enfin, l'autophagie pourrait permettre la dégradation de p53, un gène suppresseur de tumeur qui induit l'arrêt du cycle cellulaire.

Cependant, l'autophagie, comme l'UPR, peut présenter une dualité d'action et être cette fois-ci impliquée dans la suppression tumorale, en particulier dans les premiers stades (187,188). En effet, l'autophagie permettrait de prévenir les dommages chroniques tissulaires qui peuvent être à l'origine de l'initiation cancéreuse. En effet, l'autophagie permet l'élimination des mitochondries (mitophagie) endommagées, permettant ainsi de réduire la production de ROS par ces mitochondries qui sont générateurs de dommages de l'ADN et promeuvent ainsi la tumorigénèse.

L'implication de l'autophagie dans la tumorigénèse est type cellulaire et environnement dépendant ; il est à prendre dans son contexte tumoral global.

II.4. Angiogenèse

II.4.1. Généralités

L'angiogenèse est un processus important pour l'expansion du réseau vasculaire, nécessaire pour la fourniture en oxygène et en nutriment des cellules cancéreuses. Ce processus se réalise à partir de vaisseaux préexistants, et est contrôlé par des facteurs pro-angiogéniques (VEGF, IL6, FGF-2, TGFB2, NRG1, NGF...) et anti-angiogéniques (CXCL10, CXCL14, THBS1...). La première étape de l'angiogenèse est appelée « bourgeonnement » et correspond à l'activation des cellules endothéliales (cellules qui constituent la face interne des vaisseaux), entraînant la dégradation de la membrane basale et de la matrice extracellulaire (MEC) environnante, essentiel pour la migration de celles-ci. Ensuite ces cellules prolifèrent et se différencient pour former une structure de type capillaire. Enfin, ce nouveau vaisseau va permettre l'irrigation de la tumeur (189). Le niveau d'angiogenèse reflète le degré d'agressivité des tumeurs. Cependant, ces nouveaux vaisseaux formés sont immatures, faiblement oxygéné, avec des interruptions du flux sanguin conférant des cycles d'hypoxie- réoxygénation (**Figure 20**).

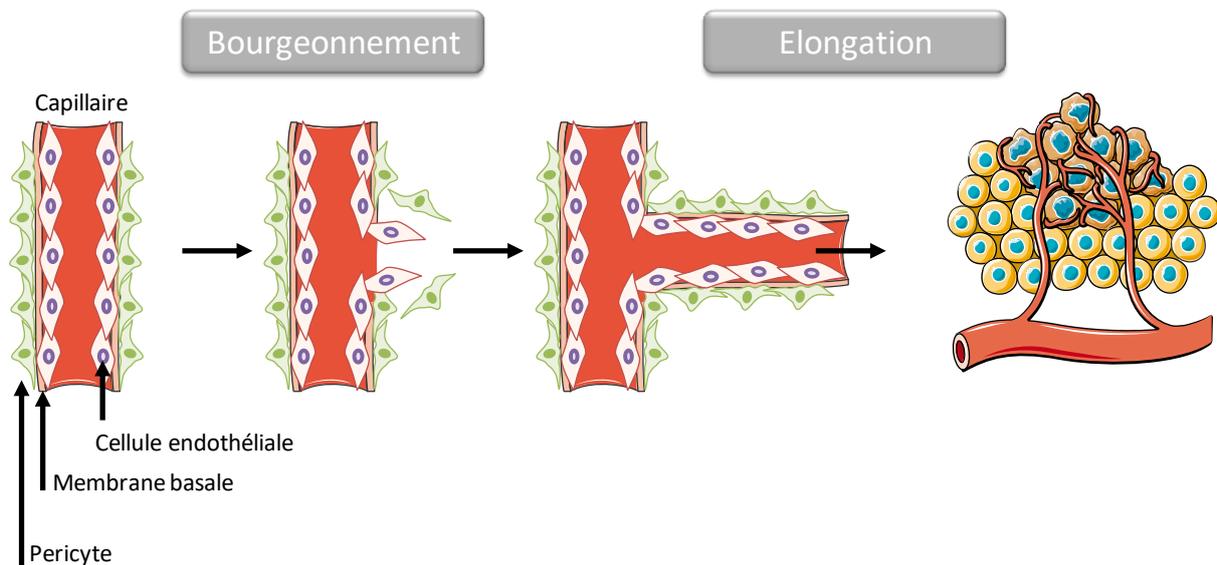


Figure 20 : **Processus d'angiogenèse.** Les cellules endothéliales d'un vaisseau préexistant sont activées, la matrice extracellulaire et la membrane basale sont dégradées permettant leur migration, c'est l'étape de bourgeoisement. Ces cellules prolifèrent et se différencient pour former une structure de type capillaire permettant l'irrigation de la tumeur, c'est l'étape d'élongation.

II.4.2. Liens UPR et angiogenèse

L'hypoxie, la privation en glucose ainsi qu'un stress du RE sont impliqués dans l'angiogenèse. Quels sont alors les effets de l'UPR sur l'angiogenèse mais aussi de l'induction de l'angiogenèse par l'hypoxie et la privation en glucose, sur l'UPR ?

L'induction d'un stress du RE par des petites molécules stresseurs dites référentes comme la Tunicamycine ou la Thapsigargine, induisent l'angiogenèse notamment par l'augmentation de l'expression de l'ARNm de VEGF-A, un facteur pro-angiogénique. Cela a été démontré dans de multiples cellules cancéreuses et serait indépendant d'HIF-1 α , régulateur central de l'hypoxie (190–192). Ainsi, l'activation de l'UPR favoriserait l'angiogenèse.

De plus, comme précisé dans la partie I, le VEGF peut lui-même induire l'UPR en l'absence de la dissociation de GRP78 aux différents senseurs. Ainsi, le VEGF sécrété par les cellules tumorales, permettrait l'activation de la voie UPR dans les cellules endothéliales, par une voie impliquant la PLC γ et le complexe mTORC1 et contribuerait ainsi à la survie de ces cellules, nécessaire pour l'induction de nouveaux vaisseaux (17).

Aussi, une hypoxie, sévère seulement, et la privation en glucose activent également la voie UPR, et permet l'expression transcriptionnelle de VEGF-A de manière IRE1 dépendante dans des cellules cancéreuses pulmonaires et de gliome (159) mais aussi PERK dépendant dans des cellules cancéreuses de la voie

aérodigestive supérieure (192). Cela participerait alors au shift de la balance des facteurs pro-angiogéniques et anti-angiogéniques favorable pour l'angiogénèse.

Ainsi, l'activation de l'UPR dans les cellules cancéreuses semble être une induction favorable pour l'angiogénèse (**Figure 21**).

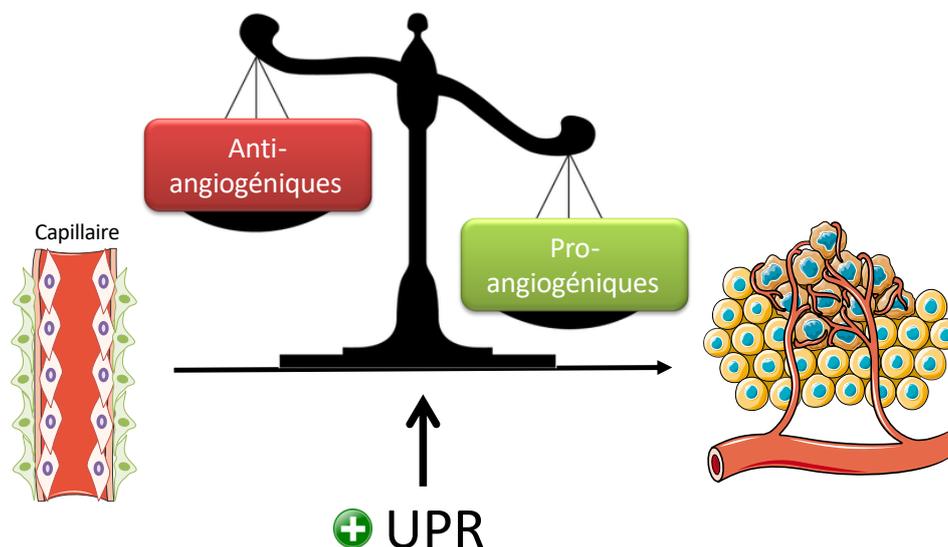


Figure 21 : UPR et angiogénèse. L'activation de l'UPR dans les cellules tumorales favoriserait la formation de l'angiogénèse notamment par l'induction de facteurs pro-angiogéniques.

II.4.2.1. Implication de GRP78

La protéine chaperon GRP78 aurait un rôle dans ce processus d'angiogénèse. En effet, l'inhibition de cette protéine dans les cellules tumorales diminue l'angiogénèse (193). De plus, GRP78 serait également important pour la survie des cellules endothéliales par sa sécrétion dans le milieu extracellulaire, mais également par sa liaison à la membrane cellulaire avec la T-cadhérine (194,195).

II.4.2.2. Implication de la branche IRE1

L'implication de la branche IRE1 α dans l'angiogénèse a été largement décrit et en particulier dans des tumeurs du cerveau (159,191,196,197). En effet l'expression d'un mutant dominant négatif d'IRE1 dans un modèle de souris de gliome, inhibe l'angiogénèse tumorale, diminue la croissance tumorale et prolonge la survie des souris. De plus, l'étude *in vitro* de ces cellules présentent une diminution de l'expression de facteurs pro-angiogéniques comme IL1- β , IL6, IL8, VEGF-A (197). Cependant, l'expression de ce mutant dominant négatif d'IRE1 augmenterait le

comportement invasif et métastatique de la tumeur. Cet effet indésirable a déjà été observé avec des traitements antiangiogéniques développés, c'est une dualité d'action qui est donc connue (189,198,199). L'effet de l'inhibition d'IRE1 α sur l'angiogénèse n'impliquerait pas son domaine RNase, qui serait, lui, associé à l'invasion des cellules tumorales (196). En effet, il serait responsable du clivage de l'ARNm codant pour un marqueur invasif SPARC (*Secreted protein acidic and rich in cysteine*), une protéine de la matrice extracellulaire impliquée dans l'interaction et la migration des cellules tumorales (200). Cependant, il est à noter que l'inhibition de l'angiogénèse n'a été observée que lors de l'inhibition des deux activités, kinase et endoribonucléase, d'IRE1 α .

Aussi, l'implication d'XBP1s dans l'angiogénèse a été largement décrite. En effet, l'inhibition d'XBP1s dans des cellules cancéreuses de fibrosarcome diminue l'angiogénèse. A l'inverse, l'induction de l'expression d'XBP1s dans ces cellules cancéreuses de fibrosarcome exprimant cette fois-ci un dominant négatif d'IRE1 α , restaure l'angiogénèse, et cela serait indépendant du facteur pro-angiogénique VEGF-A (201). Toutefois, il a été démontré qu'XBP1s se liait au promoteur de VEGF-A (190,191).

II.4.2.3. Implication de la branche PERK

La branche PERK de l'UPR serait également impliquée dans le processus de l'angiogénèse (202). En effet, PERK intervient dans la régulation traductionnelle via la phosphorylation d'eIF2 α de transcrits proangiogéniques. Il favorise notamment la traduction de VCIP (*VEGF & type I Collagen Inducible Protein*), une molécule impliquée dans l'adhésion cellulaire et la morphogénèse des capillaires ; MMP13 (*matrix metalloproteinase 13*), une métalloprotéase essentielle pour l'activation et la migration des cellules endothéliales ; ou encore PDGFR- β (*Platelet-derived growth factor receptor β*), le récepteur pour le recrutement des cellules progénitrices péricytaire du capillaire (202). De plus, l'inhibition de PERK dans des tumeurs entraîne une diminution de la prolifération tumorale ainsi qu'une diminution de la vascularisation tumorale (192,203). Enfin, l'inhibition d'ATF4 dans ces cellules cancéreuses entraîne une diminution de l'expression en ARNm de facteurs proangiogéniques comme VEGF, IL6, FGF-2. ATF4, tout comme XBP1s, se lierait au promoteur de VEGF-A (192).

II.4.2.4. Implication de la branche ATF6

ATF6 semble également jouer un rôle dans l'angiogenèse. En effet, l'inhibition d'ATF6 diminue l'expression de l'ARNm en VEGF-A (190), mais cela pourrait s'expliquer par l'induction d'XBP1s par ATF6 (191).

II.5. Métastase

II.5.1. Généralités

La dissémination de cellules cancéreuses d'une tumeur primaire vers un tissu distant pour former de nouvelles colonies tumorales implique plusieurs étapes, connues comme la cascade d'invasion métastatique (204).

L'étape initiale consiste en la dissémination de cellules tumorales, c'est-à-dire l'acquisition de propriétés cellulaires pour quitter le site primaire et se disséminer vers des tissus distants. L'EMT (*Epithelial-Mesenchymal Transition*) est l'un des processus physiopathologique mis en cause dans cette étape (205). En effet, il s'agit d'un mécanisme physiologique utilisé notamment lors de la réparation tissulaire mais est également connu pour promouvoir la progression cancéreuse. L'EMT confère aux cellules épithéliales des propriétés essentielles pour l'invasion métastatique comme l'acquisition de propriétés migratoires, d'invasion ainsi que la capacité à dégrader des composants de la matrice extracellulaire. Ce processus complexe est orchestré et coordonné par une série de facteurs de transcription comme Snail1, Snail2, Twist ou encore Zeb, couplés à des modifications post-transcriptionnelles et post-traductionnelles, régulant par exemple l'expression de molécules d'adhésion comme la Cadhérine. Différents facteurs interviennent dans l'induction de l'EMT comme l'IL6 dans le cancer du sein (206), le VEGF dans le cancer du sein et du pancréas, faisant un lien avec l'angiogenèse (207,208), ou encore l'hypoxie.

Ensuite, la migration de cellules cancéreuses dans la circulation sanguine (mais aussi dans la circulation lymphatique, non détaillée dans cette thèse) est appelé l'intravasation. La plupart des cellules qui entreront dans la circulation sanguine seront éliminées, mais certaines arriveront à échapper au système immunitaire pour se disséminer dans d'autres tissus.

Ainsi, par des interactions avec les cellules plaquettaires mais aussi avec les polynucléaires neutrophiles, les cellules tumorales vont traverser la paroi endothéliale des vaisseaux, c'est l'étape d'extravasation. Les cellules cancéreuses

disséminées pourront soit être éliminées par le tissu distant, soit entrer dans un état de dormance dans des niches spécialisées, ou soit continuer à proliférer. Elles devront alors s'adapter au nouvel environnement par des mécanismes adaptatifs propres à chaque tissu (**Figure 22**).

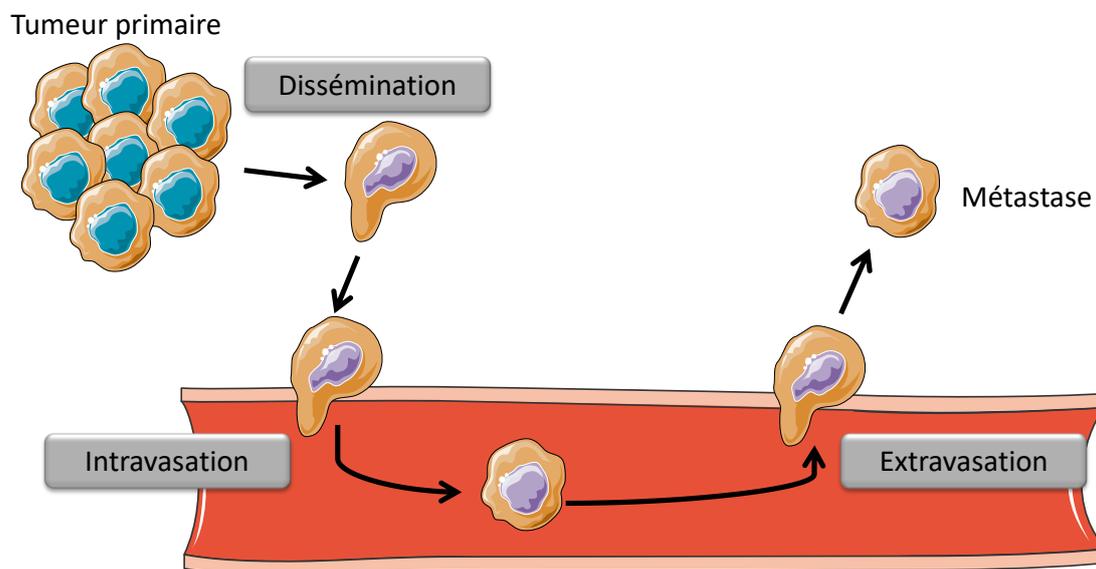


Figure 22 : Processus métastatique. Les cellules cancéreuses peuvent se disséminer par différents processus à partir d'une tumeur primaire et entrer dans la circulation sanguine afin de se disséminer dans d'autres tissus pour former ce que l'on appelle une métastase.

II.5.2. Implication de la voie UPR dans le processus métastatique

L'implication de la voie UPR dans ce processus métastatique n'est pas très bien décrit mais on retrouve quelques données dans la littérature qui établissent un lien.

II.5.2.1. UPR et EMT

Tout d'abord, de nombreuses études montrent que l'induction de l'EMT activerait la voie UPR. En effet, par exemple l'induction de l'EMT par Twist dans des cellules épithéliales du sein met en évidence l'activation constitutive de la voie PERK/NRF2 (209). Dans une autre étude, l'induction de l'EMT par SCCA1 (*Squamous Cell carcinoma antigen 1*), une serpine, dans les cellules épithéliales mammaires provoque l'induction de l'UPR (210). Aussi, l'induction de l'EMT dans les cellules cancéreuses humaines du colon, cette fois-ci par l'hypoxie (HIF-1 α) ou la privation en nutriment, est dépendante de Zeb-1, et provoque un stress du RE observé par l'augmentation de l'expression de GRP78 et ATF6f (211). De plus, dans les cellules cancéreuses gastriques, l'induction de l'EMT par l'hypoxie sévère induit l'UPR et l'inhibition de cette voie reverse les caractéristiques phénotypiques de

l'EMT(212). Enfin, un dernier exemple, la surexpression de LOX-L2 (*Lysyl oxidase-like 2*) induit l'EMT et est associé à un phénotype cellulaire invasif. LOX-L2 interagit avec GRP78 et active ainsi l'UPR, en particulier la branche IRE1/XBP1(213). Cependant, l'EMT dans des cellules cancéreuses du sein se caractérise par l'activation de la branche PERK mais pas de la branche IRE1. Ainsi, on remarque que l'implication d'une branche plus qu'une autre de l'UPR est dépendante du contexte physiopathologique et est type cellulaire dépendant (214).

Aussi, les scientifiques ont également cherché à savoir si l'activation de l'UPR pouvait contribuer à l'induction de l'EMT, et il semblerait que cela soit le cas. En effet, l'induction d'un stress du RE dans les cellules épithéliales alvéolaires par la Tunicamycine induirait l'EMT, du fait de l'observation de la diminution des marqueurs épithéliaux comme l'E-Cadhérine, et l'augmentation de marqueurs mésenchymateux comme la Vimentine, N-Cadhérin, α -SMA. Ce processus serait notamment médié par Smad et Src kinases, et dont la phosphorylation serait modulée par IRE1 (215). De plus, il a été démontré qu'XBP1 interagissait avec les promoteurs des facteurs de transcription de l'EMT : SNAI1, SNAI2, ZEB2, TCF3 (**Figure 23**).

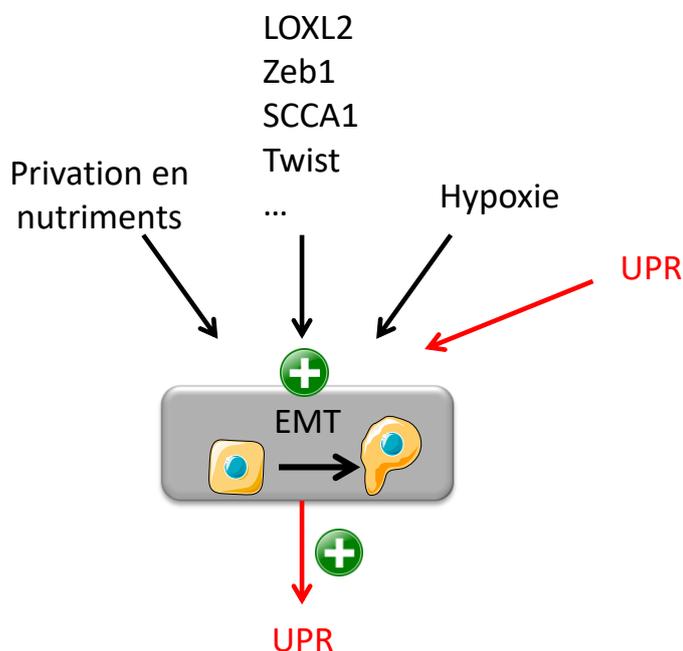


Figure 23 : Implication de l'UPR dans l'EMT. L'induction de l'EMT, par différents facteurs de transcription, la privation en nutriments ou encore l'hypoxie, activerait l'UPR. De plus, l'activation de l'UPR pourrait également contribuer à ce processus notamment par l'acquisition de marqueurs mésenchymateux.

II.5.2.2. Autres liens UPR et métastases

Il y aurait également un lien entre l'UPR et le processus métastatique via LAMP3. LAMP3 (*Lysosomal associated membrane protein 3*) est une protéine associée à la membrane lysosomale dont la surexpression stimule la formation de métastases dans des modèles animaux de xénogreffes tumorales (216). Son expression est ainsi corrélée à la capacité métastatique dans le cancer du sein, du colon et avec l'hypoxie dans le cancer du col de l'utérus (217). L'expression de cette protéine est notamment induite pendant l'hypoxie d'une manière PERK/ATF4 dépendante et HIF-1 indépendante (217–220). LAMP1 est impliquée dans la formation de filopode dans les cellules tumorales migratrices, une hypothèse serait que LAMP3 ait des fonctions similaires, avec peut être un rôle supplémentaire dans l'adhésion aux cellules endothéliales vasculaire facilitant l'extravasation.

II.6. Dormance

II.6.1. Généralités

La dormance ou la quiescence est un processus par lequel une cellule arrête de se diviser, elles présentent ainsi un arrêt en phase G0/G1 du cycle cellulaire (221). La dormance se distinguerait de la sénescence par la réversibilité du processus. En effet, les cellules dormantes seraient capables de proliférer à nouveau sous l'effet de stimulus, alors que les cellules sénescents ne le pourraient pas. La sénescence serait donc impliquée dans des processus physiologiques comme la survie des cellules mémoires T ainsi que dans des conditions physiopathologiques comme par exemple les dysfonctions liées à l'âge. Malgré de fortes similarités, il existerait ainsi des différences moléculaires entre ces deux processus. Cependant, la distinction entre les deux termes dans la littérature n'est pas très bien établit. La dormance serait caractéristique des cellules souches ainsi que des cellules cancéreuses. Dans ce dernier cas, elle serait notamment induite en réponse à des conditions environnementales défavorables. Dans la physiopathologie du cancer, la dormance des cellules cancéreuses peut être perçue de deux manières opposées. Tout d'abord, elle peut être perçue comme une barrière à la progression tumorale établissant un mécanisme suppressif tumoral. A l'inverse, elle peut constituer une phase de progression du cancer où les cellules disséminées dormantes, confèrent un risque de rechute important ainsi qu'une résistance aux traitements.

II.6.2. Implication de la voie UPR

La voie UPR semble impliquée dans la dormance des cellules tumorales disséminées notamment par le fait que l'UPR contribuerait à la survie de ces cellules. De nombreuses études ont été menées pour comprendre les différences entre des cellules humaines métastatiques de carcinome squameux (T-Hep3) et des cellules quiescentes de même origine (D-Hep3). Les cellules dormantes montrent notamment une activation importante de p38, connu pour induire un arrêt de la croissance. L'étude des gènes cibles de p38 a notamment pu mettre en évidence le gène GRP78 (222). Ainsi, les cellules dormantes sur-expriment la protéine chaperon GRP78, ainsi que GRP94 et la PDI dans plusieurs types de cancers. La surexpression de ces protéines chaperons contribueraient à la tolérance à l'hypoxie mais aussi à la résistance aux traitements (223). Les cellules dormantes présentent également une activation importante des trois branches de l'UPR : ATF6 (224), IRE1 α par la surexpression d'XBP1s, et PERK, de manière p38 dépendant (222).

L'activation de PERK dans les cellules dormantes permettrait l'arrêt du cycle cellulaire en G0/G1 par l'inhibition de la traduction de la cycline D1 induite par la phosphorylation d'eIF2 α , ainsi que la survie cellulaire (225,226). L'inhibition de PERK ou de GRP78 dans ces cellules, augmente la sensibilité de celles-ci au traitement par la Doxorubicine (222). L'induction d'ATF6 dans les cellules dormantes participerait à la survie de ces dernières. ATF6 induirait Rheb, un activateur de la voie mTOR, impliqué dans une voie de survie cellulaire, indépendamment d'AKT. De plus, son inhibition induit leur apoptose et les sensibilise à la Doxorubicine, ce qui pourrait s'expliquer par la diminution de l'expression de GRP78(224). Enfin, les cellules dormantes présentent également un niveau plus important des protéines de l'autophagie, qui est un processus crucial pour leur survie et dont l'UPR est étroitement lié (227).

Ainsi, un lien entre l'UPR et la quiescence est établi, cependant est-ce que l'activation de la voie UPR est une conséquence ou est-ce plutôt un moteur ? (**Figure 24**). Des arguments en faveur des deux hypothèses pourraient se confronter. En effet, on remarque que l'UPR est activé lorsque le phénotype quiescent est en place mais on remarque également que l'activation de PERK en particulier, peut être responsable de cet arrêt en G0/G1 du cycle cellulaire.

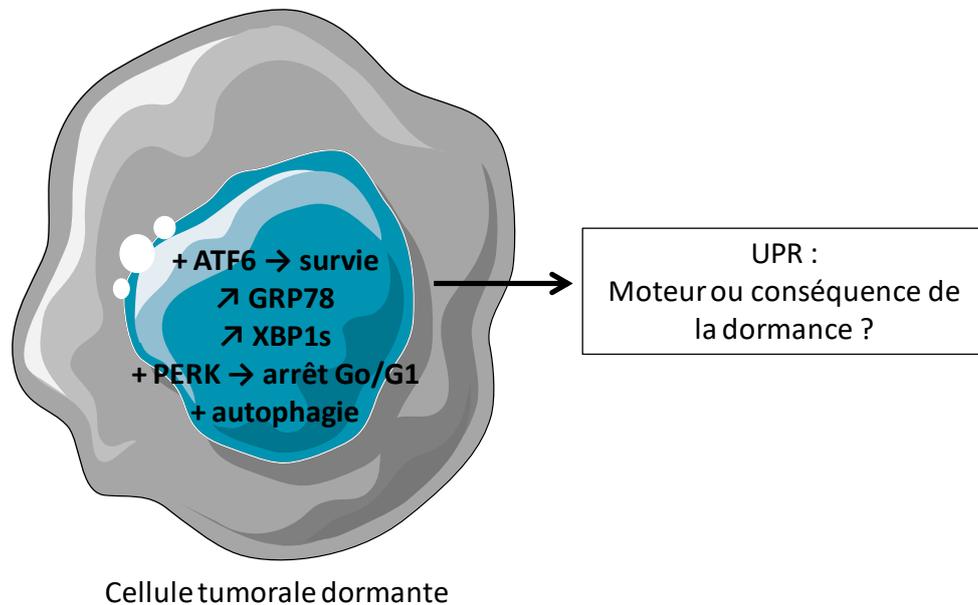


Figure 24 : UPR et dormance. Les cellules dormantes présentent une activation de l'UPR contribuant à la survie et à l'arrêt de la croissance, cependant est-ce une conséquence ou un moteur de cette quiescence ?

II.7. Résistances aux traitements anticancéreux

Les cellules cancéreuses peuvent être résistantes aux chimiothérapies actuelles, ou développer une résistance aux traitements à l'origine de rechute. Il existe différents mécanismes de résistances aux traitements comme l'augmentation de l'expression de pompes d'efflux, la perte ou la modification de la cible thérapeutique, la présence d'enzymes de détoxification conduisant à l'inactivation du médicament ou encore par des mécanismes intracellulaires contrebalançant l'effet du médicament. L'implication de la voie de signalisation de l'UPR a été démontrée comme impliquée dans la résistance aux chimiothérapies, notamment par sa modulation qui restaure la sensibilité aux traitements (**Figure 25**).

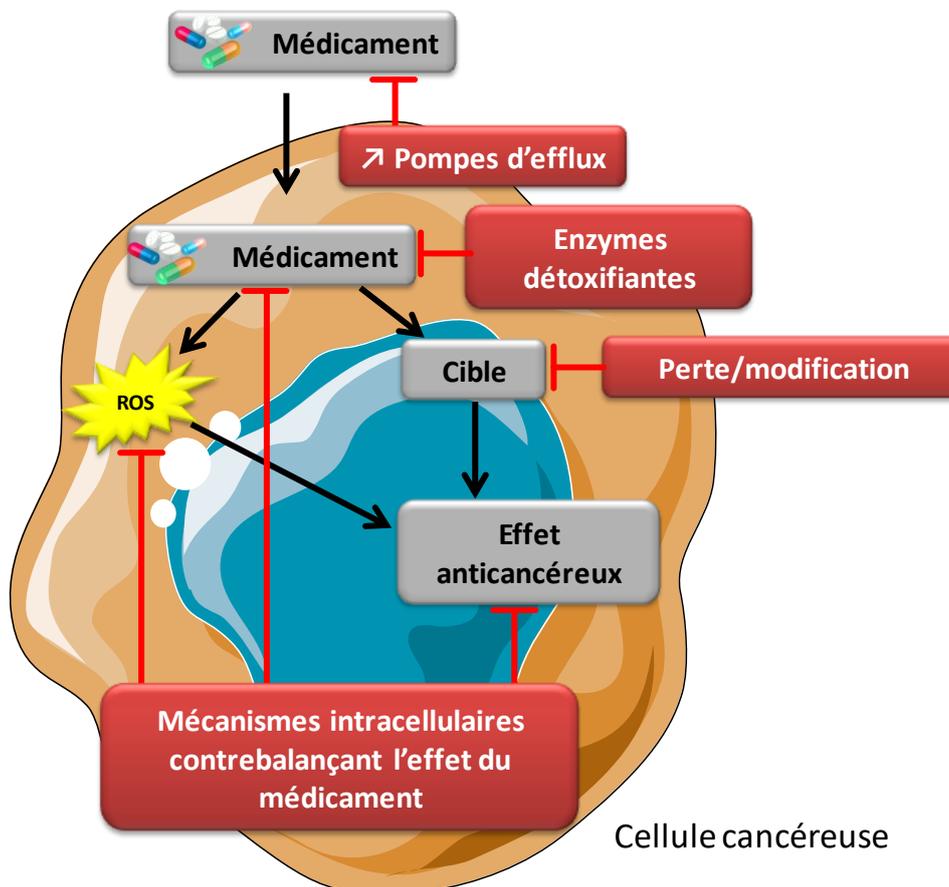


Figure 25 : Mécanismes de résistances aux traitements. L'augmentation de l'expression de pompes d'efflux, l'expression d'enzymes détoxifiantes, la perte ou la modification de la cible, ou encore l'activation de mécanismes intracellulaires contrebalançant l'effet du médicament, sont des éléments contribuant à la résistance aux traitements.

II.7.1. Expression de pompes d'efflux

La branche PERK, via le facteur de transcription Nrf2, induit la surexpression de la pompe d'efflux MRP1 (*Multidrug resistance Related Protein 1*) / ABCC1 (*ABC-transporter C1*), l'une des principales impliquée dans la résistance aux chimiothérapies (228,229). La surexpression de Nrf2 est également associée à l'augmentation de l'expression de la P-gp, une autre pompe d'efflux importante (230).

II.7.2. Enzymes de détoxification

Les cellules cancéreuses sont capables d'exprimer des enzymes de détoxification de phase I et de phase II afin de dégrader le médicament (231,232). Une dégradation trop importante et/ou trop rapide d'un médicament peut être à l'origine d'une inefficacité de celui-ci. Ainsi, l'expression de Nrf2 est corrélée à l'expression d'enzymes détoxifiantes notamment de phase II comme la NQO1 qui détoxifie les quinones et ses dérivés, ou encore des enzymes de conjugaison comme la GST, les UGTs (*UDP-glucuronosyltransferases*) et les sulfotransférases,

permettant notamment la détoxification des molécules électrophiles ou réactives produites par les enzymes de phase I, pour les rendre hydrosolubles et facilement éliminables dans les urines ou la bile (233,234).

II.7.3. Mécanismes intracellulaires contrebalançant l'effet du médicament

II.7.3.1. Dormance

Tout d'abord, la résistance aux traitements peut être attribuée à la dormance des cellules métastatiques par leur manque de prolifération. En effet, les chimiothérapies classiques ciblent préférentiellement les cellules à haut niveau de renouvellement. Comme détaillé dans la partie II.6., l'UPR aurait un rôle dans ce mécanisme de résistance. En effet, la dormance de cellules humaines de carcinome épidermoïde confère une résistance aux traitements comme à la Doxorubicine, un agent intercalant ou encore l'Etoposide, un inhibiteur de la topo-isomérase II. Cette résistance est dépendante de l'augmentation de l'expression de GRP78 et de PERK (222). De plus, ATF6 est également impliqué dans la résistance aux traitements tel que la rapamycine, par son implication importante dans la dormance des cellules (224). Ainsi, via l'augmentation de l'UPR les cellules dormantes se protègent du stress provoqué par les chimiothérapies.

II.7.3.2. Dédifférenciation

Une cellule cancéreuse peut se dédifférencier et acquérir un phénotype de cellule souche. Cela passe notamment par l'induction de l'EMT, et est associé à une résistance importante aux chimiothérapies. La voie UPR est notamment impliquée dans ce processus de dédifférenciation (décrit en partie II.5.2.1). La résistance aux traitements associés à ce phénotype serait notamment attribué à la voie de signalisation de PERK-Nrf2 (209).

II.7.3.3. Réponse antioxydante

Aussi, la résistance à certains agents anticancéreux peut s'expliquer par l'induction de l'expression d'agents antioxydants, comme lors de l'activation de la voie UPR. En effet, certains agents anticancéreux entraînent la formation d'agents oxydants qui sont délétères pour la cellule dans le but de la tuer (235). Ainsi, la

surexpression notamment de Nrf2 est impliquée dans la résistance à ces traitements et est associé à un mauvais pronostic (233).

II.7.3.4. Mécanismes de pro-survie

Dans le myélome multiple, la résistance au bortezomib, un inhibiteur du protéasome, pourrait s'expliquer par la surexpression du gène codant pour GRP78. En effet, cette protéine chaperon serait impliquée dans la formation d'agrésome, une sous-structure périnucléaire où les protéines mal-conformées sont agrégées et ainsi regroupées au sein de la même structure (236). L'agrésome peut être qualifié de protecteur pour la cellule car il pourra être ensuite dégradé par autophagie. Ainsi, lorsque la voie de dégradation des protéines par le protéasome est inhibée, l'accumulation de protéines mal-conformées, toxiques, est normalement délétère, mais la cellule peut échapper à cette thérapeutique en impliquant d'avantage l'autre voie de dégradation des protéines qu'est l'autophagie, par la formation d'agrésomes.

Ainsi, l'induction de l'autophagie est également associée à la résistance à de nombreux traitements (comme les inhibiteurs de récepteurs à tyrosine kinase, Cisplatine, les agents alkylants...) dans plusieurs types de cancer, car cela permet de faire face au stress métabolique induit par les chimiothérapies (81,237). Ainsi, les patients ayant un index autophagique important répondent moins bien aux traitements et ont une plus faible survie (238). L'expression élevée d'ATF4, facteur de transcription important pour la réponse autophagique de l'UPR, est ainsi corrélée à la résistance aux traitements comme aux taxols (239).

Aussi, une surexpression de GRP78 est observé dans de nombreux cancers et est corrélée à la résistance à différents traitements (5FU, inhibiteurs de topoisomérase, etoposide, cisplatine, bortezomib...) et à une faible survie du patient (237,240–244). Ainsi le taux d'expression de GRP78 pourrait être utilisé comme un indicateur prédictif de la réponse aux chimiothérapies. Cela peut s'expliquer par le fait que GRP78 médie une survie cellulaire par plusieurs voies, comme par la liaison et l'inactivation de la caspase 7 (245), ou encore par l'inhibition de BIK, molécule pro-apoptotique, libérant ainsi la protéine BCL-2 anti-apoptotique (246).

Enfin, dans le myélome multiple la surexpression d'XBP1s est fréquente et le ratio XBP1s/XBP1u pourrait être un marqueur pronostique de la réponse aux traitements, notamment au Thalidomide. En effet, XBP1s permet l'expression d'IL6, un élément important pour la prolifération de ces cellules tumorales, un faible ratio

XBP1s/XBP1u témoignerait de la dépendance de ces cellules pour l'IL6 du microenvironnement, inhibait par le Thalidomide. Ainsi, un ratio élevé en XBP1s/XBP1u (supérieur à 1,33) est associé à une faible survie du patient (40 mois contre 56 mois) (247). Cependant, un faible taux d'expression d'XBP1 total est observé dans les cellules résistantes au Bortezomib (248).

II.7.4. Perte ou modification de la cible thérapeutique

Il n'existe pas de liens directs entre la mutation de la cible thérapeutique des différents traitements anticancéreux et l'UPR. Cependant, il existe des mutations sur des effecteurs de l'UPR conférant une résistance à des traitements. Par exemple, la mutation L167I sur la région épissée de l'ARNm d'XBP1 observé chez certains patients atteints de myélome multiple, empêche le splicing XBP1 et confère une résistance au Bortezomib.

Aussi, de nombreuses mutations sur les 3 effecteurs principaux de l'UPR PERK, ATF6 et IRE1 ont été répertoriées à partir de la base de données des mutations somatiques dans le cancer (COSMIC), avec des prédominances différentes en fonction du type de cancer (249). Les conséquences de ces mutations nécessitent d'être approfondies mais cela accentue le fait que ces protéines sont importantes pour la survie des cellules cancéreuses.

II.8. Protéines de l'UPR : de nouveaux marqueurs moléculaires tumoraux ?

Nous avons vu que la voie UPR pouvait être associée à la résistance aux traitements et/ou à l'agressivité de la tumeur, peut-on alors faire de l'expression des protéines de l'UPR un marqueur pronostique ? Le niveau d'expression des protéines de l'UPR a été étudié dans plusieurs types de cancer afin de déterminer s'il existait une corrélation avec le pronostic du patient et/ou la réponse aux traitements. Evaluer les caractéristiques biologiques d'une tumeur d'un patient permet d'augmenter ses chances de survie du fait de l'adaptation du traitement en fonction de la biologie de la tumeur. Ainsi, cela a pour but de lui procurer la prise en charge thérapeutique la plus adaptée à sa tumeur ; on s'oriente de plus en plus vers une médecine dite personnalisée. Le challenge repose sur la découverte d'un marqueur fiable avec un score valide déterminé par une méthode reproductible.

GRP78

Le taux d'expression de GRP78 a été beaucoup étudié dans de multiples tumeurs. La corrélation entre son expression et le pronostic du patient est controversée dans la littérature. Ces divergences pourraient s'expliquer par la méthode de mesure de son expression, prenant en compte ou non son expression membranaire ; par les différents traitements dont les patients ont déjà bénéficiés ; de la tumeur en elle-même et de ses autres caractéristiques génétiques ; de l'environnement tumoral ; de la taille de la population étudiée ; de la méthode d'analyse de corrélation ; ou encore de la méthode de quantification de GRP78 et du seuil sélectionné. Ainsi, peut-être qu'une protéine peut être un marqueur dans un type tumoral et ne pas l'être dans un autre.

Ainsi, GRP78 exprimé à la membrane plasmique constituerait un facteur de bon pronostic dans le cancer du sein et du colon (250,251). Mais cela est controversé pour le cancer du côlon (252). Une expression importante de GRP78 (sans distinction de sa localisation) dans le cancer du poumon et dans le neuroblastome est également associé à une meilleure survie du patient (253,254). A l'inverse, un fort taux d'expression de GRP78 a été associé à une faible survie du patient dans le cancer du sein (255) ; dans les adipocytes du cancer de l'endomètre (242) ; dans le glioblastome (256) ; ou encore le cancer du poumon (257).

XBP1s

L'étude de l'expression d'XBP1s dans les tumeurs pourrait être un marqueur intéressant de pronostic du patient. En effet, l'augmentation de l'expression d'XBP1s (en particulier nucléaire), semblerait être associée à une faible survie dans plusieurs tumeurs comme le carcinome épidermoïde oral, le carcinome hépatocellulaire, le myélome multiple, le cancer du sein ou encore l'ostéosarcome (247,257–262), comme en témoigne ces nombreuses études. A l'inverse, une étude dans la leucémie myéloïde aigue associerait l'expression d'XBP1s et de l'activation de l'UPR en général avec une meilleure survie des patients (263). Aussi, le diagnostic de l'expression d'XBP1s dans le myélome multiple semblerait être très intéressant pour l'adaptation du traitement. En effet, des tumeurs exprimant fortement XBP1s répondraient bien au Bortezomib alors que des tumeurs exprimant faiblement XBP1s répondraient mieux au thalidomide (247,264)

ATF6

Il ne semble pas que l'étude de l'expression d'ATF6 dans le cancer, puisse être un bon marqueur pronostique, ou du moins pas seul (265). En effet, par exemple dans le carcinome biliopancréatique, l'étude de l'expression d'ATF6 n'est pas significativement corrélée au taux de rechutes mais en revanche, l'association d'une expression forte d'ATF6 avec une expression faible en p38-phosphorylé constitue un haut facteur de risque de rechute pour les patients ayant subi une pancréaticoduodénectomie (266). Une étude récente montre que le niveau d'expression d'ATF6 dans l'ulcère colique était un très bon facteur pronostique de l'évolution vers le cancer colorectal et semble même être un facteur plus fiable que celui actuellement utilisé, qui est l'étude de p53. Cela permettrait ainsi de diagnostiquer de manière précoce la transformation néoplasique de l'ulcère (267).

eIF2 α phosphorylé :

Le taux de phosphorylation d'eIF2 α semble également intéressant à évaluer, notamment dans le cancer du poumon non à petites cellules où sa forte expression est associée à une meilleure survie (268). Cela a été également observé dans le cancer du sein triple négatif, mais n'est malheureusement pas applicable aux autres types de ce cancer (269).

Ainsi, on remarque que l'étude du niveau d'expression des protéines de l'UPR peut constituer un facteur pronostique intéressant. On remarque cependant que cela reste difficile à généraliser pour l'ensemble des cancers. En effet, ce qui est vrai pour un type ou sous-type tumoral ne l'est pas forcément pour un autre type de cancer. L'hétérogénéité de la tumeur par ses caractéristiques moléculaires, biologiques, tissulaires ou encore thérapeutiques compliquent les études. La voie UPR est malgré tout une voie de signalisation fortement sollicitée pour la survie des cellules cancéreuses, même si les niveaux d'activations des différentes voies peuvent différer entre les types de cancers, on confirme via ces différentes études que les protéines de l'UPR peuvent être de bons marqueurs pronostiques.

II.9. Tableau de synthèse

Pour conclure, nous constatons que l'UPR est étroitement impliqué dans la physiopathologie du cancer comme en témoigne le **tableau 1** synthétisant cette partie II.

Physiopathologie du cancer		Implication de l'UPR	Impact cellulaire	Référence(s)
Adaptation à l'environnement tumoral	Hypoxie	PERK/IRE1	Croissance et survie en condition hypoxique	(155–158)
		NRF2	Réponse antioxydante	(160)
	Privation nutriments	PERK	Induction transporteurs et enzymes de synthèse des acides aminés - Glycolyse	(37,107,163)
		GRP78 (membrane)	Croissance tumorale	(168,169)
	Inflammation	PERK/IRE1	Sécrétion des exosomes	(167)
Réponse immunitaire	XBP1s	Sécrétion de facteurs inflammatoires par les BMSCs	(170)	
	CHOP/XBP1s	Sécrétion de facteurs pro-inflammatoires par les macrophages Sécrétion molécules immunosuppressives	(171) (171)	
Transformation oncogénique	Oncogènes <ul style="list-style-type: none"> • BRAF • Myc • HRas Suppresseurs de tumeurs <ul style="list-style-type: none"> • TSC1 et 2 • BRCA1 • PTEN 	IRE1/PERK	Autophagie, progression du mélanome	(172,173)
		PERK IRE1α/ATF4	Autophagie Sénescence, prolifération	(174) (175–177)
		PERK GRP78 GRP78/eIF2α	Sensibilise au stress Survie et prolifération Prolifération	(178,179) (180) (181,182)
		XBP1s	Phénotype du MM	(184)
Angiogenèse		GRP78	Stimule angiogenèse, survie des cellules endothéliales	(193–195)
		IRE1	Expression de facteurs pro-angiogéniques	(159,191,196,197)
		XBP1s PERK/eIF2α /ATF4	Induit expression VEGF-A Favorise l'expression de molécules pro-angiogéniques	(190,191) (192,202,203)
Métastase		PERK/IRE1/ ATF6/GRP78 IRE1/XBP1	Induction lors de l'EMT, implication dans le phénotype Expression de facteurs de transcriptions de l'EMT	(209–214) (215)
Dormance		GRP78/ATF6 PERK	Survie des cellules Arrêt du cycle cellulaire et survie	(222–224) (222,225,226)
Résistances aux traitements	Expression de pompes d'efflux	PERK/NRF2	Induction de pompes d'efflux	(228–230)
	Enzymes de détoxification	NRF2	Induction d'enzymes détoxifiantes	(233,234)
	Mécanismes intracellulaires	PERK/GRP78 PERK/NRF2 NRF2 GRP78	Dormance des cellules Dédifférenciation Réponse antioxydante Formation agrégomes, résistance aux IPs	(222) (209) (209) (236)
		ATF4 GRP78	Autophagie, résistance aux taxols Survie des cellules	(239) (237,240–244)

Tableau 1 : Principales implications de l'UPR dans la physiopathologie du cancer.

**Partie III - L'*Unfolded Protein Response* : vers de nouvelles
stratégies thérapeutiques anticancéreuses ?**

Le cancer est un fléau mondial qui constitue la deuxième cause de décès dans le monde après les maladies cardiovasculaires selon l'OMS. La prévention, le dépistage précoce, le diagnostic, et le développement de nouvelles thérapies sont essentiels pour combattre cette maladie. La prise en charge du cancer repose sur trois principaux moyens : la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie. En cancérologie la polychimiothérapie est de mise, c'est-à-dire l'association de plusieurs médicaments pour améliorer l'index thérapeutique, obtenir un effet synergique ou additif, ou encore réduire l'apparition de résistance et de rechute. L'arsenal thérapeutique en oncologie est constitué de différentes classes pharmacologiques : les chimiothérapies cytotoxiques, l'hormonothérapie, les médicaments agissant le système immunitaire ainsi les thérapies ciblées (270).

III.1. Les classes pharmacologiques en oncologie

III.1.1. Les chimiothérapies cytotoxiques

Les chimiothérapies cytotoxiques ne sont pas spécifiques des cellules cancéreuses même si elles touchent principalement les cellules à division rapide. Ainsi, elles présentent de nombreux effets indésirables comme des toxicités hématologiques, digestives puis d'autres toxicités plus ou moins marquées selon l'agent anticancéreux (toxicités rénales, pulmonaires, neuronales, cardiaques...). Ces médicaments peuvent également induire des cancers secondaires, par le fait qu'ils peuvent être mutagènes et cancérigènes.

III.1.1.1. Alkylants et apparentés

Les médicaments alkylants établissent des liaisons covalentes par alkylation de l'ADN empêchant ainsi la transcription et la réplication cellulaire.

On retrouve parmi les alkylants, les dérivés des moutardes à l'azote (Melphalan, Bendamustine, Chloraminophène, Cyclophosphamide, Ifosfamide, Chlorméthine), les dérivés du platine (Carboplatine, Cisplatine, Oxaliplatine), les nitroso-urées (Carmustine, Lomustine, Fotémustine, Streptozocine), les alkylsulfonates (Busulfan) ainsi que d'autres molécules (Mitomycine C, Dacarbazine, Altrétamine, Procarbazine, Témazolomide, Thiotépa, Pipobroman, Trabectedine).

III.1.1.2. Les antimétabolites

Les médicaments antimétabolites vont empêcher l'utilisation d'un métabolite, notamment du fait de la similarité structurale avec ce dernier. Dans le cas du cancer, ils vont empêcher la synthèse de l'ADN et/ou de l'ARN et ainsi induire la mort cellulaire.

On retrouve parmi les antimétabolites, les antifoliques (Pemetrexed, Methotrexate, Raltitrexed), les antipuriques (Nélarabine, Clofarabine, Fludarabine, Thioguanine, Cladribine, Pentostatine, Mercaptopurine), les antiprimidiques (Cytarabine, Capecitabine, Décitabine, Fluorouracile, Gemcitabine, Azacitidine), ainsi que les analogues nucléosidique de la thymidine (Trifluridine), et les inhibiteurs de la thymidine phosphorylase (Tipiracil).

III.1.1.3. Les inhibiteurs des topo-isomérases

Les médicaments inhibiteurs des topo-isomérases provoquent des cassures simples brins (topo-isomérase I) ou doubles brins de l'ADN (topo-isomérase II) inhibant ainsi sa réplication et conduisant à la mort cellulaire.

Les inhibiteurs de la topo-isomérase I sont dérivés de la camptothécine (Irinotécan, Topotécan). Il existe plusieurs inhibiteurs de la topo-isomérase II dérivés ou non des anthracyclines (Doxorubicine, Amsacrine, Etoposide, Daunorubicine, Mitoxantrone, Epirubicine, Idarubicine, Pixantrone).

III.1.1.4. Les agents du fuseau

Il existe deux types de médicament agissant au niveau du fuseau mitotique : les poisons du fuseau et les stabilisants du fuseau. Les poisons du fuseau inhibent la polymérisation des microtubules, arrêtant ainsi les cellules en mitose et induisant la mort cellulaire. Les stabilisants du fuseau stimulent l'assemblage des microtubules et empêchent leur dépolymérisation conduisant ainsi à une stabilisation anormale des microtubules et donc à l'inhibition de la mitose et à la division cellulaire.

On retrouve parmi les poisons du fuseau, les vinca-alcaloïdes et analogues (Vindésine, Vinflunine, Vinorelbine, Vincristine, Vinblastine) et parmi les stabilisants du fuseau, les taxanes (Paclitaxel, Docetaxel, Cabazitaxel). D'autres molécules cytotoxiques agissent sur les microtubules comme l'Eribuline.

III.1.1.5. Autres cytotoxiques

Des antibiotiques cytotoxiques sont utilisés pour le traitement du cancer comme la Bléomycine ou la Dactinomycine, décrits pour inhiber la réplication de l'ADN. Il existe également l'hydroxycarbamide qui inhibe la synthèse de l'ADN ou encore l'arsenic trioxyde qui induit des cassures de l'ADN.

III.1.2. L'hormonothérapie

L'hormonothérapie est utilisée lorsque le développement cancéreux est stimulé par les hormones. Les médicaments bloquent ainsi la synthèse de celles-ci (**Figure 26**). Ils présentent cependant de nombreux effets indésirables qui peuvent impacter la qualité de vie du patient.

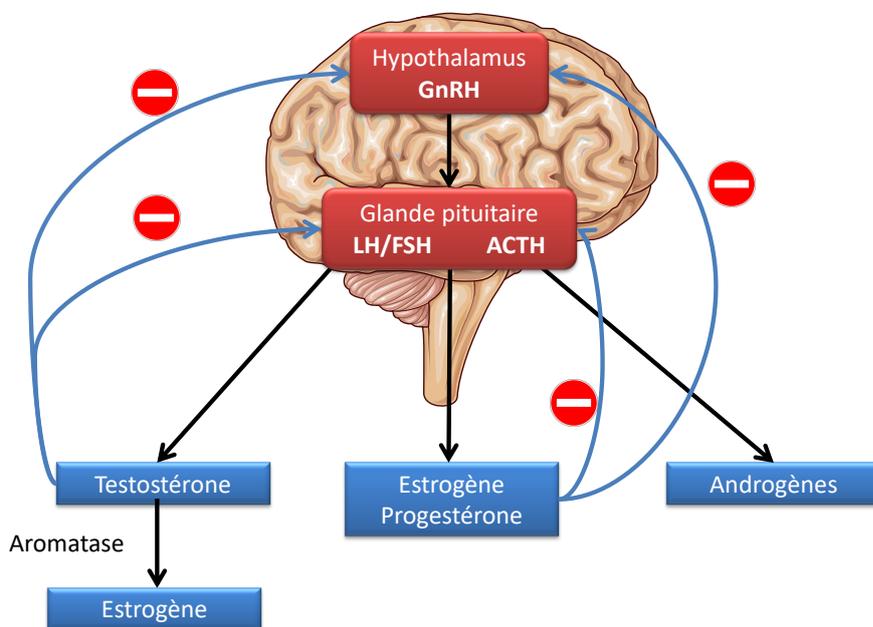


Figure 26 : Schéma représentant l'axe hypothalamo-hypophysaire dans la synthèse des hormones et leurs régulations.

III.1.2.1. Hormones et apparentées

On retrouve parmi les molécules apparentées aux hormones, les analogues de la GnRH (Busérelina, Triptoréline, Leuproréline, Gosérelina), les analogues de la somatostatine (Octréotide, Lanréotide), les estrogènes (diéthylstilbestrol) et les progestatifs (Médroxyprogestérone, Megestrol). Ceux-ci inhibent la synthèse des hormones notamment par un effet de rétrocontrôle négatif.

III.1.2.2. Les antihormones et apparentées

On retrouve parmi les antihormones, les antiestrogènes (Torémifène, Tamoxifène, Fulvestrant) les inhibiteurs de l'aromatase (Anastrozole, Exemestane, Létrozole), les antiandrogènes (Acétate de cyprotérone, Nilutamide, Apalutamide, Bicalutamide, Enzalutamide, acétate d'Abiratérone) et les antagonistes GnRH (Dégarélix).

III.1.3. Agents agissant sur la réponse immunitaire

Des médicaments anticancéreux peuvent agir sur le système immunitaire afin de le stimuler dans le but qu'il lutte contre la tumeur. On retrouve ainsi le TNF α -1a, IFN α -2b, IFN α -2a et l'IL-2 recombinants, des molécules immunomodulatrices (Thalidomide, Pomalidomide, Lénalidomide) ainsi que la thérapie par le BCG (Bacilles Calmette Guérin) (271). Aussi, il existe des thérapies immunocellulaires autologues comme les spécialités Kymriah et Yescarta. Ces thérapies contiennent entre autres des lymphocytes T génétiquement modifiés *ex vivo* afin qu'ils identifient et éliminent les cellules exprimant le CD19.

III.1.4. Les thérapies ciblées

Les médicaments de thérapies ciblées, ciblent une protéine en particulier, comme une enzyme, un récepteur... Ces thérapies augmentent ainsi le pourcentage de réponse car elles répondent à une caractéristique de la tumeur. Il peut s'agir d'anticorps monoclonaux ou de petites molécules chimiques. Cependant, ils ne sont pas exempts de toxicités, ils sont tout aussi toxiques que les médicaments de chimiothérapies cytotoxiques.

III.1.4.1. Les anticorps monoclonaux

Les anticorps monoclonaux ciblent une protéine en particulier afin d'inhiber son action. Les anticorps monoclonaux peuvent également présenter une cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante (ADCC) par la liaison de l'anticorps à une cellule, qui est ainsi reconnue par le système immunitaire afin d'être dégradée. Les anticorps monoclonaux utilisés en oncologie ciblent ainsi des facteurs de croissance comme le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire VEGF (Bevacizumab, Ramucirumab), le facteur de croissance épidermique l'EGFR (Cetuximab, Panitumumab) ou HER2 (Pertuzumab, Trastuzumab), ou encore l'IL-6 (Siltuximab).

Ils peuvent également cibler des antigènes transmembranaires comme le CD20 (Rituximab, Obinutuzumab, Ibritumomab), le CD19 (Blinatumomab) ou encore le CD38 (Daratumumab) sur les cellules B, ou le disialoganglioside 2 présent sur des cellules de neuroblastomes (Dinutuximab β). Ces anticorps peuvent également cibler les lymphocytes T afin de les stimuler, en inhibant le régulateur négatif PD-1 (*programmed death-1*) (Avélumab, Atézolizumab, Durvalumab, Pembrolizumab, Nivolumab, Cemiplimab) ou le régulateur négatif CTLA-4 (Ipilimumab).

Les anticorps monoclonaux peuvent être également conjugués à des agents antinéoplasiques afin qu'ils ciblent spécifiquement la tumeur par la liaison de l'anticorps monoclonal à la cellule cancéreuse. On retrouve par exemple le Bentuximab védotine (un anti-CD30 associé à un poison du fuseau) ; Trastuzumab emtansine (un anti-HER2 associé à un poison du fuseau) ; Gemtuzumab Ozogamicin (un anti-CD33 associé à une molécule induisant des cassures doubles brins de l'ADN); Inotuzumab Ozogamicin (un anti-CD22 associé à une molécule induisant des cassures doubles brins de l'ADN).

III.1.4.2. Les inhibiteurs de kinases

Ces inhibiteurs de kinase ont pour cible une ou plusieurs kinases et bloquent ainsi les signaux liés à ces kinases. On retrouve entre autres des inhibiteurs de BRAF (Dabrafénib, Vemurafénib, Régorafénib, Sorafénib), BCR-ABL (Bosutinib, Imatinib, Panotinib, Dasatinib), mTOR (Temsirolimus, Everolimus), PI3K (Idelalisib), MEK (Cobimetinib, Tramétinib), CDK (Palbociclib, Abémaciclib, Ribociclib), ALK (Alectinib, Brigatinib) VEGF-R (Midostaurine, Vandétanib, Cabozantinib, Axitinib, Lenvatinib) BTK (Ibrutinib), PDGFR (Sunitinib) EGF-R (Osimertinib, Géfinitib, Afatinib) ou encore JAK (Ruxolitinib).

III.1.4.3. Autres médicaments de thérapies ciblées

Il existe aussi d'autres thérapies ciblées, celles ciblant le protéasome (Bortezomib, Carfilzomib, Ixazomib), les protéines BCL-2 (Vénétoclax), la voie Hedgehog impliquée dans la survie (Sonidégib, Vismodégib), les enzymes PARP (Niraparib, Talazoparib, Olaparib), HDAC (Panobinostat). On retrouve également comme thérapies ciblées des enzymes, l'asparaginase, crisantaspase, ou encore une protéine de fusion recombinante ciblant le VEGF (Aflibercept).

III.1.5. Traitements associés

Les agents anticancéreux sont responsables de nombreux effets indésirables, ceux-ci sont souvent associés à d'autres médicaments afin de les atténuer (antiémétiques, chimioprotecteurs, modulateurs de l'activité des antimétabolites, inhibiteurs de la résorption osseuse, médicaments utilisés soins palliatifs, stimulants de l'hématopoïèse, corticoïdes...).

Pour conclure, les chimiothérapies actuelles ont des limites. En effet, elles sont responsables de nombreux effets indésirables, notamment par le manque de spécificité ou par l'index thérapeutique étroit. Le développement de thérapies ciblées permet d'étendre l'arsenal thérapeutique et de cibler des caractéristiques tumorales. Cependant, les risques de rechutes et les résistances aux traitements sont toujours nombreux, c'est pourquoi il est primordial d'approfondir la recherche pour comprendre les mécanismes tumoraux mis en jeu pour développer de nouvelles thérapies anticancéreuses. Une recherche innovante et de qualité est donc requise.

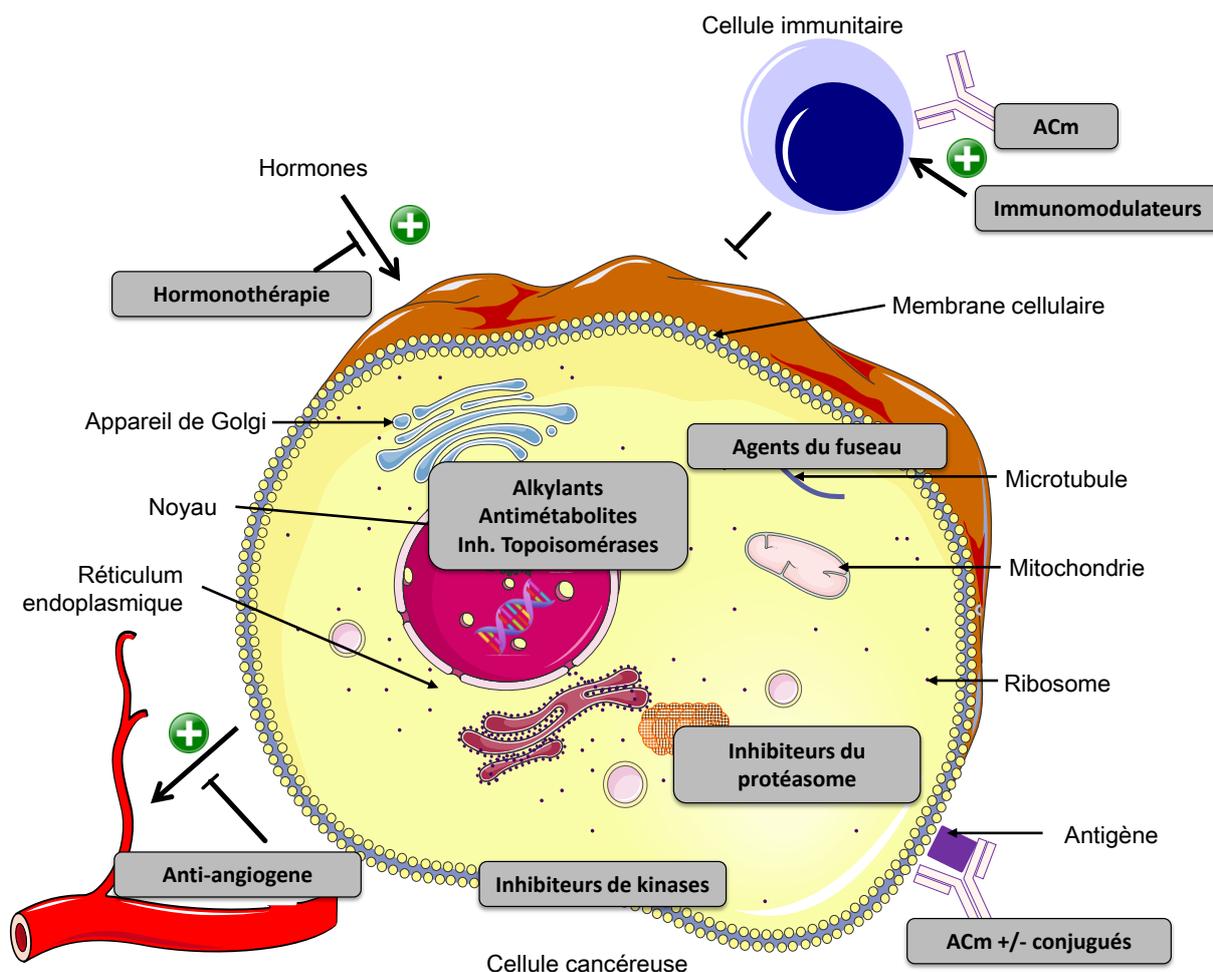


Figure 27 : Les principales classes pharmacologiques en oncologie.

III.2. Cibles thérapeutiques potentielles

Les deux premières parties de cette thèse ont permis de mettre en évidence l'importance de la voie UPR dans la survie des cellules cancéreuses. Du fait de sa frontière étroite avec le destin cellulaire (survie/mort), la voie de signalisation de l'UPR comporte de nouvelles cibles attractives pour le développement de nouvelles thérapies anticancéreuses.

On peut ainsi distinguer 3 groupes de cibles thérapeutiques potentielles vis-à-vis de l'UPR. Le premier groupe se constitue des 3 senseurs de l'UPR et de la protéine chaperon GRP78, à la base de l'induction de cette voie de signalisation. Le deuxième se constitue lui, des protéines impliquées dans la réponse de l'UPR suite à l'activation des 3 senseurs. Enfin, le dernier groupe est composé d'agents stressants qui, par leur mécanisme d'action, induisent une réponse UPR. Ainsi, moduler l'UPR, en l'activant ou en l'inhibant, semble être une stratégie thérapeutique prometteuse.

III.2.1. Les 3 senseurs de l'UPR et GRP78

III.2.1.1. PERK

Le kinome humain est un sous ensemble protéique composé de toutes les kinases cellulaires (plus de 500 kinases décrites). Toutes ces enzymes catalysent une réaction de phosphorylation par la transformation de l'ATP en ADP et le transfert d'un groupement phosphate sur une protéine cible. Découvrir un inhibiteur de kinase relève d'un challenge important notamment en termes de sélectivité vis-à-vis de toutes les kinases décrites. En effet, un moyen pour inhiber une kinase est de mimer son substrat ATP, mais cela est commun à l'ensemble du kinome. Il est donc nécessaire de développer des inhibiteurs sélectifs, basés sur des interactions supplémentaires et assez fortes pour la kinase cible, dans le but de limiter les effets indésirables dû à la non-sélectivité.

PERK est donc une kinase parmi l'ensemble du kinome. Des inhibiteurs de PERK ont été décrits dans la littérature : GSK2606414, un inhibiteur de première génération et GSK2656157, un inhibiteur de seconde génération, amélioré, et développés tous les deux par le laboratoire pharmaceutique GlaxoSmithKline (GSK) (**Figure 28**). GSK2606414 a été découvert à la suite de l'optimisation d'un hit issu d'un criblage d'une librairie ciblée, c'est-à-dire composée de potentiels inhibiteurs de kinase de par leur structure, sur un essai mesurant la capacité de PERK à phosphoryler son substrat. L'optimisation a été basée sur le meilleur compromis

entre l'activité *in vitro*, *in cellulo* et *in vivo*, la sélectivité vis-à-vis d'autres kinases (designé de manière rationnelle grâce à la structure cristallographique d'un composé de la série chimique avec la protéine PERK) ainsi que les propriétés pharmacocinétiques désirés pour une administration par voie orale (faible clairance, bonne biodisponibilité par voie orale). GSK2606414 a démontré une activité antitumorale significative chez la souris (xénogreffe de cellules tumorales pancréatiques humaines), avec l'inhibition d'environ 60% de la croissance tumorale après 21 jours de traitement. Sa sélectivité a été testée sur 294 kinases, où une inhibition de plus de 85% de l'activité de 20 kinases à 10 μ M a été découverte. Cependant, le composé présente une grande sensibilité pour PERK, avec un différentiel de 385 fois par rapport à la deuxième kinase c-kit inhibée par le composé en termes de puissance d'inhibition (272).

GSK2656157 est issu de l'optimisation des propriétés physicochimiques, métaboliques et pharmacocinétiques de GSK2606414. En effet, le composé de première génération est un inhibiteur du CYP2C8, impliqué dans la détoxification de composés comme les médicaments, du fait de sa lipophilie importante. Cela peut être gênant notamment pour les interactions médicamenteuses (273). La polarité du composé a donc été augmentée améliorant ses propriétés pharmacocinétiques tout en conservant l'activité et la sélectivité (inhibition de 17 kinases sur 300 testés à plus de 85% à 10 μ M mais avec une sensibilité plus importante pour PERK) (273).

L'activité anti-tumorale de ces deux composés inhibiteurs de PERK s'expliquerait par l'impact sur l'angiogénèse et le métabolisme des acides aminés (274). Cependant, ils n'ont pas réussi à démontrer de changement dans les niveaux d'expression de protéines de la voie de signalisation de PERK (eIF2 α , ATF4 et CHOP). De plus, des atteintes pancréatiques ont été décrites par l'utilisation de ce composé (diminution du poids des souris, atrophie des cellules acineuses exocrines pancréatiques), mais cet effet serait réversible après l'arrêt du traitement (274).

Un article récent a démontré que ces deux composés de GSK étaient également de puissants inhibiteurs de la kinase RIPK1 (*Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1*) impliquée dans l'induction de la mort cellulaire induite par le TNF lors de l'inflammation. Ces composés ont donc un effet protecteur vis-à-vis de l'induction de la mort par le TNF, indépendamment de l'inhibition de PERK (275). Ceci met en évidence le challenge de la sélectivité pour le développement d'inhibiteurs spécifiques de kinase mais met aussi en garde sur

l'interprétation des effets de ces composés qui sont à mettre en confrontation avec leur sélectivité.

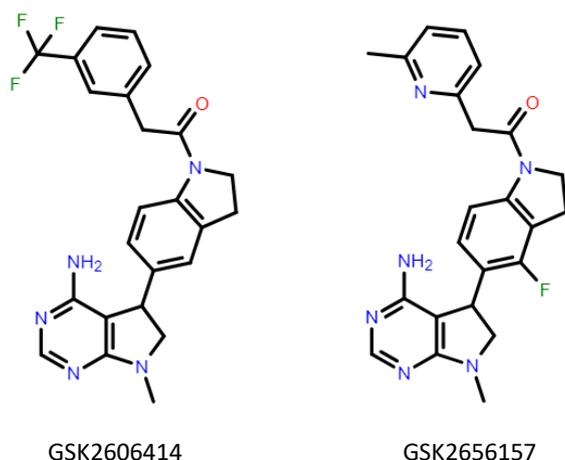


Figure 28 : Structures des molécules GSK2606414 et GSK2656157, décrites comme étant des inhibiteurs de PERK.

III.2.1.2. IRE1

Les composés comportant un motif Hydroxy-Aryl-aldehyde (HAA) inhibent de manière sélective le domaine RNase d'IRE1 α . En effet, ce motif forme une base de Schiff stable avec une lysine du domaine endoribonucléase d'IRE1, ayant pour conséquence la formation d'une liaison covalente avec la cible, bloquant l'accessibilité aux substrats (**Figure 29**) (276,277). Ils agissent de manière non compétitive avec les substrats ARN d'IRE1. On retrouve des composés décrits dans la littérature comportant ce motif : 4 μ 8c, les composés MKC ou encore STF083010 (**Figure 30**). Cibler que le domaine endoribonucléase d'IRE1 α et ne pas toucher son domaine kinase peut être avantageux car ce dernier est responsable de la phosphorylation de JNK et des effets pro-apoptotiques.

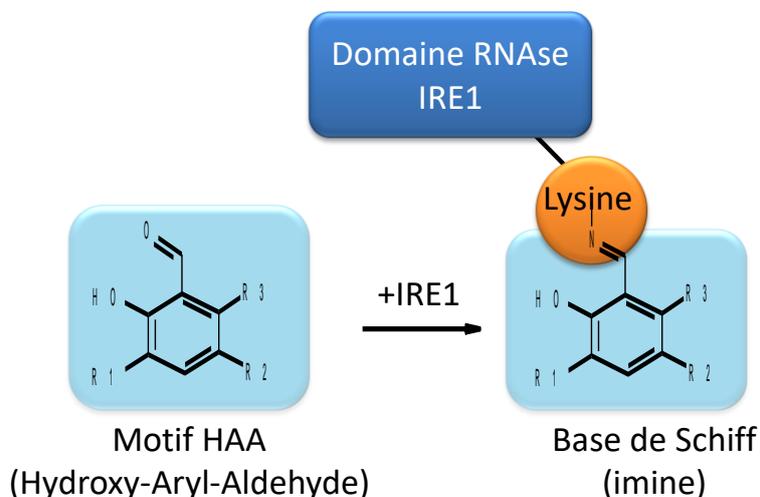


Figure 29 : Liaison covalente entre IRE1 et le motif HAA de petites molécules. Les composés présentant un motif HAA, via l'aldéhyde sont susceptibles de former une base de Schiff avec la lysine du domaine endoribonucléase d'IRE1 via l'amine, formant ainsi une liaison covalente de type imine.

4 μ 8c, a été découvert à la suite d'un criblage de plus de 230 000 composés d'extraits naturels dans le but de trouver des inhibiteurs de l'activité RNase d'IRE1. Cela a permis la découverte d'une classe d'inhibiteur, les umbelliferones (dérivés du 7-hydroxy-4-methylcoumarine). Le 4 methyl umbelliferone 8 carbaldehyde (4 μ 8c ; 7-hydroxy-4-methyl-8-((pyridine-2-ylimino)methyl)-2H-chromenone) est un inhibiteur spécifique de l'activité ribonucléase d'IRE1 α , responsable entre autres de la formation d'XBP1s et de l'activité RIDD. La perte d'XBP1 est particulièrement intéressante pour compromettre le développement et l'intégrité des cellules cancéreuses sécrétrices comme les cellules de myélome multiple, et qui par l'utilisation de ce composé voient leur prolifération diminuée. Les cellules β pancréatiques ainsi que les cellules cancéreuses de colon voient également leur prolifération atténuée par cette molécule (278). 4 μ 8c ne présente cependant pas d'effet synergique avec des inducteurs de stress. De plus, cette molécule aurait, tout comme le composé inhibiteur de PERK de GSK, des effets off-targets notamment un effet « scavenger » de ROS de par sa structure (279). Cela affirme une fois de plus qu'une petite molécule ne peut être à 100% spécifique d'une cible thérapeutique et que l'interprétation de ses effets vis-à-vis de la modulation de la cible est à relativiser. Les effets off-targets ne sont pas forcément indésirables et peuvent être, au contraire, bénéfiques lorsque cela présente un avantage de combiner plusieurs effets dans la pathologie ciblée (par exemple le diabète où une production de ROS est délétère et où l'ARNm de l'insuline est dégradé par l'activité RIDD d'IRE1). Cependant, 4 μ 8c présente des propriétés pharmacocinétiques non favorables à son développement clinique, cette molécule est donc ainsi seulement utilisée comme un outil de modulation d'IRE1 *in vitro* (280).

Aussi, plusieurs composés MKC ont été décrits : MKC8866(281) ; MKC9989(277) ou encore MKC3946 (282). Ce dernier présente un effet modeste seul sur l'inhibition de la croissance tumorale de cellules de myélome multiple (toxicité de 40% sur les cellules les plus sensibles après 48H de traitement avec la dose la plus forte de 12.5 μ M) et présente l'avantage de ne pas induire de toxicité sur des cellules mononucléaires normales. La combinaison de ce composé avec le Bortezomib, provoque un effet additif, alors qu'un effet synergique est observé en association avec le Tanespimycine, inhibiteur de HSP90, actuellement en phase 3 pour le traitement du myélome multiple. La combinaison avec le Bortezomib est toujours efficace même lors de l'ajout du microenvironnement tumoral représenté par

les cellules stromales de la moelle osseuse, et dont on sait que cela promeut la survie des cellules de MM notamment via la sécrétion d'IL-6. Dans une xénogreffe de cellules de MM chez la souris, MKC3946 présente une activité anti-tumorale seul, et la combinaison avec une faible dose en bortezomib augmente la survie de ces souris. Ce composé s'est montré plus efficace *in vivo* qu'*in vitro*, ce qui pourrait s'expliquer par un stress du RE plus important *in vivo*, du fait de la présence d'une hypoxie au niveau de ces tumeurs (282).

Un autre exemple, le STF083010 découvert à la suite d'un criblage cellulaire, est également un inhibiteur de l'activité RNase d'IRE1 α et n'affecte pas son activité kinase (283). Cependant, ce composé actif est instable *in vitro*, son métabolite hydrolysé le 2-Hydroxy-1-naphtaldehyde, est également actif (284). Ce composé démontre une activité cytotoxique, de manière dose dépendante, sur des lignées cellulaires de myélome multiple, de leucémie lymphoïde chronique et dans des cellules cancéreuses pancréatiques (283–285). Il inhibe également la croissance de tumeurs chez la souris ayant subi une xénogreffe de ces cellules de myélome multiple. Enfin, la combinaison de cet inhibiteur d'IRE1 α avec des traitements approuvés dans ces types de cancer, comme la Fludarabine, le Bortezomib ou encore le Dasatinib, montre un effet synergique.

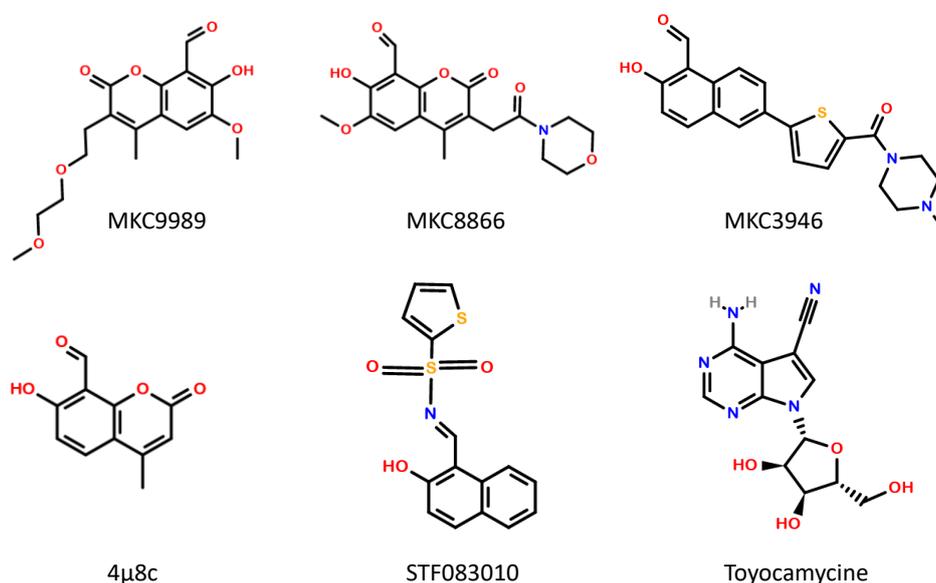


Figure 30 : Structures des composés MKC9989, MKC8866, MKC3946, 4 μ 8c, STF083010 et Toyocamycine décrits comme inhibiteurs de l'activité RNase d'IRE1.

Enfin, la toyocamycine (**Figure 30**), un antibiotique découvert dans les années 1960 de la souche Actinomycete, inhibe également de manière dose-dépendante l'épissage de XBP1u en XBP1s sans affecter l'autophosphorylation d'IRE1 α . Sa structure avec un motif adénosine a été montrée comme importante pour cette activité. Cet antibiotique induit l'apoptose de lignées cellulaires de myélome multiple

résistantes ou non au Bortezomib sans toxicité sur des cellules mononuclées du sang périphérique de donneurs sains. De plus, ce composé démontre un effet additif ou synergique avec le Bortezomib *in vitro* et *in vivo* dans un modèle de myélome multiple (286).

IRE1 α est également une kinase, des compétiteurs de l'ATP ont donc été développés dans le but d'inhiber IRE1 α de manière sélective. Lors du développement de ces molécules, il a été découvert que la liaison d'un ligand au niveau du site de liaison à l'ATP pouvait entraîner une augmentation (inhibiteurs de type I comme APY29, Sunitinib) ou une diminution de l'activité RNase d'IRE1 α (inhibiteurs de type 2 comme les KIRA (*Kinase inhibiting RNase attenuators*)) (287). En effet, les inhibiteurs de kinase d'IRE1 de type I comme APY29 se lient au domaine kinase dans une conformation dite active, et favoriseraient ainsi la formation de dimères/oligomères dont on sait que cette auto-association promeut l'activité RNase d'IRE1. A l'inverse, les inhibiteurs de kinase d'IRE1 de type II comme les KIRAs stabilisent une conformation dite inactive du domaine de liaison à l'ATP et favoriseraient ainsi la forme monomérique d'IRE1 α (**Figures 31 et 32**) (287,288).

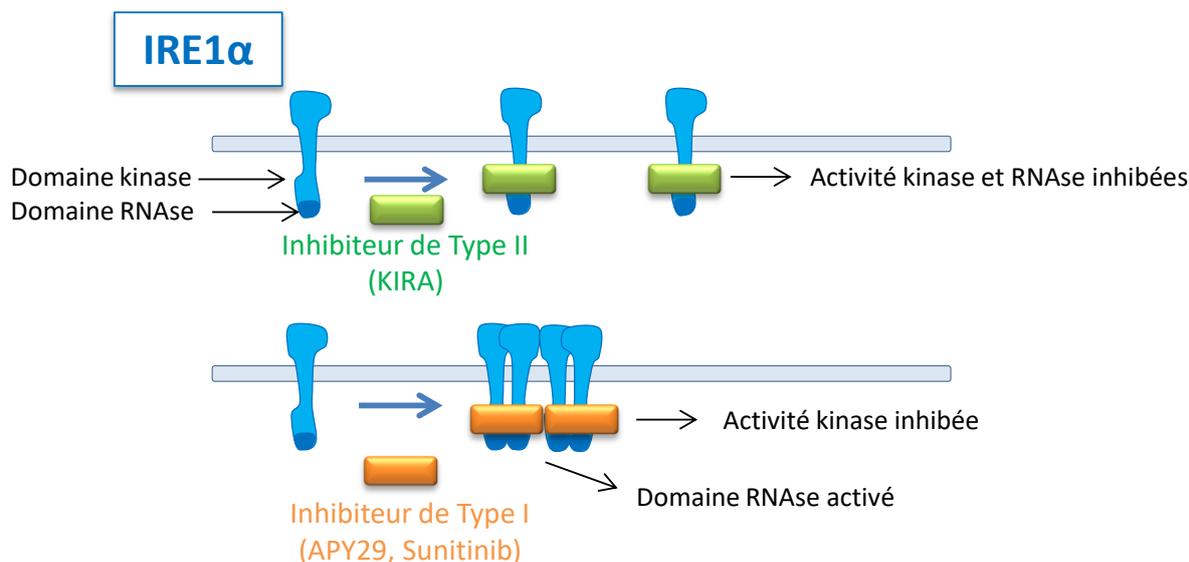


Figure 31 : Principe des inhibiteurs de l'activité kinase d'IRE1 α . Les inhibiteurs de type II comme les KIRA favoriseraient l'état monomérique d'IRE1 α , inhibant aussi l'activité endoribonucléase d'IRE1 α . Les inhibiteurs de type I comme APY29, Sunitinib, favoriseraient l'état oligomérique d'IRE1 α , favorable à l'activité endoribonucléase d'IRE1 α .

Parmi les KIRA on retrouve une aryl-sufonamide développée par Amgen, mais ce composé malgré son inhibition démontrée d'IRE1 α ne montre pas d'effet sur la viabilité d'une centaine de lignées cellulaires cancéreuses *in vitro* (289). Une autre KIRA avec un motif imidazopyrazine (KIRA6) promeut la survie de plusieurs lignées

cellulaires contre différents stress et présente des effets favorables comme traitement antidiabétique (**Figure 32**) (290).

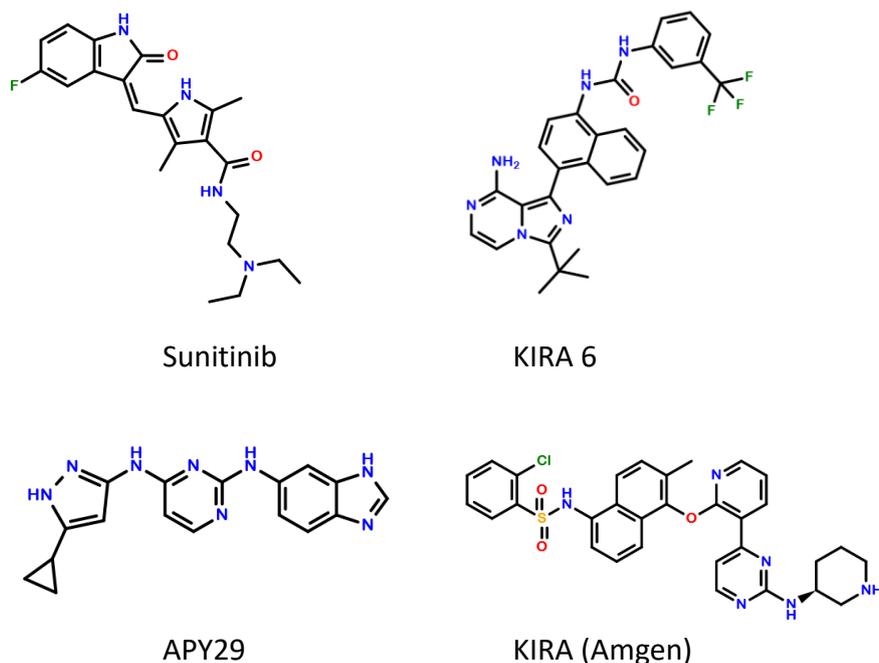


Figure 32 : Structures des composés Sunitinib, KIRA6, APY29 et KIRA (Amgen), décrits comme étant des inhibiteurs de l'activité kinase d'IRE1 α .

Ainsi, on remarque que le senseur IRE1 α a fait l'objet de développement de nombreux modulateurs chimiques probablement par le fait qu'IRE1 ait été le premier senseur caractérisé. Aussi, le développement de modulateurs d'IRE1 n'est pas forcément facile du fait de la présence de deux activités, kinase et RNase, étroitement liées au sein de cette protéine, dont les conséquences biologiques ne sont pas identiques. Pour le développement de thérapies anticancéreuses, on constate qu'il est préférable d'inhiber le domaine RNase d'IRE1 α et cela semble prometteur. Si le développement de ces molécules continue jusqu'en clinique, il faudra prendre en compte le rôle physiologique d'IRE1 α dans l'embryogénèse, où l'inactivation d'IRE1 chez la souris cause la mort de l'embryon (291).

III.2.1.3. **ATF6**

Les Ceapins, sont des pyrazole amides inhibiteurs sélectifs de la voie de signalisation d'ATF6 α (**Figure 33**). Ces derniers inhibent la migration d'ATF6 α du RE au Golgi par favorisation de l'état oligomérique d'ATF6 α (292,293). Ceux-ci n'ont pas d'effet sur la translocation d'ATF6 β et SREBP dont les mécanismes de translocation sont similaires à ATF6 α . En effet, comme précisé dans la première partie de cette thèse, seul ATF6 α sous l'état de monomère peut se rendre jusqu'au Golgi. Le rationnel de découverte de ces inhibiteurs a été un criblage d'environ 100 000

composés, vis-à-vis de l'inhibition de l'expression de gènes régulés par ATF6, par un système rapporteur luciférase induit par la Thapsigargine. Les ceapins seuls ne sont pas toxiques pour les cellules, mais l'association avec un agent stresser augmente la sensibilité des cellules au stress et augmente l'apoptose cellulaire. Cependant, ces composés possèdent des propriétés de pharmacocinétiques insuffisantes pour être étudiées chez l'animal. Des études de relations structure-activité sont nécessaires afin d'améliorer ceux-ci (294).

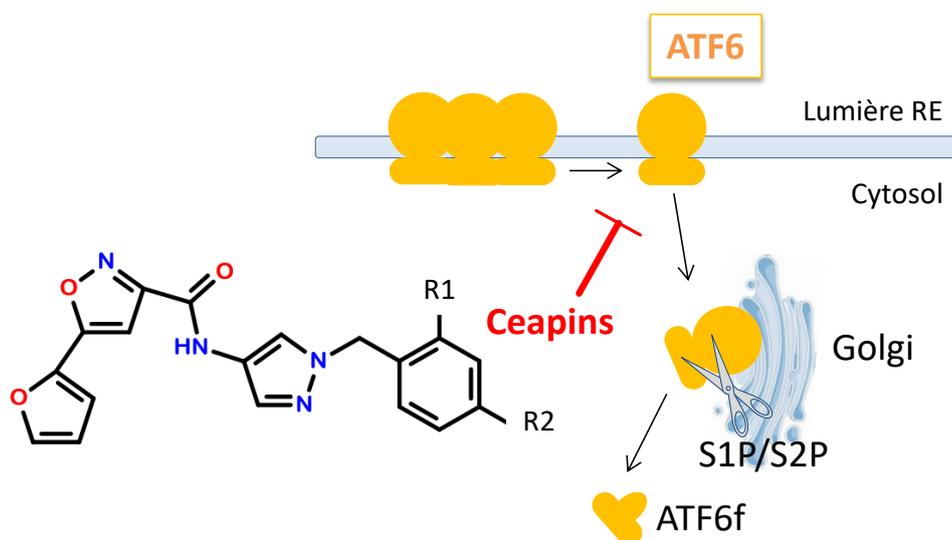


Figure 33 : **Structure des ceapins**, molécules décrites comme étant des inhibiteurs d'ATF6 par favorisation de l'état oligomérique d'ATF6, inhibant ainsi sa translocation jusqu'au Golgi et donc son activation.

III.2.1.4. GRP78

HA-15 ou son analogue 1b de la famille des thiazole benzenesulfonamides sont des inhibiteurs de la chaperon GRP78 (295–298). Suite à l'observation que les Thiazolidinedione (TZD), utilisés auparavant pour le traitement du diabète de type II, induisaient la mort de lignées cellulaires de mélanome, l'équipe française du Dr Stephane Rocchi a optimisé ces produits afin de perdre l'activité sur le récepteur nucléaire PPAR- γ tout en gardant l'activité anticancéreuse (**Figure 34**). Un travail de détermination de la cible a ensuite été réalisé et a permis de trouver que ces composés étaient des inhibiteurs de l'activité ATPase de BIP. Ainsi, ils activent la voie UPR dans les cellules cancéreuses, responsable de la mort cellulaire (autophagie et apoptose). BIP est surexprimée dans plusieurs types de cancer en particulier dans les mélanomes ce qui peut expliquer l'effet de ces molécules et l'absence de toxicité de ces composés sur les cellules saines. HA-15 démontre une activité anticancéreuse puissante sur plusieurs lignées cellulaires cancéreuses (mélanomes, pancréas, leucémie myéloïde chronique, carcinome adrénocortical),

sensibles mais aussi résistantes à des traitements existants, ce qui pourrait être un espoir thérapeutique pour les patients en échec de traitements (297,299). De plus, un traitement prolongé de plus de 4 mois sur des cellules de mélanome de patients, n'entraîne pas de développement de résistance à l'inverse du Vémurafénib utilisé comme comparatif. Aussi, ce composé présente également une activité anticancéreuse *in vivo* sur des xénogreffes de mélanome chez la souris sans toxicités apparentes. Ces composés ont des propriétés pharmacocinétiques favorables pour leurs évaluations *in vivo* et peut être prochainement en clinique chez l'homme (295).

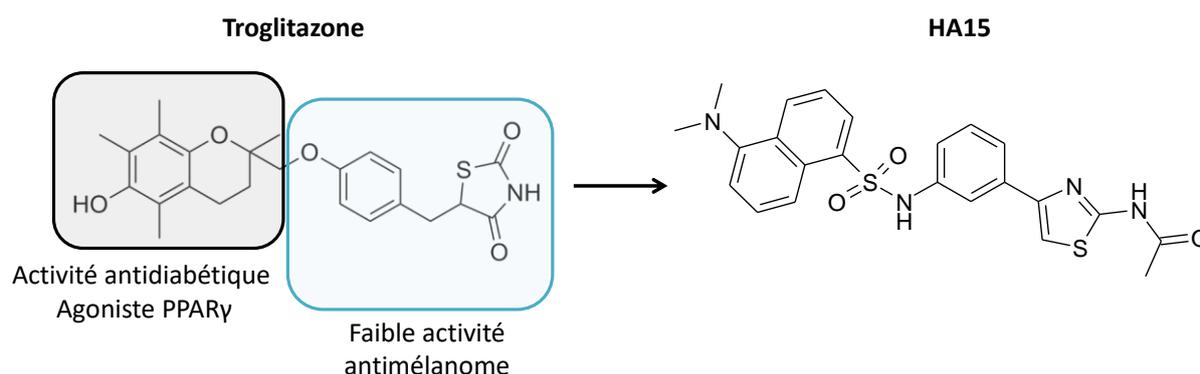


Figure 34 : Rationnel de découverte d'HA15, molécule décrite comme étant un inhibiteur de GRP78. Le troglitazone présente une activité antidiabétique via son activité agoniste sur PPAR γ qui serait dû au motif dihydrobenzopyrane, ainsi qu'une faible activité anticancéreuse qui serait due au motif thiazolidinedione. Après des études de relations structure-activités, HA15 présente une activité anticancéreuse via son motif thiazole benzenesulfonamide.

Il existe d'autres composés dont les effets anticancéreux seraient attribués à une action sur GRP78. Deux exemples, non exhaustif, la molécule OSU-03012 ou encore l'Honokiol (**Figure 35**). Le composé OSU-03012 (2-Amino-N-[4-[5-(2-phenanthrenyl)-3-(trifluorométhyl)-1H-pyrazol-1-yl] phényle]-acetamide) est un dérivé du Celecoxib (sans activité Cyclo-oxygénase 2 (COX2)) et ayant des effets anticancéreux sur des cellules de leucémie lymphoïde chronique, de myélome multiple, de glioblastome ainsi que sur des cellules cancéreuses du sein et du pancréas. Son activité anticancéreuse a été attribuée à l'inhibition de PDK-1 (*Phosphoinositide-dependent protein kinase-1*), Aurora kinase A ainsi qu'à GRP78. En effet, OSU-03012 diminue l'expression de GRP78 et la surexpression de cette dernière abolit son effet anticancéreux (300). Ce composé est allé en Phase 1 clinique pour le traitement des tumeurs solides ainsi que des lymphomes. Cependant, lors de cette étude, le composé a montré des propriétés pharmacocinétiques très variables ainsi qu'une absorption limitée. Une optimisation de la formulation galénique est en cours (301). Aussi l'Honokiol, un composé biphénolique dérivé du Magnolia, induit l'apoptose de plusieurs lignées cellulaires

cancéreuse. Ce composé aurait plusieurs cibles dont GRP78. Il serait notamment un ligand du domaine ATPase de cette dernière en formation, ce qui serait responsable de l'induction d'un stress du RE délétère pour la cellule (302).

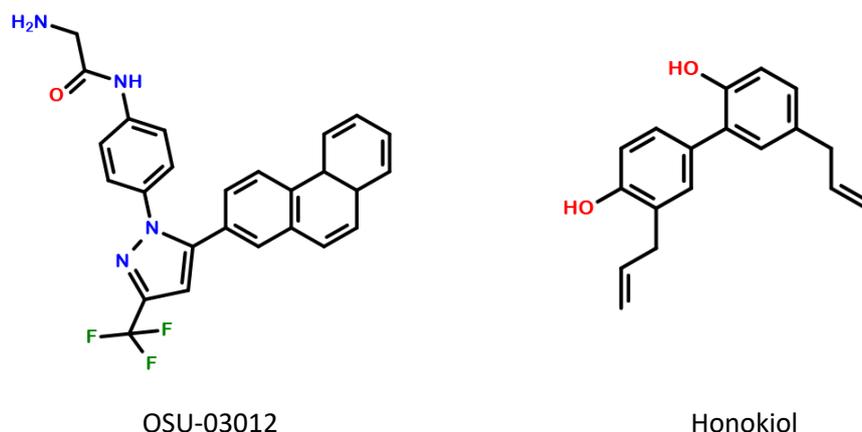


Figure 35 : Structures des molécules OSU-03012 et Honokiol, décrites comme modulatrices de GRP78.

III.2.2. Les protéines impliquées dans la réponse UPR

III.2.2.1. RTCB

Le complexe RTCB ligase permettant la formation du facteur de transcription XBP1s pourrait être une cible intéressante pour le développement de molécules à propriétés anticancéreuses(303). En effet, cela permettrait la diminution de l'expression d'XBP1s, dont on sait que cela joue un rôle crucial dans plusieurs types de cancer, comme le myélome multiple ou encore la leucémie lymphoïde chronique. De plus, il a été démontré que la formation de cette forme épissée d'XBP1 était spécifique de cette ligase, ce qui en fait une cible attractive. L'abolition de cette ligase diminue la durée de vie des cellules exposées à un stress (304). A ce jour, il n'y a pas de petites molécules décrites comme étant des inhibiteurs de cette ligase. Si des molécules sont en développement, il faudra prendre en compte que cette ligase permet également la ligation d'ARN de transfert, pouvant être à l'origine d'effets indésirables dû à des défauts de traduction. Ces molécules devront donc, si possible, présenter une certaine sélectivité vis-à-vis du substrat.

III.2.2.2. EIF2

Des molécules empêchant la déphosphorylation d'eIF2 α ont été identifiées. Tout d'abord, Guanabenz, un agoniste α 2 adrénergique utilisé dans le traitement de l'hypertension artérielle, a été identifié comme un inhibiteur de l'interaction protéine-

protéine GADD34-PP1c, responsable de la déphosphorylation d'eIF2 α (**Figure 36**). Cette inhibition est spécifique de GADD34 et n'affecte pas CReP. Cependant, ce n'est pas une activité partagée par d'autres agonistes α 2 adrénergique (305). L'utilisation de ce composé protège les cellules β pancréatique et HeLa contre l'induction d'un stress par la Tunicamycine (306). Dans le contexte thérapeutique du cancer, Guanabenz présente une activité anti-tumorale par l'induction de l'apoptose de cellules de carcinome hépatocellulaire (307). Salubrinal, un composé qui promeut la phosphorylation d'eIF2 α , par l'inhibition très probable des phosphatases GADD34 et Crep, montre également un effet cytoprotecteur dans des cellules de phéochromocytome contre l'exposition à des différents agents stresseurs (Tunicamycine, Brefeldin A) (**Figure 36**) (308). L'utilisation de ces deux composés serait intéressante dans les pathologies à protéines mal-conformées. L'utilisation de Salubrinal dans le contexte thérapeutique du cancer, montre un effet synergique lors de la combinaison avec les inhibiteurs de protéasome sur des lignées cellulaires de leucémie et sur des cellules de myélome multiple (286,287).

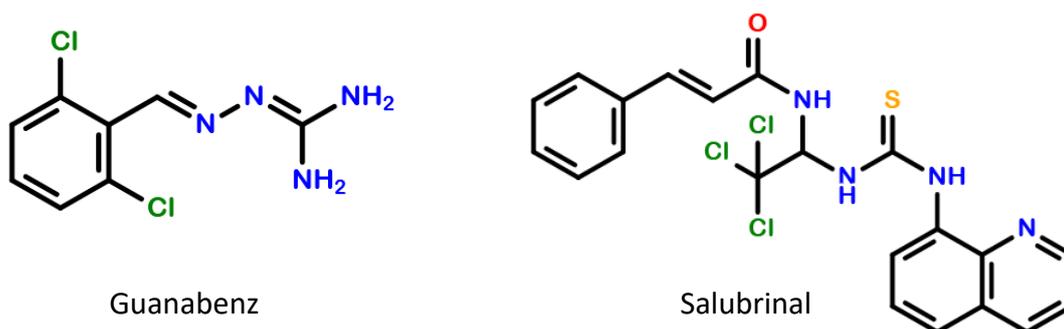


Figure 36 : Structures de Guanabenz et Salubrinal, décrites comme étant des molécules inhibant la déphosphorylation d'eIF2 α .

Ainsi, on remarque que l'utilisation de ces composés dans le contexte thérapeutique du cancer est dépendant du type cellulaire et du type de stress induit dans la cellule, du fait que ces composés présentent dans certains contextes un effet cytoprotecteur et dans un autre contexte un effet potentiateur de la cytotoxicité. Il existe de nombreuses phosphatases cellulaires, présentant un large panel de protéines cibles, ce qui rend difficile la conception d'inhibiteurs de la phosphorylation ou déphosphorylation de substrats particuliers. Le fait que ces phosphatases, comme PP1c, présentent une unité catalytique interagissant avec des unités régulatrices, comme GADD34, cela peut être un moyen d'augmenter la spécificité d'action vis-à-vis de substrats par le développement d'inhibiteurs de l'interaction protéine-protéine.

Cependant, le développement de ces inhibiteurs peut s'avérer être difficile, du fait de la grande surface d'interaction et souvent plane entre deux protéines, mais la découverte, certes fortuite, de Guanabenz comme un inhibiteur de l'interaction protéine-protéine est la preuve que cela n'est pas impossible.

A l'inverse, les ISRIB (*Integrated Stress Response Inhibitor*) sont de petites molécules symétriques qui rendent insensibles les cellules aux effets de la phosphorylation d'eIF2 α (**Figure 37**). En effet, ils seraient des activateurs du complexe eIF2B par la favorisation de la formation du dimère, empêchant ainsi les changements traductionnels induits par la phosphorylation d'eIF2 α (311). L'utilisation des ISRIB dans le contexte thérapeutique du cancer, en particulier dans le cancer de la prostate où la phosphorylation d'eIF2 α est un marqueur de faible survie pour les patients, a montré une cytotoxicité prometteuse sur un modèle murin de tumeur de la prostate présentant une forte phosphorylation d'eIF2 α , sans toxicité apparente pour la souris. De plus, une inhibition de la dissémination métastatique a été également observée (312).

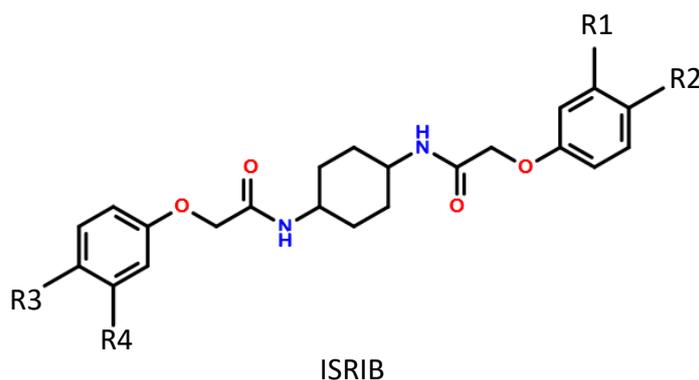


Figure 37 : **Structure des molécules ISRIB**, décrites comme étant des activateurs du complexe eIF2B.

Ainsi, on remarque que favoriser la phosphorylation d'eIF2 α ou empêcher l'action de cette dernière peut s'avérer intéressant pour le traitement du cancer. Cela souligne d'avantages que cibler une protéine de l'UPR, en l'inhibant ou en l'activant entraîne un déséquilibre de la balance de cette voie de signalisation, qui est délétère pour la cellule cancéreuse qui avait trouvé un équilibre vital.

III.2.2.3. Nrf2

Nrf2 est le principal facteur de transcription de la voie UPR responsable de la réponse antioxydante. Il faut savoir que Nrf2 est également induit par de multiples

facteurs (stress oxydatif, inflammation, hormones etc.), il n'est donc pas spécifique de la voie UPR (313). Nrf2 est surexprimé dans plusieurs types de cancer dans lesquels il est associé à un mauvais pronostic, ainsi le développement d'inhibiteurs de Nrf2 semble être une piste thérapeutique intéressante. A l'inverse, l'activation de Nrf2 semble être également envisagée comme réponse antioxydante en chimioprévention du cancer, c'est-à-dire perturber ou retarder les voies moléculaires conduisant à la cancérogénèse. Du fait d'une connaissance accrue de ce facteur de transcription, de nombreux modulateurs de Nrf2 ont été développés mais aucun modulateur spécifique n'est pour le moment sur le marché(314).

On peut citer de manière non exhaustive parmi les inhibiteurs les composés ML385 (315); AEM1 (*ARE expression modulator 1*) (316) ; IM3829 (317); le corticoïde, le propionate de Clobetasol (318) ; mais aussi des composés naturels comme le Brusatol (319) ou encore l'acide rétinoïque (320) (**Figure 38**). Ces inhibiteurs de Nrf2, par divers mécanismes (augmentation de sa dégradation, inhibition de sa translocation dans le noyau ou encore l'inhibition de sa liaison à son promoteur) montrent une activité anti-tumorale intéressante sur des lignées cellulaires ou tumeurs, présentant des mutations ou non de Keap1 avec une surexpression de Nrf2, seul ou en combinaison avec des agents anticancéreux déjà approuvés.

Parmi les activateurs, nous pouvons citer par exemple l'omaveloxolone, un ligand de Keap1 permettant de limiter la dégradation de Nrf2, en phase II dans le mélanome en combinaison. L'omaveloxolone démontre une activité anti-tumorale prometteuse, malgré une non spécificité vis-à-vis de Nrf2 mais favorable pour le traitement du cancer, notamment envers la voie de signalisation de NFkB (321). Son analogue, le Bardoxolone, présente également une activité anticancéreuse intéressante (322). Cependant, celui-ci a présenté des effets indésirables cardiovasculaires en phase III pour le traitement des complications rénales du diabète, pouvant limiter son développement (**Figure 38**) (323).

Ainsi, on remarque qu'il existe des molécules déjà connues possédant des effets sur la modulation de Nrf2 (clobétasol cité précédemment, mais aussi la Metformine par exemple), ce qui peut constituer une stratégie de repositionnement parfois plus rapide et moins coûteuse que le développement de nouveaux médicaments, avec cependant le risque d'inefficacité et/ou de manque de sélectivité. On remarque également que moduler Nrf2 dans le cancer est une fois de plus une balance dont il faut estimer si un activateur ou un inhibiteur de celui-ci est plus

avantageux pour l'effet escompté. L'établissement du profil Nrf2 de la tumeur semble être également un point important pour déterminer l'efficacité de ces agents.

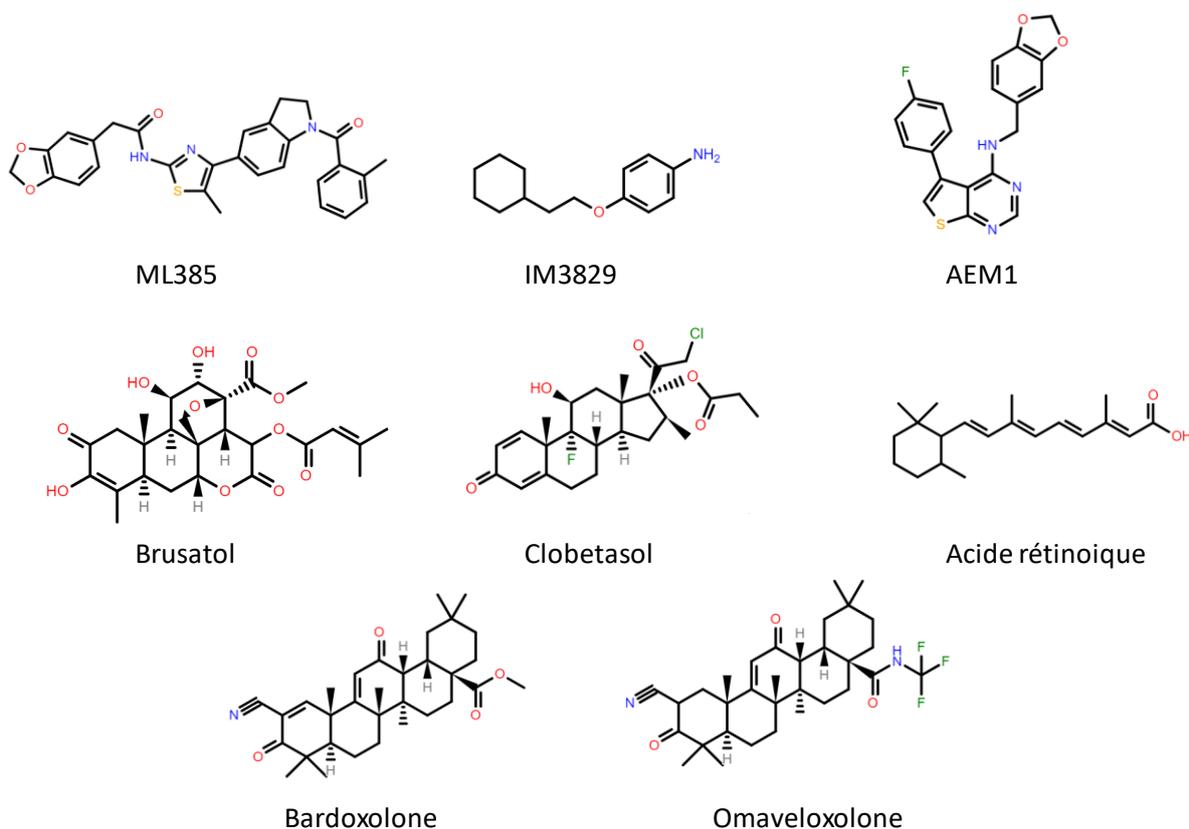
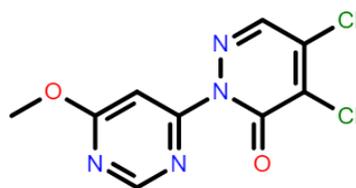


Figure 38 : Structures des molécules ML385, IM3829, AEM1, Brusatol, Clobetasol, acide rétinoïque, décrites comme étant des inhibiteurs de Nrf2 et Bardoxolone, Omaveloxolone, décrites comme étant des activateurs de Nrf2.

III.2.2.4. CHOP :

La petite molécule LGH00168 serait un activateur de CHOP, en induisant l'expression de gènes induit par CHOP via la liaison aux promoteurs de ce dernier (**Figure 39**). Ce composé a montré une activité anticancéreuse *in vitro* sur plusieurs lignées cancéreuses (poumon, colon, utérus, sein, ovaire, foie), et *in vivo* dans une xénogreffe de cellules cancéreuses pulmonaires chez la souris. Cependant, il induirait plutôt la mort cellulaire par nécrose que par apoptose, ce qui pourrait être un avantage par l'induction d'une réponse immunitaire à la suite de cette mort cellulaire (324). De plus, cela entraînerait la mort des cellules indépendamment de p53 dont on sait qu'il peut être muté dans certains types de cancer.

Ainsi, cette petite molécule cible un effecteur terminal de la voie UPR impliqué dans la mort cellulaire. Cela semble efficace sur les lignées cancéreuses mais il serait également intéressant de connaître sa sélectivité vis-à-vis de cellules saines non stressées.



LGH00168

Figure 39 : Structure de la molécule LGH00168, décrite comme étant un activateur de CHOP.

III.2.3. Les agents stressants

Il existe des molécules appelées agents stresseurs qui induisent, par leur mécanisme d'action, un stress du RE, conduisant à l'activation de la voie UPR. Ces molécules sont utilisées comme des outils d'étude de cette réponse. Certaines sont développées comme médicament afin d'induire un stress, dont l'effet serait délétère dans les cellules cancéreuses, à condition d'obtenir un profil pharmacocinétique et pharmacodynamique favorable à l'utilisation chez l'homme.

Tout d'abord, la tunicamycine est un antibiotique naturel inhibant la N-glycosylation des protéines via son action sur l'enzyme GlcNac phosphotransférase (**Figure 40**). L'inhibition de cette enzyme, nécessaire aux modifications post-traductionnelles essentielles au bon fonctionnement des protéines, conduit à l'accumulation de protéines mal-conformées dans la cellule et à l'activation de la réponse UPR. La tunicamycine constitue ainsi l'outil chimique le plus utilisé en recherche pour l'étude de la voie UPR, car l'ensemble des branches est activé. S'agissant d'un mécanisme cellulaire global, l'effet de la Tunicamycine ne peut cependant pas être résumé qu'à l'activation des voies UPR. L'étude de la tunicamycine *in vitro* et *ou in vivo* démontre une activité anti-cancéreuse, seul ou en combinaison avec des agents anticancéreux sur plusieurs types de cancer (poumon, ovaire, prostate, myélome multiple...) (325–327). Cependant, ayant une fenêtre étroite d'efficacité du fait d'une toxicité hépatique, son utilisation en clinique est impossible (328).

La thapsigargine, molécule extraite d'une plante *Thapsia garganica* L, est un inhibiteur de la pompe SERCA (*sarco/endoplasmic reticulum* Ca²⁺ ATPase), qui normalement permet l'entrée du calcium du cytoplasme au RE par l'hydrolyse de

l'ATP (**Figure 40**). L'accumulation de Ca^{2+} dans le cytosol perturbe le RE et conduit à l'activation des voies UPR par l'accumulation de protéines mal-conformées, ce qui en fait également un bon outil d'étude. Tout comme la Tunicamycine, l'effet de la Thapsigargine n'est pas seulement dû à l'induction de la voie UPR, mais aussi aux autres conséquences qu'entraîne l'accumulation de calcium dans le cytoplasme, notamment l'induction de la mort cellulaire. Cette molécule présente une cytotoxicité non spécifique aux cellules cancéreuses.

Du fait de sa non-spécificité aux cellules cancéreuses, une pro-drogue (composé qui n'a pas d'effet pharmacologique en lui-même mais qui une fois transformé par le corps permet la libération/production d'un composé actif pharmacologiquement) de la Thapsigargine a été créée : la Mipsagargine. La Thapsigargine est couplée à un peptide inerte, améliorant la solubilité et présentant un motif de clivage spécifique de l'enzyme carboxypeptidase PSMA (*prostate-specific membrane antigen*). Cette enzyme est présente principalement au niveau des cellules endothéliales de certaines tumeurs, elle est faiblement exprimée dans les tissus normaux (prostate, tubule proximal, duodénum) et non exprimée au niveau des cellules endothéliales vasculaires normales (329). Ainsi, l'agent cytotoxique Thapsigargine est directement libéré au niveau des cellules exprimant la PSMA, soit principalement les cellules cancéreuses, à haute concentration permettant ainsi une spécificité d'action. Mipsagargine est actuellement en phase 2 pour le traitement du glioblastome et du carcinome hépatocellulaire.

Brefeldin A est une lactone macrocyclique produite par *Penicillium brefeldianum*, connue pour inhiber le transport des protéines du RE au Golgi (**Figure 40**). La Brefeldin A induit ainsi une accumulation de protéines mal-conformées dans la cellule à l'origine de la réponse UPR. Cette molécule démontre une activité anticancéreuse dans plusieurs types de cancer (330–332) mais est uniquement utilisé en recherche comme outil d'étude du fait de propriétés pharmacocinétiques très défavorables (333).

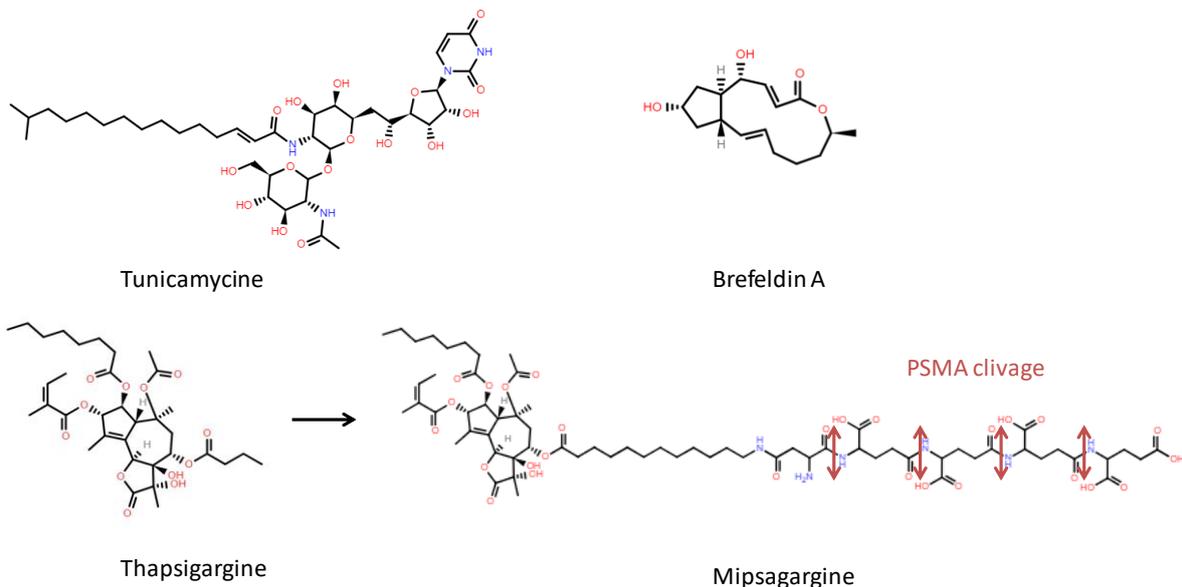


Figure 40 : Structures des molécules Tunicamycine, Brefeldin A, Thapsigargin et Mipsagargin, décrites comme étant des agents stressants. La Mipsagargin est une pro-drogue de la Thapsigargin, présentant des motifs de clivage de l'enzyme carboxypeptidase PSMA, principalement exprimée au niveau des cellules cancéreuses.

Les inhibiteurs de protéasome (IP), par leur mécanisme d'action principal qui est l'inhibition de la voie de dégradation des protéines par le protéasome, entraîne une accumulation de protéines mal-conformées dans la cellule causant secondairement l'activation de la voie de signalisation UPR (334,335). L'action des IPs n'est donc pas limitée à l'activation de la voie UPR mais aussi à l'action des protéines qui ne sont plus dégradés et qui jouent un rôle sur le destin cellulaire. Des inhibiteurs de protéasome sont déjà approuvés pour le traitement du myélome multiple comme le Bortezomib, le Carfilzomib ou encore l'ixazomib (**Figure 41**). L'Oprozomib est un inhibiteur du protéasome actuellement en phase 3 de développement.

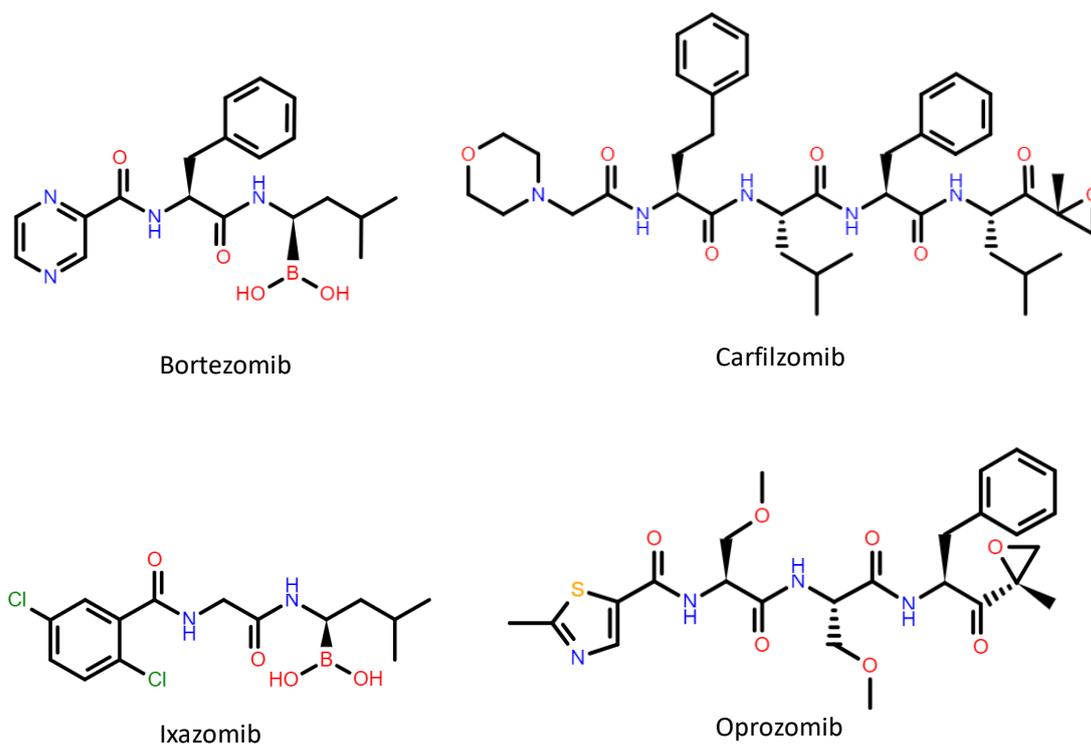


Figure 41 : Structures du Bortezomib, Carfilzomib, Ixazomib et Oprozomib, décrites comme étant des inhibiteurs du protéasome.

III.3. Combinaison des modulateurs de l'UPR avec des médicaments déjà approuvés

Les associations de médicaments pour le traitement du cancer est une stratégie thérapeutique intéressante pour augmenter l'efficacité de ceux-ci (effet synergique, effet additif ou effet booster ; tumeurs hétérogènes ...), réduire l'apparition de résistance et de rechutes par la combinaison de mécanismes d'actions distincts, permettre de raccourcir les durées de traitement, ou encore diminuer les posologies afin de limiter l'apparition d'effets indésirables. Les combinaisons thérapeutiques présentent de nombreux avantages mais nécessitent aussi une observance plus importante pour le patient qui doit ainsi prendre plusieurs médicaments. Une association de plusieurs molécules au sein d'un même comprimé serait un atout, mais cela peut s'avérer difficile à mettre au point, notamment lorsque les composés sont développés par des laboratoires différents, mais aussi car cela nécessite des études de compatibilité galénique, pharmacocinétique et pharmacodynamique.

On remarque particulièrement que l'association d'agents modulateurs de l'UPR avec d'autres agents cytotoxiques serait intéressante, du fait de la dualité de

réponse de l'UPR, dans le but de garantir un destin de mort cellulaire aux cellules cancéreuses.

Ainsi, de nombreuses études démontrent l'effet additif (l'effet de la combinaison est égale à la somme des effets des agents seuls) ou synergique (l'effet de la combinaison est supérieure à la somme des effets des agents seuls) des combinaisons d'agents modulateurs de l'UPR avec des agents stressants, et en particulier les inhibiteurs du protéasome déjà approuvés comme agents anticancéreux, mais aussi avec d'autres agents cytotoxiques sur le marché. Certaines combinaisons ont été précédemment évoquées dans la précédente partie.

Ainsi, les exemples suivants permettent de mettre en exergue les propos précédents mais n'en sont pas une liste exhaustive. L'inhibiteur de PERK, GSK2606414 combiné à la digoxine, un glucoside cardiotonique utilisé dans l'insuffisance cardiaque mais démontrant des effets anticancéreux, démontre un effet de combinaison sur un modèle murin de leucémie (336). La digoxine seul est également activateur de la voie UPR. Les inhibiteurs d'IRE1 α ont été également étudiés en combinaison avec des agents anticancéreux. Le composé MKC-3946 présente un effet de combinaison avec le Bortezomib dans un modèle murin de myélome multiple (282). Les ceapins, inhibiteurs d'ATF6, sensibilisent les cellules d'ostéosarcome à l'agent stresseur Thapsigargine (294). Concernant GRP78, l'inhibiteur HA15 montre un effet synergique *in cellulo* avec le mitotane, le seul traitement approuvé pour le carcinome corticosurrénalien (299).

Par conséquent, on constate qu'un modulateur de la voie UPR, seul mais aussi en association avec d'autres agents anticancéreux est une stratégie thérapeutique anticancéreuse prometteuse (**Tableau 2**).

Voie	Cible	Nom	Mécanisme d'action	Etape de développement pour l'indication anticancéreuse	Référence(s)
PERK	PERK	GSK2606414	Inhibiteur de l'activité kinase	Préclinique	(272)
		GSK2656157	Inhibiteur de l'activité kinase	Préclinique	(273,274)
	EIF2 α	Guanabenz	Inhibiteur de l'interaction GADD34-PP1c	Essai de repositionnement	(305–307) NCT02443103
		Salubrinal	Inhibiteur de GADD34	Préclinique	(309,310)
		ISRIB	Activateur du complexe EIF2B	Préclinique	(311,312)
	NRF2	ML385	Inhibiteur	Préclinique	(315)
		AEM1	Inhibiteur	Préclinique	(316)
		IM3829	Inhibiteur	Préclinique	(317)
		Brusatol	Inhibiteur	Préclinique	(319)
		Clobetasol	Inhibiteur	Préclinique	(318)
		Acide rétinoïque	Inhibiteur	Préclinique	(320)
		Bardoxolone	Activateur	Phase I/II	(322,323) NCT00529438 NCT00529113
		Omaveloxolone	Activateur	Phase II	(321) NCT02029729 NCT02259231 NCT03593499
	CHOP	LGH00168	Activateur	Préclinique	(324)
	IRE1	IRE1	MKC9989	Inhibiteur de l'activité RNase	Préclinique
MKC8866			Inhibiteur de l'activité RNase	Préclinique	(281)
MKC3946			Inhibiteur de l'activité RNase	Préclinique	(282)
4 μ 8c			Inhibiteur de l'activité RNase	Préclinique	(278–280)
STF083010			Inhibiteur de l'activité RNase	Préclinique	(283–285)
Toyocamycine			Inhibiteur de l'activité RNase	Préclinique	(286)
Sunitinib			Inhibiteur de l'activité kinase	Indiqué dans les cancers du rein, tumeurs neuroendocrines du pancréas, tumeurs stromales gastro-intestinales	(287,288)
KIRA 6			Inhibiteur de l'activité kinase	Préclinique	(290)
APY29			Inhibiteur de l'activité kinase	Préclinique	(288)
KIRA (Amgen)			Inhibiteur de l'activité kinase	Préclinique	(289)
ATF6	ATF6	Ceapins	Inhibiteurs d'ATF6	Préclinique	(292–294)
GRP78	GRP78	HA15	Inhibiteur	Préclinique	(295–299)
		OSU-03012	Diminue l'expression de GRP78	Phase I	(300,301) NCT00978523
		Honokiol	Ligand	Préclinique	(302)

Tableau 2 : Molécules ciblant l'UPR.

Discussion

A travers cette thèse, nous constatons l'importance de la voie UPR dans le destin des cellules cancéreuses et son implication dans la physiopathologie du cancer. Cette voie cellulaire, découverte dans les années 1990 est depuis très étudiée comme en témoigne le nombre important d'articles scientifiques disponibles sur NCBI (**Figure 42**). La caractérisation de cette voie de signalisation ainsi que sa modulation en font un grand intérêt pour la communauté scientifique, notamment à des fins thérapeutiques.

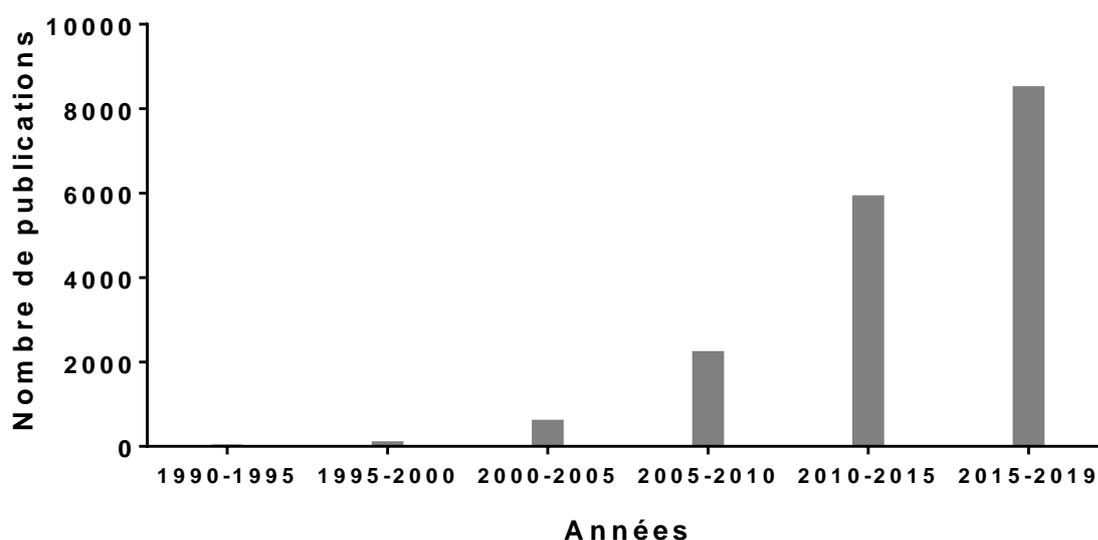


Figure 42 : Nombre de publications disponibles sur Pubmed présentant le mot clé « Unfolded Protein Response » ou « ER stress » à la date du 09 Août 2019.

Par ce travail bibliographique on remarque qu'il existe une variabilité de réponse dans les différentes études, ce qui peut s'expliquer d'une part par les modèles utilisés. En effet, dans le domaine de la recherche, les expériences se réalisent sur des modèles de plus en plus complets en termes de physiologie. Cela commence par des tests acellulaires, comme des essais enzymatiques par exemple. Puis vient ensuite les modèles cellulaires dont la réponse est plus physiologique, mais peut varier en fonction de la lignée cellulaire utilisée, du nombre de passage, de la composition du milieu de culture, des conditions de culture, de l'agent stressant utilisé etc. De plus, ce modèle ne prend pas en compte l'environnement cellulaire dont on sait que celui-ci joue un rôle essentiel sur les réponses, notamment dans le contexte tumoral. Il existe ainsi des modèles de co-culture cellulaire, consistant à cultiver des cellules cancéreuses au contact de cellules de l'environnement tumoral

dans le but de mimer l'impact de ce dernier. Ce modèle est ainsi très informatif mais est assez complexe à mettre en place. Ensuite, le modèle animal permet de prendre en compte une réponse dans un organisme entier. La réglementation et l'éthique concernant les études menées sur l'animal sont très encadrées et limitent leurs utilisations. Le modèle animal permet d'avoir une preuve sur un organisme complet mais cela est encore différent d'un patient X avec un environnement et une génétique variable. Ainsi, il est très difficile de comparer les études entre elles, mais aussi de savoir ce en quoi l'UPR est vraiment responsable, notamment quand les résultats sont contradictoires. Cependant, il s'agit de modèles qui sont nécessaires, essentiels pour apporter des premières réponses, il faut simplement être conscient des limites de ceux-ci.

D'autre part, les outils utilisés pour caractériser la voie UPR est également une source de variabilité pour les réponses. En effet, une réponse induite par la Tunicamycine par exemple pour caractériser l'UPR, n'est pas forcément de la même nature et de la même intensité qu'un autre agent stresser comme la Thapsigargine, dont les mécanismes d'action sont différents. De plus, l'affranchissement de l'utilisation d'outils pharmacologiques comme ceux cités précédemment, par une modification génétique (abolition d'un gène ou surexpression de celui-ci), n'est peut-être pas non plus un modèle parfait pour la caractérisation de ces effets. En effet, la cellule se retrouve modifiée et/ou stressée par cette modification définitive ou transitoire, ce qui fait que la cellule peut s'adapter à celle-ci, ce qui n'est pas forcément le reflet de l'activité du gène en lui-même. Il n'existe donc pas de modèles parfaits pour caractériser une voie de signalisation, mais ce qu'on remarque c'est qu'avec l'ensemble des études, toutes convergent vers le fait que l'UPR est une voie de signalisation importante au destin cellulaire et est impliquée dans la physiopathologie cancéreuse.

Aussi, l'UPR est une balance, un équilibre entre la vie et la mort dont on ne comprend pas encore toutes les subtilités qui font qu'elle penche plutôt vers la survie ou la mort. Ce que l'on sait c'est qu'une simple variation de celle-ci peut la faire basculer, notamment là où son activation est vitale, vers la mort cellulaire. Ainsi, on remarque que la modulation de cette voie de signalisation constitue une stratégie thérapeutique prometteuse dans le cancer qui est une pathologie « UPR addict », comme en témoigne le développement de petites molécules ciblant cette voie. Les recherches doivent donc continuer afin de mettre en exergue toutes les implications

de la voie UPR pour permettre le développement de molécules à visée thérapeutique.

Cependant, concernant le développement des petites molécules il faut savoir qu'elles auront une cible dite principale mais ont, systématiquement, d'autres cibles dites secondaires. En effet, une petite molécule ne peut être totalement spécifique d'une protéine, elle se lie forcément à d'autres cibles, avec des affinités souvent moindres certes, mais qui peuvent contribuer, ou non, à son effet thérapeutique. Ainsi, l'utilisation de ces petites molécules dites « sélectives » ou « spécifiques » comme outil d'étude et de caractérisation de la voie de signalisation de la cible principale peut être biaisé. Cette non-spécificité est à prendre en considération lors des conclusions des études. De plus, la petite molécule la plus puissante sur un modèle n'est pas forcément celle qui deviendra un médicament. Celui-ci est le meilleur compromis entre toutes les propriétés physico-chimiques, pharmacodynamiques et pharmacocinétique, ce qui fait toute la complexité du développement d'un médicament.

Enfin, l'UPR est une voie de signalisation commune à l'ensemble des cellules, mais les niveaux de dépendance de cette voie pourraient permettre une certaine sélectivité vis-à-vis des cellules saines. En effet, la modulation de l'UPR dans une cellule saine pourrait être maîtrisée pour la survie de ces cellules. En revanche, la modulation de l'UPR dans une cellule cancéreuse, où sa survie dépend fortement du bon équilibre de cette voie de signalisation, sera d'autant plus critique, conduisant inexorablement à la mort cellulaire. Cependant, il est à garder à l'esprit l'éventuel non spécificité vis-à-vis de certaines cellules saines qui sont également dépendantes de l'UPR par leurs fonctions sécrétrices importantes comme les plasmocytes par exemple.

De plus, une des stratégies thérapeutiques pour le traitement du cancer est l'association de plusieurs principes actifs. Cette option thérapeutique présente de nombreux avantages, comme l'augmentation de l'efficacité afin de limiter les résistances et les rechutes. Les combinaisons sont une opportunité, en particulier si l'un des produits cible l'UPR. En effet, cela permettrait de garantir un destin de mort cellulaire par la combinaison par exemple avec un traitement dit de « thérapie ciblée », qui présente une sélectivité vis-à-vis de la cellule cancéreuse. Cette sélectivité d'action est l'un des enjeux des agents anticancéreux pour limiter les effets indésirables.

Conclusion

Pour conclure, la caractérisation de la voie de signalisation de l'UPR a permis de découvrir de potentielles cibles thérapeutiques, dont la modulation présente un intérêt pour le traitement du cancer, pathologie où le besoin médical est important. De nombreuses recherches sont actuellement en cours pour continuer la caractérisation de cette voie cellulaire complexe, mais aussi pour la moduler dans une approche thérapeutique. Ces recherches méritent alors qu'on s'y intéresse.

Références bibliographiques

1. Lin JH, Li H, Yasumura D, Cohen HR, Zhang C, Panning B, et al. IRE1 signaling affects cell fate during the unfolded protein response. *Science*. 2007 Nov 9;318(5852):944–9.
2. Lin JH, Lavail MM. Misfolded proteins and retinal dystrophies. *Adv Exp Med Biol*. 2010;664:115–21.
3. Ryoo HD, Domingos PM, Kang M-J, Steller H. Unfolded protein response in a *Drosophila* model for retinal degeneration. *EMBO J*. 2007 Jan 10;26(1):242–52.
4. Fonseca SG, Gromada J, Urano F. Endoplasmic reticulum stress and pancreatic β -cell death. *Trends Endocrinol Metab*. 2011 Jul;22(7):266–74.
5. Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee A-H, Iwakoshi NN, Ozdelen E, et al. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science*. 2004 Oct 15;306(5695):457–61.
6. Dash S, Chava S, Aydin Y, Chandra PK, Ferraris P, Chen W, et al. Hepatitis C Virus Infection Induces Autophagy as a Prosurvival Mechanism to Alleviate Hepatic ER-Stress Response. *Viruses*. 2016 May 23;8(5).
7. Li B, Gao B, Ye L, Han X, Wang W, Kong L, et al. Hepatitis B virus X protein (HBx) activates ATF6 and IRE1-XBP1 pathways of unfolded protein response. *Virus Res*. 2007 Mar 1;124(1):44–9.
8. Tameire F, Verginadis II, Koumenis C. Cell intrinsic and extrinsic activators of the unfolded protein response in cancer: Mechanisms and targets for therapy. *Semin Cancer Biol*. 2015 Aug;33:3–15.
9. Ojha R, Amaravadi RK. Targeting the unfolded protein response in cancer. *Pharmacol Res*. 2017 Jun;120:258–66.
10. Lee AS. The ER chaperone and signaling regulator GRP78/BiP as a monitor of endoplasmic reticulum stress. *Methods*. 2005 Apr 1;35(4):373–81.
11. Bertolotti A, Zhang Y, Hendershot LM, Harding HP, Ron D. Dynamic interaction of BiP and ER stress transducers in the unfolded-protein response. *Nat Cell Biol*. 2000 Jun;2(6):326–32.
12. Kim J, Choi TG, Ding Y, Kim Y, Ha KS, Lee KH, et al. Overexpressed cyclophilin B suppresses apoptosis associated with ROS and Ca²⁺ homeostasis after ER stress. *J Cell Sci*. 2008 Nov 1;121(Pt 21):3636–48.
13. Chen L, Xu S, Liu L, Wen X, Xu Y, Chen J, et al. Cab45S inhibits the ER stress-induced IRE1-JNK pathway and apoptosis via GRP78/BiP. *Cell Death Dis*. 2014 May 8;5:e1219.
14. Fabrizio G, Di Paola S, Stilla A, Giannotta M, Ruggiero C, Menzel S, et al. ARTC1-mediated ADP-ribosylation of GRP78/BiP: a new player in endoplasmic-reticulum stress responses. *Cell Mol Life Sci CMLS*. 2015 Mar;72(6):1209–25.
15. Preissler S, Ron D. Early Events in the Endoplasmic Reticulum Unfolded Protein Response. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2018 Nov 26;

16. Karali E, Bellou S, Stellas D, Klinakis A, Murphy C, Fotsis T. VEGF signaling, mTOR complexes, and the endoplasmic reticulum: Towards a role of metabolic sensing in the regulation of angiogenesis. *Mol Cell Oncol*. 2014 Sep;1(3):e964024.
17. Karali E, Bellou S, Stellas D, Klinakis A, Murphy C, Fotsis T. VEGF Signals through ATF6 and PERK to promote endothelial cell survival and angiogenesis in the absence of ER stress. *Mol Cell*. 2014 May 22;54(4):559–72.
18. Wang P, Li J, Tao J, Sha B. The luminal domain of the ER stress sensor protein PERK binds misfolded proteins and thereby triggers PERK oligomerization. *J Biol Chem*. 2018 Mar 16;293(11):4110–21.
19. Sidrauski C, Walter P. The transmembrane kinase Ire1p is a site-specific endonuclease that initiates mRNA splicing in the unfolded protein response. *Cell*. 1997 Sep 19;90(6):1031–9.
20. Bertolotti A, Wang X, Novoa I, Jungreis R, Schlessinger K, Cho JH, et al. Increased sensitivity to dextran sodium sulfate colitis in IRE1beta-deficient mice. *J Clin Invest*. 2001 Mar;107(5):585–93.
21. Martino MB, Jones L, Brighton B, Ehre C, Abdulah L, Davis CW, et al. The ER stress transducer IRE1 β is required for airway epithelial mucin production. *Mucosal Immunol*. 2013 May;6(3):639–54.
22. Oikawa D, Kitamura A, Kinjo M, Iwawaki T. Direct association of unfolded proteins with mammalian ER stress sensor, IRE1 β . *PLoS One*. 2012;7(12):e51290.
23. Imagawa Y, Hosoda A, Sasaka S-I, Tsuru A, Kohno K. RNase domains determine the functional difference between IRE1alpha and IRE1beta. *FEBS Lett*. 2008 Mar 5;582(5):656–60.
24. Iwawaki T, Hosoda A, Okuda T, Kamigori Y, Nomura-Furuwatari C, Kimata Y, et al. Translational control by the ER transmembrane kinase/ribonuclease IRE1 under ER stress. *Nat Cell Biol*. 2001 Feb;3(2):158–64.
25. Iqbal J, Dai K, Seimon T, Jungreis R, Oyadomari M, Kuriakose G, et al. IRE1beta inhibits chylomicron production by selectively degrading MTP mRNA. *Cell Metab*. 2008 May;7(5):445–55.
26. Lu Y, Liang F-X, Wang X. A Synthetic Biology Approach Identifies the Mammalian UPR RNA Ligase RtcB. *Mol Cell*. 2014 Sep 4;55(5):758–70.
27. Yoshida H, Matsui T, Yamamoto A, Okada T, Mori K. XBP1 mRNA Is Induced by ATF6 and Spliced by IRE1 in Response to ER Stress to Produce a Highly Active Transcription Factor. *Cell*. 2001 Dec 28;107(7):881–91.
28. Yamamoto K, Sato T, Matsui T, Sato M, Okada T, Yoshida H, et al. Transcriptional Induction of Mammalian ER Quality Control Proteins Is Mediated by Single or Combined Action of ATF6 α and XBP1. *Dev Cell*. 2007 Sep 4;13(3):365–76.

29. Yoshida H, Matsui T, Hosokawa N, Kaufman RJ, Nagata K, Mori K. A time-dependent phase shift in the mammalian unfolded protein response. *Dev Cell*. 2003 Feb;4(2):265–71.
30. Maurel M, Chevet E, Tavernier J, Gerlo S. Getting RIDD of RNA: IRE1 in cell fate regulation. *Trends Biochem Sci*. 2014 May;39(5):245–54.
31. Han D, Lerner AG, Vande Walle L, Upton J-P, Xu W, Hagen A, et al. IRE1alpha kinase activation modes control alternate endoribonuclease outputs to determine divergent cell fates. *Cell*. 2009 Aug 7;138(3):562–75.
32. Lhomond S, Avril T, Dejeans N, Voutetakis K, Doultsinos D, McMahon M, et al. Dual IRE1 RNase functions dictate glioblastoma development. *EMBO Mol Med*. 2018 Jan 8;e7929.
33. Yoneda T, Imaizumi K, Oono K, Yui D, Gomi F, Katayama T, et al. Activation of caspase-12, an endoplasmic reticulum (ER) resident caspase, through tumor necrosis factor receptor-associated factor 2-dependent mechanism in response to the ER stress. *J Biol Chem*. 2001 Apr 27;276(17):13935–40.
34. Urano F, Wang X, Bertolotti A, Zhang Y, Chung P, Harding HP, et al. Coupling of stress in the ER to activation of JNK protein kinases by transmembrane protein kinase IRE1. *Science*. 2000 Jan 28;287(5453):664–6.
35. Ogata M, Hino S, Saito A, Morikawa K, Kondo S, Kanemoto S, et al. Autophagy is activated for cell survival after endoplasmic reticulum stress. *Mol Cell Biol*. 2006 Dec;26(24):9220–31.
36. Criollo A, Vicencio JM, Tasdemir E, Maiuri MC, Lavandro S, Kroemer G. The inositol trisphosphate receptor in the control of autophagy. *Autophagy*. 2007 Aug;3(4):350–3.
37. Hamanaka RB, Bennett BS, Cullinan SB, Diehl JA. PERK and GCN2 contribute to eIF2alpha phosphorylation and cell cycle arrest after activation of the unfolded protein response pathway. *Mol Biol Cell*. 2005 Dec;16(12):5493–501.
38. Rozpedek W, Pytel D, Mucha B, Leszczynska H, Diehl JA, Majsterek I. The Role of the PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP Signaling Pathway in Tumor Progression During Endoplasmic Reticulum Stress. *Curr Mol Med*. 2016;16(6):533–44.
39. Jousse C, Oyadomari S, Novoa I, Lu P, Zhang Y, Harding HP, et al. Inhibition of a constitutive translation initiation factor 2alpha phosphatase, CReP, promotes survival of stressed cells. *J Cell Biol*. 2003 Nov 24;163(4):767–75.
40. Reid DW, Tay ASL, Sundaram JR, Lee ICJ, Chen Q, George SE, et al. Complementary Roles of GADD34- and CReP-Containing Eukaryotic Initiation Factor 2 α Phosphatases during the Unfolded Protein Response. *Mol Cell Biol*. 2016 Jul 1;36(13):1868–80.
41. Scheuner D, Patel R, Wang F, Lee K, Kumar K, Wu J, et al. Double-stranded RNA-dependent protein kinase phosphorylation of the alpha-subunit of eukaryotic translation initiation factor 2 mediates apoptosis. *J Biol Chem*. 2006 Jul 28;281(30):21458–68.

42. Han AP, Yu C, Lu L, Fujiwara Y, Browne C, Chin G, et al. Heme-regulated eIF2alpha kinase (HRI) is required for translational regulation and survival of erythroid precursors in iron deficiency. *EMBO J.* 2001 Dec 3;20(23):6909–18.
43. Kobayashi A, Kang M-I, Okawa H, Ohtsuji M, Zenke Y, Chiba T, et al. Oxidative stress sensor Keap1 functions as an adaptor for Cul3-based E3 ligase to regulate proteasomal degradation of Nrf2. *Mol Cell Biol.* 2004 Aug;24(16):7130–9.
44. Cullinan SB, Zhang D, Hannink M, Arvisais E, Kaufman RJ, Diehl JA. Nrf2 is a direct PERK substrate and effector of PERK-dependent cell survival. *Mol Cell Biol.* 2003 Oct;23(20):7198–209.
45. Huang HC, Nguyen T, Pickett CB. Regulation of the antioxidant response element by protein kinase C-mediated phosphorylation of NF-E2-related factor 2. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000 Nov 7;97(23):12475–80.
46. Cullinan SB, Diehl JA. Coordination of ER and oxidative stress signaling: the PERK/Nrf2 signaling pathway. *Int J Biochem Cell Biol.* 2006 Mar;38(3):317–32.
47. Guan D, Wang H, Li VE, Xu Y, Yang M, Shen Z. N-glycosylation of ATF6beta is essential for its proteolytic cleavage and transcriptional repressor function to ATF6alpha. *J Cell Biochem.* 2009 Nov 1;108(4):825–31.
48. Shen J, Snapp EL, Lippincott-Schwartz J, Prywes R. Stable binding of ATF6 to BiP in the endoplasmic reticulum stress response. *Mol Cell Biol.* 2005 Feb;25(3):921–32.
49. Nadanaka S, Okada T, Yoshida H, Mori K. Role of disulfide bridges formed in the luminal domain of ATF6 in sensing endoplasmic reticulum stress. *Mol Cell Biol.* 2007 Feb;27(3):1027–43.
50. Rutkowski DT, Kaufman RJ. A trip to the ER: coping with stress. *Trends Cell Biol.* 2004 Jan;14(1):20–8.
51. Jackson RJ, Hellen CUT, Pestova TV. THE MECHANISM OF EUKARYOTIC TRANSLATION INITIATION AND PRINCIPLES OF ITS REGULATION. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010 Feb;11(2):113–27.
52. Holcik M, Sonenberg N. Translational control in stress and apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2005 Apr;6(4):318–27.
53. Sudhakar A, Ramachandran A, Ghosh S, Hasnain SE, Kaufman RJ, Ramaiah KV. Phosphorylation of serine 51 in initiation factor 2 alpha (eIF2 alpha) promotes complex formation between eIF2 alpha(P) and eIF2B and causes inhibition in the guanine nucleotide exchange activity of eIF2B. *Biochemistry.* 2000 Oct 24;39(42):12929–38.
54. Yamaguchi S, Ishihara H, Yamada T, Tamura A, Usui M, Tominaga R, et al. ATF4-mediated induction of 4E-BP1 contributes to pancreatic beta cell survival under endoplasmic reticulum stress. *Cell Metab.* 2008 Mar;7(3):269–76.
55. DuRose JB, Scheuner D, Kaufman RJ, Rothblum LI, Niwa M. Phosphorylation of eukaryotic translation initiation factor 2alpha coordinates rRNA transcription

- and translation inhibition during endoplasmic reticulum stress. *Mol Cell Biol.* 2009 Aug;29(15):4295–307.
56. Hollien J, Weissman JS. Decay of endoplasmic reticulum-localized mRNAs during the unfolded protein response. *Science.* 2006 Jul 7;313(5783):104–7.
 57. Hollien J, Lin JH, Li H, Stevens N, Walter P, Weissman JS. Regulated Ire1-dependent decay of messenger RNAs in mammalian cells. *J Cell Biol.* 2009 Aug 10;186(3):323–31.
 58. Moore K, Hollien J. Ire1-mediated decay in mammalian cells relies on mRNA sequence, structure, and translational status. *Mol Biol Cell.* 2015 Aug 15;26(16):2873–84.
 59. So J-S, Cho S, Min S-H, Kimball SR, Lee A-H. IRE1 α -Dependent Decay of CREP/Ppp1r15b mRNA Increases Eukaryotic Initiation Factor 2 α Phosphorylation and Suppresses Protein Synthesis. *Mol Cell Biol.* 2015 Aug;35(16):2761–70.
 60. Kang S-W, Rane NS, Kim SJ, Garrison JL, Taunton J, Hegde RS. Substrate-specific translocational attenuation during ER stress defines a pre-emptive quality control pathway. *Cell.* 2006 Dec 1;127(5):999–1013.
 61. Kadowaki H, Satrimafitrah P, Takami Y, Nishitoh H. Molecular mechanism of ER stress-induced pre-emptive quality control involving association of the translocon, Derlin-1, and HRD1. *Sci Rep.* 2018 May 9;8(1):7317.
 62. Adachi Y, Yamamoto K, Okada T, Yoshida H, Harada A, Mori K. ATF6 is a transcription factor specializing in the regulation of quality control proteins in the endoplasmic reticulum. *Cell Struct Funct.* 2008;33(1):75–89.
 63. Lee A-H, Iwakoshi NN, Glimcher LH. XBP-1 Regulates a Subset of Endoplasmic Reticulum Resident Chaperone Genes in the Unfolded Protein Response. *Mol Cell Biol.* 2003 Jan 11;23(21):7448–59.
 64. Lee A-H, Chu GC, Iwakoshi NN, Glimcher LH. XBP-1 is required for biogenesis of cellular secretory machinery of exocrine glands. *EMBO J.* 2005 Dec 21;24(24):4368–80.
 65. Sriburi R, Jackowski S, Mori K, Brewer JW. XBP1: a link between the unfolded protein response, lipid biosynthesis, and biogenesis of the endoplasmic reticulum. *J Cell Biol.* 2004 Oct 11;167(1):35–41.
 66. Shaffer AL, Shapiro-Shelef M, Iwakoshi NN, Lee A-H, Qian S-B, Zhao H, et al. XBP1, downstream of Blimp-1, expands the secretory apparatus and other organelles, and increases protein synthesis in plasma cell differentiation. *Immunity.* 2004 Jul;21(1):81–93.
 67. Reimold AM, Iwakoshi NN, Manis J, Vallabhajosyula P, Szomolanyi-Tsuda E, Gravalles EM, et al. Plasma cell differentiation requires the transcription factor XBP-1. *Nature.* 2001 Jul 19;412(6844):300–7.
 68. Bommasamy H, Back SH, Fagone P, Lee K, Meshinchi S, Vink E, et al. ATF6 α induces XBP1-independent expansion of the endoplasmic reticulum. *J Cell Sci.* 2009 May 15;122(Pt 10):1626–36.

69. Volmer R, Ron D. Lipid-dependent regulation of the unfolded protein response. *Curr Opin Cell Biol.* 2015 Apr;33:67–73.
70. Vembar SS, Brodsky JL. One step at a time: endoplasmic reticulum-associated degradation. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008 Dec;9(12):944–57.
71. Hosokawa N, Wada I, Hasegawa K, Yoriyuzi T, Tremblay LO, Herscovics A, et al. A novel ER alpha-mannosidase-like protein accelerates ER-associated degradation. *EMBO Rep.* 2001 May;2(5):415–22.
72. Olivari S, Galli C, Alanen H, Ruddock L, Molinari M. A novel stress-induced EDEM variant regulating endoplasmic reticulum-associated glycoprotein degradation. *J Biol Chem.* 2005 Jan 28;280(4):2424–8.
73. Oda Y, Okada T, Yoshida H, Kaufman RJ, Nagata K, Mori K. Derlin-2 and Derlin-3 are regulated by the mammalian unfolded protein response and are required for ER-associated degradation. *J Cell Biol.* 2006 Jan 30;172(3):383–93.
74. Hori O, Miyazaki M, Tamatani T, Ozawa K, Takano K, Okabe M, et al. Deletion of SERP1/RAMP4, a component of the endoplasmic reticulum (ER) translocation sites, leads to ER stress. *Mol Cell Biol.* 2006 Jun;26(11):4257–67.
75. Lai CW, Otero JH, Hendershot LM, Snapp E. ERdj4 protein is a soluble endoplasmic reticulum (ER) DnaJ family protein that interacts with ER-associated degradation machinery. *J Biol Chem.* 2012 Mar 9;287(11):7969–78.
76. Kaneko M, Ishiguro M, Niinuma Y, Uesugi M, Nomura Y. Human HRD1 protects against ER stress-induced apoptosis through ER-associated degradation. *FEBS Lett.* 2002 Dec 4;532(1–2):147–52.
77. Nagai A, Kadowaki H, Maruyama T, Takeda K, Nishitoh H, Ichijo H. USP14 inhibits ER-associated degradation via interaction with IRE1alpha. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009 Feb 20;379(4):995–1000.
78. Kwak M-K, Wakabayashi N, Greenlaw JL, Yamamoto M, Kensler TW. Antioxidants enhance mammalian proteasome expression through the Keap1-Nrf2 signaling pathway. *Mol Cell Biol.* 2003 Dec;23(23):8786–94.
79. Davies KJ. Degradation of oxidized proteins by the 20S proteasome. *Biochimie.* 2001 Apr;83(3–4):301–10.
80. Raynes R, Pomatto LCD, Davies KJA. Degradation of oxidized proteins by the proteasome: Distinguishing between the 20S, 26S, and immunoproteasome proteolytic pathways. *Mol Aspects Med.* 2016 Aug;50:41–55.
81. Zhang Y, Qu X, Jiang L. An oasis in the desert of cancer chemotherapeutic resistance: The enlightenment from reciprocal crosstalk between signaling pathways of UPR and autophagy in cancers. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother.* 2017 Aug;92:972–81.
82. Deegan S, Saveljeva S, Gorman AM, Samali A. Stress-induced self-cannibalism: on the regulation of autophagy by endoplasmic reticulum stress. *Cell Mol Life Sci CMLS.* 2013 Jul;70(14):2425–41.

83. Egan DF, Kim J, Shaw RJ, Guan K-L. The autophagy initiating kinase ULK1 is regulated via opposing phosphorylation by AMPK and mTOR. *Autophagy*. 2011 Jun;7(6):645–6.
84. Bach M, Larance M, James DE, Ramm G. The serine/threonine kinase ULK1 is a target of multiple phosphorylation events. *Biochem J*. 2011 Dec 1;440(2):283–91.
85. Berridge MJ. The endoplasmic reticulum: a multifunctional signaling organelle. *Cell Calcium*. 2002 Dec;32(5–6):235–49.
86. Høyer-Hansen M, Bastholm L, Szyniarowski P, Campanella M, Szabadkai G, Farkas T, et al. Control of macroautophagy by calcium, calmodulin-dependent kinase kinase-beta, and Bcl-2. *Mol Cell*. 2007 Jan 26;25(2):193–205.
87. Høyer-Hansen M, Jäättelä M. Connecting endoplasmic reticulum stress to autophagy by unfolded protein response and calcium. *Cell Death Differ*. 2007 Sep;14(9):1576–82.
88. Li G, Mongillo M, Chin K-T, Harding H, Ron D, Marks AR, et al. Role of ERO1-alpha-mediated stimulation of inositol 1,4,5-triphosphate receptor activity in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *J Cell Biol*. 2009 Sep 21;186(6):783–92.
89. Ferrari D, Pinton P, Szabadkai G, Chami M, Campanella M, Pozzan T, et al. Endoplasmic reticulum, Bcl-2 and Ca²⁺ handling in apoptosis. *Cell Calcium*. 2002 Dec;32(5–6):413–20.
90. McCullough KD, Martindale JL, Klotz LO, Aw TY, Holbrook NJ. Gadd153 sensitizes cells to endoplasmic reticulum stress by down-regulating Bcl2 and perturbing the cellular redox state. *Mol Cell Biol*. 2001 Feb;21(4):1249–59.
91. Bassik MC, Scorrano L, Oakes SA, Pozzan T, Korsmeyer SJ. Phosphorylation of BCL-2 regulates ER Ca²⁺ homeostasis and apoptosis. *EMBO J*. 2004 Mar 10;23(5):1207–16.
92. Pattingre S, Bauvy C, Carpentier S, Levade T, Levine B, Codogno P. Role of JNK1-dependent Bcl-2 phosphorylation in ceramide-induced macroautophagy. *J Biol Chem*. 2009 Jan 30;284(5):2719–28.
93. Jin H-O, Seo S-K, Woo S-H, Kim E-S, Lee H-C, Yoo D-H, et al. Activating transcription factor 4 and CCAAT/enhancer-binding protein-beta negatively regulate the mammalian target of rapamycin via Redd1 expression in response to oxidative and endoplasmic reticulum stress. *Free Radic Biol Med*. 2009 Apr 15;46(8):1158–67.
94. Ohoka N, Yoshii S, Hattori T, Onozaki K, Hayashi H. TRB3, a novel ER stress-inducible gene, is induced via ATF4-CHOP pathway and is involved in cell death. *EMBO J*. 2005 Mar 23;24(6):1243–55.
95. Du K, Herzig S, Kulkarni RN, Montminy M. TRB3: a tribbles homolog that inhibits Akt/PKB activation by insulin in liver. *Science*. 2003 Jun 6;300(5625):1574–7.

96. Qin L, Wang Z, Tao L, Wang Y. ER stress negatively regulates AKT/TSC/mTOR pathway to enhance autophagy. *Autophagy*. 2010 Feb;6(2):239–47.
97. Simonsen A, Tooze SA. Coordination of membrane events during autophagy by multiple class III PI3-kinase complexes. *J Cell Biol*. 2009 Sep 21;186(6):773–82.
98. Pattingre S, Tassa A, Qu X, Garuti R, Liang XH, Mizushima N, et al. Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy. *Cell*. 2005 Sep 23;122(6):927–39.
99. B'chir W, Maurin A-C, Carraro V, Averous J, Jousse C, Muranishi Y, et al. The eIF2 α /ATF4 pathway is essential for stress-induced autophagy gene expression. *Nucleic Acids Res*. 2013 Sep;41(16):7683–99.
100. Gade P, Ramachandran G, Maachani UB, Rizzo MA, Okada T, Prywes R, et al. An IFN- γ -stimulated ATF6-C/EBP- β -signaling pathway critical for the expression of Death Associated Protein Kinase 1 and induction of autophagy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 Jun 26;109(26):10316–21.
101. Zalckvar E, Berissi H, Mizrachy L, Idelchuk Y, Koren I, Eisenstein M, et al. DAP-kinase-mediated phosphorylation on the BH3 domain of beclin 1 promotes dissociation of beclin 1 from Bcl-XL and induction of autophagy. *EMBO Rep*. 2009 Mar;10(3):285–92.
102. Harrison B, Kraus M, Burch L, Stevens C, Craig A, Gordon-Weeks P, et al. DAPK-1 binding to a linear peptide motif in MAP1B stimulates autophagy and membrane blebbing. *J Biol Chem*. 2008 Apr 11;283(15):9999–10014.
103. Kouroku Y, Fujita E, Tanida I, Ueno T, Isoai A, Kumagai H, et al. ER stress (PERK/eIF2 α phosphorylation) mediates the polyglutamine-induced LC3 conversion, an essential step for autophagy formation. *Cell Death Differ*. 2007 Feb;14(2):230–9.
104. Vidal RL, Figueroa A, Court FA, Thielen P, Molina C, Wirth C, et al. Targeting the UPR transcription factor XBP1 protects against Huntington's disease through the regulation of FoxO1 and autophagy. *Hum Mol Genet*. 2012 May 15;21(10):2245–62.
105. Vidal RL, Hetz C. Unspliced XBP1 controls autophagy through FoxO1. *Cell Res*. 2013 Apr;23(4):463–4.
106. Zhao Y, Yang J, Liao W, Liu X, Zhang H, Wang S, et al. Cytosolic FoxO1 is essential for the induction of autophagy and tumour suppressor activity. *Nat Cell Biol*. 2010 Jul;12(7):665–75.
107. Okada T, Yoshida H, Akazawa R, Negishi M, Mori K. Distinct roles of activating transcription factor 6 (ATF6) and double-stranded RNA-activated protein kinase-like endoplasmic reticulum kinase (PERK) in transcription during the mammalian unfolded protein response. *Biochem J*. 2002 Sep 1;366(Pt 2):585–94.

108. Venugopal R, Jaiswal AK. Nrf1 and Nrf2 positively and c-Fos and Fra1 negatively regulate the human antioxidant response element-mediated expression of NAD(P)H:quinone oxidoreductase1 gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996 Dec 10;93(25):14960–5.
109. He CH, Gong P, Hu B, Stewart D, Choi ME, Choi AM, et al. Identification of activating transcription factor 4 (ATF4) as an Nrf2-interacting protein. Implication for heme oxygenase-1 gene regulation. *J Biol Chem*. 2001 Jun 15;276(24):20858–65.
110. Wild AC, Moinova HR, Mulcahy RT. Regulation of gamma-glutamylcysteine synthetase subunit gene expression by the transcription factor Nrf2. *J Biol Chem*. 1999 Nov 19;274(47):33627–36.
111. Sasaki H, Sato H, Kuriyama-Matsumura K, Sato K, Maebara K, Wang H, et al. Electrophile response element-mediated induction of the cystine/glutamate exchange transporter gene expression. *J Biol Chem*. 2002 Nov 22;277(47):44765–71.
112. Harding HP, Zhang Y, Zeng H, Novoa I, Lu PD, Calton M, et al. An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress. *Mol Cell*. 2003 Mar;11(3):619–33.
113. Lu Z, Xu S. ERK1/2 MAP kinases in cell survival and apoptosis. *IUBMB Life*. 2006 Nov 1;58(11):621–31.
114. Guo F-J, Liu Y, Zhou J, Luo S, Zhao W, Li X, et al. XBP1S protects cells from ER stress-induced apoptosis through Erk1/2 signaling pathway involving CHOP. *Histochem Cell Biol*. 2012 Sep 1;138(3):447–60.
115. Tam AB, Mercado EL, Hoffmann A, Niwa M. ER stress activates NF- κ B by integrating functions of basal IKK activity, IRE1 and PERK. *PloS One*. 2012;7(10):e45078.
116. Wu J, He G-T, Zhang W-J, Xu J, Huang Q-B. IRE1 α Signaling Pathways Involved in Mammalian Cell Fate Determination. *Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol*. 2016;38(3):847–58.
117. Shimizu K, Takahama S, Endo Y, Sawasaki T. Stress-inducible caspase substrate TRB3 promotes nuclear translocation of procaspase-3. *PloS One*. 2012;7(8):e42721.
118. Orrenius S, Zhivotovsky B, Nicotera P. Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2003 Jul;4(7):552–65.
119. Ma Y, Brewer JW, Diehl JA, Hendershot LM. Two distinct stress signaling pathways converge upon the CHOP promoter during the mammalian unfolded protein response. *J Mol Biol*. 2002 May 17;318(5):1351–65.
120. Wang XZ, Ron D. Stress-induced phosphorylation and activation of the transcription factor CHOP (GADD153) by p38 MAP Kinase. *Science*. 1996 May 31;272(5266):1347–9.

121. Puthalakath H, O'Reilly LA, Gunn P, Lee L, Kelly PN, Huntington ND, et al. ER stress triggers apoptosis by activating BH3-only protein Bim. *Cell*. 2007 Jun 29;129(7):1337–49.
122. Galehdar Z, Swan P, Fuerth B, Callaghan SM, Park DS, Cregan SP. Neuronal apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress is regulated by ATF4-CHOP-mediated induction of the Bcl-2 homology 3-only member PUMA. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2010 Dec 15;30(50):16938–48.
123. Matsumoto M, Minami M, Takeda K, Sakao Y, Akira S. Ectopic expression of CHOP (GADD153) induces apoptosis in M1 myeloblastic leukemia cells. *FEBS Lett*. 1996 Oct 21;395(2–3):143–7.
124. Gotoh T, Terada K, Oyadomari S, Mori M. hsp70-DnaJ chaperone pair prevents nitric oxide- and CHOP-induced apoptosis by inhibiting translocation of Bax to mitochondria. *Cell Death Differ*. 2004 Apr;11(4):390–402.
125. Marciniak SJ, Yun CY, Oyadomari S, Novoa I, Zhang Y, Jungreis R, et al. CHOP induces death by promoting protein synthesis and oxidation in the stressed endoplasmic reticulum. *Genes Dev*. 2004 Dec 15;18(24):3066–77.
126. Hiramatsu N, Messah C, Han J, LaVail MM, Kaufman RJ, Lin JH. Translational and posttranslational regulation of XIAP by eIF2 α and ATF4 promotes ER stress-induced cell death during the unfolded protein response. *Mol Biol Cell*. 2014 May;25(9):1411–20.
127. Pagliarini V, Giglio P, Bernardoni P, Zio DD, Fimia GM, Piacentini M, et al. Downregulation of E2F1 during ER stress is required to induce apoptosis. *J Cell Sci*. 2015 Mar 15;128(6):1166–79.
128. Chen YR, Tan TH. The c-Jun N-terminal kinase pathway and apoptotic signaling (review). *Int J Oncol*. 2000 Apr;16(4):651–62.
129. Sánchez-Perez I, Murguía JR, Perona R. Cisplatin induces a persistent activation of JNK that is related to cell death. *Oncogene*. 1998 Jan 29;16(4):533–40.
130. Dhanasekaran DN, Reddy EP. JNK signaling in apoptosis. *Oncogene*. 2008 Oct 20;27(48):6245–51.
131. Hetz C, Bernasconi P, Fisher J, Lee A-H, Bassik MC, Antonsson B, et al. Proapoptotic BAX and BAK modulate the unfolded protein response by a direct interaction with IRE1 α . *Science*. 2006 Apr 28;312(5773):572–6.
132. Yamaguchi H, Bhalla K, Wang H-G. Bax plays a pivotal role in thapsigargin-induced apoptosis of human colon cancer HCT116 cells by controlling Smac/Diablo and Omi/HtrA2 release from mitochondria. *Cancer Res*. 2003 Apr 1;63(7):1483–9.
133. Yamaguchi H, Wang H-G. CHOP is involved in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis by enhancing DR5 expression in human carcinoma cells. *J Biol Chem*. 2004 Oct 29;279(44):45495–502.

134. Nakagawa T, Yuan J. Cross-talk between two cysteine protease families. Activation of caspase-12 by calpain in apoptosis. *J Cell Biol.* 2000 Aug 21;150(4):887–94.
135. Tsujimoto Y, Shimizu S. Another way to die: autophagic programmed cell death. *Cell Death Differ.* 2005 Nov;12 Suppl 2:1528–34.
136. Ding W-X, Ni H-M, Gao W, Hou Y-F, Melan MA, Chen X, et al. Differential effects of endoplasmic reticulum stress-induced autophagy on cell survival. *J Biol Chem.* 2007 Feb 16;282(7):4702–10.
137. Michallet A-S, Mondiere P, Taillardet M, Leverrier Y, Genestier L, Defrance T. Compromising the unfolded protein response induces autophagy-mediated cell death in multiple myeloma cells. *PloS One.* 2011;6(10):e25820.
138. Fu D, Yu JY, Yang S, Wu M, Hammad SM, Connell AR, et al. Survival or death: a dual role for autophagy in stress-induced pericyte loss in diabetic retinopathy. *Diabetologia.* 2016 Oct;59(10):2251–61.
139. Young MM, Takahashi Y, Khan O, Park S, Hori T, Yun J, et al. Autophagosomal membrane serves as platform for intracellular death-inducing signaling complex (iDISC)-mediated caspase-8 activation and apoptosis. *J Biol Chem.* 2012 Apr 6;287(15):12455–68.
140. Deegan S, Saveljeva S, Logue SE, Pakos-Zebrucka K, Gupta S, Vandenberghe P, et al. Deficiency in the mitochondrial apoptotic pathway reveals the toxic potential of autophagy under ER stress conditions. *Autophagy.* 2014;10(11):1921–36.
141. Kroemer G, Levine B. Autophagic cell death: the story of a misnomer. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008;9(12):1004–10.
142. Teske BF, Fusakio ME, Zhou D, Shan J, McClintick JN, Kilberg MS, et al. CHOP induces activating transcription factor 5 (ATF5) to trigger apoptosis in response to perturbations in protein homeostasis. *Mol Biol Cell.* 2013 Aug;24(15):2477–90.
143. Allagnat F, Cunha D, Moore F, Vanderwinden JM, Eizirik DL, Cardozo AK. Mcl-1 downregulation by pro-inflammatory cytokines and palmitate is an early event contributing to β -cell apoptosis. *Cell Death Differ.* 2011 Feb;18(2):328–37.
144. Upton J-P, Wang L, Han D, Wang ES, Huskey NE, Lim L, et al. IRE1 α cleaves select microRNAs during ER stress to derepress translation of proapoptotic Caspase-2. *Science.* 2012 Nov 9;338(6108):818–22.
145. Lerner AG, Upton J-P, Praveen PVK, Ghosh R, Nakagawa Y, Igbaria A, et al. IRE1 α induces thioredoxin-interacting protein to activate the NLRP3 inflammasome and promote programmed cell death under irremediable ER stress. *Cell Metab.* 2012 Aug 8;16(2):250–64.
146. Walter F, Schmid J, DÜssmann H, Concannon CG, Prehn JHM. Imaging of single cell responses to ER stress indicates that the relative dynamics of IRE1/XBP1 and PERK/ATF4 signalling rather than a switch between signalling branches determine cell survival. *Cell Death Differ.* 2015 Sep;22(9):1502–16.

147. Yan W, Frank CL, Korth MJ, Sopher BL, Novoa I, Ron D, et al. Control of PERK eIF2alpha kinase activity by the endoplasmic reticulum stress-induced molecular chaperone P58IPK. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Dec 10;99(25):15920–5.
148. Novoa I, Zeng H, Harding HP, Ron D. Feedback inhibition of the unfolded protein response by GADD34-mediated dephosphorylation of eIF2alpha. *J Cell Biol*. 2001 May 28;153(5):1011–22.
149. Yoshida H, Uemura A, Mori K. pXBP1(U), a negative regulator of the unfolded protein response activator pXBP1(S), targets ATF6 but not ATF4 in proteasome-mediated degradation. *Cell Struct Funct*. 2009;34(1):1–10.
150. Yoshida H, Oku M, Suzuki M, Mori K. pXBP1(U) encoded in XBP1 pre-mRNA negatively regulates unfolded protein response activator pXBP1(S) in mammalian ER stress response. *J Cell Biol*. 2006 Feb 13;172(4):565–75.
151. Rutkowski DT, Arnold SM, Miller CN, Wu J, Li J, Gunnison KM, et al. Adaptation to ER stress is mediated by differential stabilities of pro-survival and pro-apoptotic mRNAs and proteins. *PLoS Biol*. 2006 Nov;4(11):e374.
152. Merksamer PI, Papa FR. The UPR and cell fate at a glance. *J Cell Sci*. 2010 Apr 1;123(7):1003–6.
153. Corazzari M, Gagliardi M, Fimia GM, Piacentini M. Endoplasmic Reticulum Stress, Unfolded Protein Response, and Cancer Cell Fate. *Front Oncol*. 2017;7:78.
154. Harris AL. Hypoxia--a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer*. 2002 Jan;2(1):38–47.
155. Koumenis C. ER stress, hypoxia tolerance and tumor progression. *Curr Mol Med*. 2006 Feb;6(1):55–69.
156. Fels DR, Koumenis C. The PERK/eIF2alpha/ATF4 module of the UPR in hypoxia resistance and tumor growth. *Cancer Biol Ther*. 2006 Jul;5(7):723–8.
157. Bu Y, Diehl JA. PERK Integrates Oncogenic Signaling and Cell Survival During Cancer Development. *J Cell Physiol*. 2016 Oct 1;231(10):2088–96.
158. Romero-Ramirez L, Cao H, Nelson D, Hammond E, Lee A-H, Yoshida H, et al. XBP1 is essential for survival under hypoxic conditions and is required for tumor growth. *Cancer Res*. 2004 Sep 1;64(17):5943–7.
159. Drogat B, Auguste P, Nguyen DT, Bouche-careilh M, Pineau R, Nalbantoglu J, et al. IRE1 signaling is essential for ischemia-induced vascular endothelial growth factor-A expression and contributes to angiogenesis and tumor growth in vivo. *Cancer Res*. 2007 Jul 15;67(14):6700–7.
160. Bauer AK, Hill T, Alexander C-M. The involvement of NRF2 in lung cancer. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:746432.
161. Fischer K, Hoffmann P, Voelkl S, Meidenbauer N, Ammer J, Edinger M, et al. Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells. *Blood*. 2007 May 1;109(9):3812–9.

162. Ryder CB, McColl K, Distelhorst CW. Acidosis blocks CCAAT/enhancer-binding protein homologous protein (CHOP)- and c-Jun-mediated induction of p53-upregulated mediator of apoptosis (PUMA) during amino acid starvation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Jan 25;430(4):1283–8.
163. Hou X, Liu Y, Liu H, Chen X, Liu M, Che H, et al. PERK silence inhibits glioma cell growth under low glucose stress by blockage of p-AKT and subsequent HK2's mitochondria translocation. *Sci Rep*. 2015 Mar 12;5:9065.
164. Wu J, Hu L, Hu F, Zou L, He T. Poor prognosis of hexokinase 2 overexpression in solid tumors of digestive system: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2017 Mar 7;8(19):32332–44.
165. Wolf A, Agnihotri S, Micallef J, Mukherjee J, Sabha N, Cairns R, et al. Hexokinase 2 is a key mediator of aerobic glycolysis and promotes tumor growth in human glioblastoma multiforme. *J Exp Med*. 2011 Feb 14;208(2):313–26.
166. Yang Z, Huang J, Geng J, Nair U, Klionsky DJ. Atg22 recycles amino acids to link the degradative and recycling functions of autophagy. *Mol Biol Cell*. 2006 Dec;17(12):5094–104.
167. Obacz J, Avril T, Rubio-Patiño C, Bossowski JP, Igarria A, Ricci J-E, et al. Regulation of tumor-stroma interactions by the unfolded protein response. *FEBS J*. 2017 Dec 14;
168. Ni M, Zhang Y, Lee AS. Beyond the endoplasmic reticulum: atypical GRP78 in cell viability, signaling and therapeutic targeting. *Biochem J*. 2011 Mar 1;434(2):181–8.
169. Shani G, Fischer WH, Justice NJ, Kelber JA, Vale W, Gray PC. GRP78 and Cripto Form a Complex at the Cell Surface and Collaborate To Inhibit Transforming Growth Factor β Signaling and Enhance Cell Growth. *Mol Cell Biol*. 2008 Jan 15;28(2):666–77.
170. Xu G, Liu K, Anderson J, Patrene K, Lentzsch S, Roodman GD, et al. Expression of XBP1s in bone marrow stromal cells is critical for myeloma cell growth and osteoclast formation. *Blood*. 2012 May 3;119(18):4205.
171. Cubillos-Ruiz JR, Bettigole SE, Glimcher LH. Tumorigenic and Immunosuppressive Effects of Endoplasmic Reticulum Stress in Cancer. *Cell*. 2017 Feb 9;168(4):692–706.
172. Corazzari M, Rapino F, Ciccocanti F, Giglio P, Antonioli M, Conti B, et al. Oncogenic BRAF induces chronic ER stress condition resulting in increased basal autophagy and apoptotic resistance of cutaneous melanoma. *Cell Death Differ*. 2015 Jun;22(6):946–58.
173. Ma X-H, Piao S-F, Dey S, McAfee Q, Karakousis G, Villanueva J, et al. Targeting ER stress-induced autophagy overcomes BRAF inhibitor resistance in melanoma. *J Clin Invest*. 2014 Mar;124(3):1406–17.
174. Hart LS, Cunningham JT, Datta T, Dey S, Tameire F, Lehman SL, et al. ER stress-mediated autophagy promotes Myc-dependent transformation and tumor growth. *J Clin Invest*. 2012 Dec;122(12):4621–34.

175. Blazanin N, Son J, Craig-Lucas AB, John CL, Breech KJ, Podolsky MA, et al. ER stress and distinct outputs of the IRE1 α RNase control proliferation and senescence in response to oncogenic Ras. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017 12;114(37):9900–5.
176. Denoyelle C, Abou-Rjaily G, Bezrookove V, Verhaegen M, Johnson TM, Fullen DR, et al. Anti-oncogenic role of the endoplasmic reticulum differentially activated by mutations in the MAPK pathway. *Nat Cell Biol*. 2006 Oct;8(10):1053–63.
177. Horiguchi M, Koyanagi S, Okamoto A, Suzuki SO, Matsunaga N, Ohdo S. Stress-regulated transcription factor ATF4 promotes neoplastic transformation by suppressing expression of the INK4a/ARF cell senescence factors. *Cancer Res*. 2012 Jan 15;72(2):395–401.
178. Huynh H, Hao H-X, Chan SL, Chen D, Ong R, Soo KC, et al. Loss of Tuberous Sclerosis Complex 2 (TSC2) Is Frequent in Hepatocellular Carcinoma and Predicts Response to mTORC1 Inhibitor Everolimus. *Mol Cancer Ther*. 2015 May;14(5):1224–35.
179. Kang YJ, Lu M-K, Guan K-L. The TSC1 and TSC2 tumor suppressors are required for proper ER stress response and protect cells from ER stress-induced apoptosis. *Cell Death Differ*. 2011 Jan;18(1):133–44.
180. Yeung BHY, Kwan BWY, He QY, Lee AS, Liu J, Wong AST. Glucose-regulated protein 78 as a novel effector of BRCA1 for inhibiting stress-induced apoptosis. *Oncogene*. 2008 Dec 4;27(53):6782–9.
181. Mounir Z, Krishnamoorthy JL, Robertson GP, Scheuner D, Kaufman RJ, Georgescu M-M, et al. Tumor suppression by PTEN requires the activation of the PKR-eIF2 α phosphorylation pathway. *Sci Signal*. 2009 Dec 22;2(102):ra85.
182. Fu Y, Wey S, Wang M, Ye R, Liao C-P, Roy-Burman P, et al. Pten null prostate tumorigenesis and AKT activation are blocked by targeted knockout of ER chaperone GRP78/BiP in prostate epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Dec 9;105(49):19444–9.
183. Pluquet O, Qu L-K, Baltzis D, Koromilas AE. Endoplasmic reticulum stress accelerates p53 degradation by the cooperative actions of Hdm2 and glycogen synthase kinase 3 β . *Mol Cell Biol*. 2005 Nov;25(21):9392–405.
184. Carrasco DR, Sukhdeo K, Protopopova M, Sinha R, Enos M, Carrasco DE, et al. The Differentiation and Stress Response Factor XBP-1 Drives Multiple Myeloma Pathogenesis. *Cancer Cell*. 2007 Apr 10;11(4):349–60.
185. Guo JY, Chen H-Y, Mathew R, Fan J, Strohecker AM, Karsli-Uzunbas G, et al. Activated Ras requires autophagy to maintain oxidative metabolism and tumorigenesis. *Genes Dev*. 2011 Mar 1;25(5):460–70.
186. Degenhardt K, Mathew R, Beaudoin B, Bray K, Anderson D, Chen G, et al. Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis. *Cancer Cell*. 2006 Jul;10(1):51–64.
187. White E. Deconvoluting the context-dependent role for autophagy in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2012 Apr 26;12(6):401–10.

188. White E. The role for autophagy in cancer. *J Clin Invest*. 2015 Jan;125(1):42–6.
189. Onishi M, Ichikawa T, Kurozumi K, Date I. Angiogenesis and invasion in glioma. *Brain Tumor Pathol*. 2011 Feb;28(1):13–24.
190. Ghosh R, Lipson KL, Sargent KE, Mercurio AM, Hunt JS, Ron D, et al. Transcriptional Regulation of VEGF-A by the Unfolded Protein Response Pathway. *PLOS ONE*. 2010 Mar 8;5(3):e9575.
191. Pereira ER, Liao N, Neale GA, Hendershot LM. Transcriptional and Post-Transcriptional Regulation of Proangiogenic Factors by the Unfolded Protein Response. *PLOS ONE*. 2010 Sep 2;5(9):e12521.
192. Wang Y, Alam GN, Ning Y, Visioli F, Dong Z, Nör JE, et al. The unfolded protein response induces the angiogenic switch in human tumor cells through the PERK/ATF4 pathway. *Cancer Res*. 2012 Oct 15;72(20):5396–406.
193. Dong D, Ni M, Li J, Xiong S, Ye W, Virrey JJ, et al. Critical role of the stress chaperone GRP78/BiP in tumor proliferation, survival, and tumor angiogenesis in transgene-induced mammary tumor development. *Cancer Res*. 2008 Jan 15;68(2):498–505.
194. Philippova M, Ivanov D, Joshi MB, Kyriakakis E, Rupp K, Afonyushkin T, et al. Identification of proteins associating with glycosylphosphatidylinositol- anchored T-cadherin on the surface of vascular endothelial cells: role for Grp78/BiP in T-cadherin-dependent cell survival. *Mol Cell Biol*. 2008 Jun;28(12):4004–17.
195. Kern J, Untergasser G, Zenzmaier C, Sarg B, Gastl G, Gunsilius E, et al. GRP-78 secreted by tumor cells blocks the antiangiogenic activity of bortezomib. *Blood*. 2009 Oct 29;114(18):3960–7.
196. Jabouille A, Delugin M, Pineau R, Dubrac A, Soulet F, Lhomond S, et al. Glioblastoma invasion and cooption depend on IRE1 α endoribonuclease activity. *Oncotarget*. 2015 Sep 22;6(28):24922–34.
197. Auf G, Jabouille A, Guérit S, Pineau R, Delugin M, Bouche-careilh M, et al. Inositol-requiring enzyme 1 α is a key regulator of angiogenesis and invasion in malignant glioma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Aug 31;107(35):15553–8.
198. Ebos JML, Kerbel RS. Antiangiogenic therapy: impact on invasion, disease progression, and metastasis. *Nat Rev Clin Oncol*. 2011 Mar 1;8(4):210–21.
199. Gacche RN, Meshram RJ. Angiogenic factors as potential drug target: Efficacy and limitations of anti-angiogenic therapy. *Biochim Biophys Acta BBA - Rev Cancer*. 2014 Aug 1;1846(1):161–79.
200. Dejeans N, Pluquet O, Lhomond S, Grise F, Bouche-careilh M, Juin A, et al. Autocrine control of glioma cells adhesion and migration through IRE1 α -mediated cleavage of SPARC mRNA. *J Cell Sci*. 2012 Sep 15;125(Pt 18):4278–87.
201. Romero-Ramirez L, Cao H, Regalado MP, Kambham N, Siemann D, Kim JJ, et al. X box-binding protein 1 regulates angiogenesis in human pancreatic adenocarcinomas. *Transl Oncol*. 2009 Mar;2(1):31–8.

202. Blais JD, Addison CL, Edge R, Falls T, Zhao H, Wary K, et al. Perk-dependent translational regulation promotes tumor cell adaptation and angiogenesis in response to hypoxic stress. *Mol Cell Biol.* 2006 Dec;26(24):9517–32.
203. Gupta S, McGrath B, Cavener DR. PERK regulates the proliferation and development of insulin-secreting beta-cell tumors in the endocrine pancreas of mice. *PLoS One.* 2009 Nov 24;4(11):e8008.
204. Lambert AW, Pattabiraman DR, Weinberg RA. Emerging Biological Principles of Metastasis. *Cell.* 2017 Feb 9;168(4):670–91.
205. Thiery JP, Acloque H, Huang RYJ, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell.* 2009 Nov 25;139(5):871–90.
206. Sullivan NJ, Sasser AK, Axel AE, Vesuna F, Raman V, Ramirez N, et al. Interleukin-6 induces an epithelial-mesenchymal transition phenotype in human breast cancer cells. *Oncogene.* 2009 Aug 20;28(33):2940–7.
207. Wanami LS, Chen H-Y, Peiró S, García de Herreros A, Bachelder RE. Vascular endothelial growth factor-A stimulates Snail expression in breast tumor cells: implications for tumor progression. *Exp Cell Res.* 2008 Aug 1;314(13):2448–53.
208. Yang AD, Camp ER, Fan F, Shen L, Gray MJ, Liu W, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-1 activation mediates epithelial to mesenchymal transition in human pancreatic carcinoma cells. *Cancer Res.* 2006 Jan 1;66(1):46–51.
209. Del Vecchio CA, Feng Y, Sokol ES, Tillman EJ, Sanduja S, Reinhardt F, et al. De-differentiation confers multidrug resistance via noncanonical PERK-Nrf2 signaling. *PLoS Biol.* 2014 Sep;12(9):e1001945.
210. Sheshadri N, Catanzaro JM, Bott AJ, Sun Y, Ullman E, Chen EI, et al. SCCA1/SERPINB3 promotes oncogenesis and epithelial-mesenchymal transition via the unfolded protein response and IL6 signaling. *Cancer Res.* 2014 Nov 1;74(21):6318–29.
211. Zeindl-Eberhart E, Brandl L, Liebmann S, Ormanns S, Scheel SK, Brabletz T, et al. Epithelial-mesenchymal transition induces endoplasmic-reticulum-stress response in human colorectal tumor cells. *PLoS One.* 2014;9(1):e87386.
212. Shen X, Xue Y, Si Y, Wang Q, Wang Z, Yuan J, et al. The unfolded protein response potentiates epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) of gastric cancer cells under severe hypoxic conditions. *Med Oncol Northwood Lond Engl.* 2015 Jan;32(1):447.
213. Cuevas EP, Eraso P, Mazón MJ, Santos V, Moreno-Bueno G, Cano A, et al. LOXL2 drives epithelial-mesenchymal transition via activation of IRE1-XBP1 signalling pathway. *Sci Rep [Internet].* 2017 Mar 23;7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5362953/>
214. Feng Y-X, Sokol ES, Del Vecchio CA, Sanduja S, Claessen JHL, Proia TA, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition activates PERK-eIF2 α and sensitizes cells to endoplasmic reticulum stress. *Cancer Discov.* 2014 Jun;4(6):702–15.

215. Tanjore H, Cheng D-S, Degryse AL, Zoz DF, Abdolrasulnia R, Lawson WE, et al. Alveolar epithelial cells undergo epithelial-to-mesenchymal transition in response to endoplasmic reticulum stress. *J Biol Chem*. 2011 Sep 2;286(35):30972–80.
216. Kanao H, Enomoto T, Kimura T, Fujita M, Nakashima R, Ueda Y, et al. Overexpression of LAMP3/TSC403/DC-LAMP promotes metastasis in uterine cervical cancer. *Cancer Res*. 2005 Oct 1;65(19):8640–5.
217. Mujcic H, Nagelkerke A, Rouschop KMA, Chung S, Chaudary N, Span PN, et al. Hypoxic activation of the PERK/eIF2 α arm of the unfolded protein response promotes metastasis through induction of LAMP3. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2013 Nov 15;19(22):6126–37.
218. Mujcic H, Rzymiski T, Rouschop KMA, Koritzinsky M, Milani M, Harris AL, et al. Hypoxic activation of the unfolded protein response (UPR) induces expression of the metastasis-associated gene LAMP3. *Radiother Oncol J Eur Soc Ther Radiol Oncol*. 2009 Sep;92(3):450–9.
219. Nagelkerke A, Bussink J, van der Kogel AJ, Sweep FCGJ, Span PN. The PERK/ATF4/LAMP3-arm of the unfolded protein response affects radioresistance by interfering with the DNA damage response. *Radiother Oncol J Eur Soc Ther Radiol Oncol*. 2013 Sep;108(3):415–21.
220. Nagelkerke A, Bussink J, Mujcic H, Wouters BG, Lehmann S, Sweep FCGJ, et al. Hypoxia stimulates migration of breast cancer cells via the PERK/ATF4/LAMP3-arm of the unfolded protein response. *Breast Cancer Res BCR*. 2013 Jan 7;15(1):R2.
221. Yeh AC, Ramaswamy S. Mechanisms of Cancer Cell Dormancy--Another Hallmark of Cancer? *Cancer Res*. 2015 Dec 1;75(23):5014–22.
222. Ranganathan AC, Zhang L, Adam AP, Aguirre-Ghiso JA. Functional coupling of p38-induced up-regulation of BiP and activation of RNA-dependent protein kinase-like endoplasmic reticulum kinase to drug resistance of dormant carcinoma cells. *Cancer Res*. 2006 Feb 1;66(3):1702–11.
223. Bartkowiak K, Effenberger KE, Harder S, Andreas A, Buck F, Peter-Katalinic J, et al. Discovery of a novel unfolded protein response phenotype of cancer stem/progenitor cells from the bone marrow of breast cancer patients. *J Proteome Res*. 2010 Jun 4;9(6):3158–68.
224. Schewe DM, Aguirre-Ghiso JA. ATF6 α -Rheb-mTOR signaling promotes survival of dormant tumor cells in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Jul 29;105(30):10519–24.
225. Ranganathan AC, Adam AP, Zhang L, Aguirre-Ghiso JA. Tumor cell dormancy induced by p38SAPK and ER-stress signaling: an adaptive advantage for metastatic cells? *Cancer Biol Ther*. 2006 Jul;5(7):729–35.
226. Ranganathan AC, Ojha S, Kourtidis A, Conklin DS, Aguirre-Ghiso JA. Dual function of pancreatic endoplasmic reticulum kinase in tumor cell growth arrest and survival. *Cancer Res*. 2008 May 1;68(9):3260–8.

227. Sosa MS, Bragado P, Debnath J, Aguirre-Ghiso JA. Regulation of tumor cell dormancy by tissue microenvironments and autophagy. *Adv Exp Med Biol.* 2013;734:73–89.
228. Salaroglio IC, Panada E, Moiso E, Buondonno I, Provero P, Rubinstein M, et al. PERK induces resistance to cell death elicited by endoplasmic reticulum stress and chemotherapy. *Mol Cancer.* 2017 May 12;16(1):91.
229. Ji L, Li H, Gao P, Shang G, Zhang DD, Zhang N, et al. Nrf2 pathway regulates multidrug-resistance-associated protein 1 in small cell lung cancer. *PLoS One.* 2013;8(5):e63404.
230. Jeddi F, Soozangar N, Sadeghi MR, Somi MH, Shirmohamadi M, Eftekharsadat A-T, et al. Nrf2 overexpression is associated with P-glycoprotein upregulation in gastric cancer. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother.* 2018 Jan;97:286–92.
231. Lolodi O, Wang Y-M, Wright WC, Chen T. Differential Regulation of CYP3A4 and CYP3A5 and its Implication in Drug Discovery. *Curr Drug Metab.* 2017;18(12):1095–105.
232. Pathania S, Bhatia R, Baldi A, Singh R, Rawal RK. Drug metabolizing enzymes and their inhibitors' role in cancer resistance. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother.* 2018 Sep;105:53–65.
233. Homma S, Ishii Y, Morishima Y, Yamadori T, Matsuno Y, Haraguchi N, et al. Nrf2 enhances cell proliferation and resistance to anticancer drugs in human lung cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2009 May 15;15(10):3423–32.
234. Shen G, Kong A-NT. Nrf2 Plays an Important Role in Coordinated Regulation of Phase II Drug Metabolize Enzymes and Phase III Drug Transporters. *Biopharm Drug Dispos.* 2009 Oct;30(7):345–55.
235. Yokoyama C, Sueyoshi Y, Ema M, Mori Y, Takaishi K, Hisatomi H. Induction of oxidative stress by anticancer drugs in the presence and absence of cells. *Oncol Lett.* 2017 Nov;14(5):6066–70.
236. Malek MAYA, Jagannathan S, Malek E, Sayed DM, Elgammal SA, El-Azeem HGA, et al. Molecular chaperone GRP78 enhances aggresome delivery to autophagosomes to promote drug resistance in multiple myeloma. *Oncotarget.* 2015 Jan 10;6(5):3098–110.
237. Hombach-Klonisch S, Mehrpour M, Shojaei S, Harlos C, Pitz M, Hamai A, et al. Glioblastoma and Chemoresistance to Alkylating Agents: Involvement of Apoptosis, Autophagy, and Unfolded Protein Response. *Pharmacol Ther.* 2017 Oct 25;
238. Ma X-H, Piao S, Wang D, McAfee QW, Nathanson KL, Lum JJ, et al. Measurements of tumor cell autophagy predict invasiveness, resistance to chemotherapy, and survival in melanoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2011 May 15;17(10):3478–89.

239. Notte A, Rebutti M, Fransolet M, Roegiers E, Genin M, Tellier C, et al. Taxol-induced unfolded protein response activation in breast cancer cells exposed to hypoxia: ATF4 activation regulates autophagy and inhibits apoptosis. *Int J Biochem Cell Biol*. 2015 May;62:1–14.
240. Lee E, Nichols P, Spicer D, Groshen S, Yu MC, Lee AS. GRP78 as a novel predictor of responsiveness to chemotherapy in breast cancer. *Cancer Res*. 2006 Aug 15;66(16):7849–53.
241. Gu Y, Li H, Zhao L, Zhao S, He W, Rui L, et al. GRP78 confers the resistance to 5-FU by activating the c-Src/LSF/TS Axis in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*. 2015 Sep 10;6(32):33658–74.
242. Matsuo K, Gray MJ, Yang DY, Srivastava SA, Tripathi PB, Sonoda LA, et al. The endoplasmic reticulum stress marker, glucose-regulated protein-78 (GRP78) in visceral adipocytes predicts endometrial cancer progression and patient survival. *Gynecol Oncol*. 2013 Mar;128(3):552–9.
243. Mozos A, Roué G, López-Guillermo A, Jares P, Campo E, Colomer D, et al. The expression of the endoplasmic reticulum stress sensor BiP/GRP78 predicts response to chemotherapy and determines the efficacy of proteasome inhibitors in diffuse large b-cell lymphoma. *Am J Pathol*. 2011 Nov;179(5):2601–10.
244. Lee HK, Xiang C, Cazacu S, Finniss S, Kazimirsky G, Lemke N, et al. GRP78 is overexpressed in glioblastomas and regulates glioma cell growth and apoptosis. *Neuro-Oncol*. 2008 Jun;10(3):236–43.
245. Reddy RK, Mao C, Baumeister P, Austin RC, Kaufman RJ, Lee AS. Endoplasmic reticulum chaperone protein GRP78 protects cells from apoptosis induced by topoisomerase inhibitors: role of ATP binding site in suppression of caspase-7 activation. *J Biol Chem*. 2003 Jun 6;278(23):20915–24.
246. Zhou H, Zhang Y, Fu Y, Chan L, Lee AS. Novel mechanism of anti-apoptotic function of 78-kDa glucose-regulated protein (GRP78): endocrine resistance factor in breast cancer, through release of B-cell lymphoma 2 (BCL-2) from BCL-2-interacting killer (BIK). *J Biol Chem*. 2011 Jul 22;286(29):25687–96.
247. Bagratuni T, Wu P, Gonzalez de Castro D, Davenport EL, Dickens NJ, Walker BA, et al. XBP1s levels are implicated in the biology and outcome of myeloma mediating different clinical outcomes to thalidomide-based treatments. *Blood*. 2010 Jul 15;116(2):250–3.
248. Ling SCW, Lau EKK, Al-Shabeeb A, Nikolic A, Catalano A, Iland H, et al. Response of myeloma to the proteasome inhibitor bortezomib is correlated with the unfolded protein response regulator XBP-1. *Haematologica*. 2012 Jan;97(1):64–72.
249. Chevet E, Hetz C, Samali A. Endoplasmic Reticulum Stress–Activated Cell Reprogramming in Oncogenesis. *Cancer Discov*. 2015 Jan 6;5(6):586–97.
250. Yerushalmi R, Raiter A, Nalbandyan K, Hardy B. Cell surface GRP78: A potential marker of good prognosis and response to chemotherapy in breast cancer. *Oncol Lett*. 2015 Oct;10(4):2149–55.

251. Hardy B, Raiter A, Yakimov M, Vilkin A, Niv Y. Colon cancer cells expressing cell surface GRP78 as a marker for reduced tumorigenicity. *Cell Oncol*. 2012 Oct 1;35(5):345–54.
252. Li Z, Zhang L, Zhao Y, Li H, Xiao H, Fu R, et al. Cell-surface GRP78 facilitates colorectal cancer cell migration and invasion. *Int J Biochem Cell Biol*. 2013 May;45(5):987–94.
253. Uramoto H, Sugio K, Oyama T, Nakata S, Ono K, Yoshimastu T, et al. Expression of endoplasmic reticulum molecular chaperone Grp78 in human lung cancer and its clinical significance. *Lung Cancer Amst Neth*. 2005 Jul;49(1):55–62.
254. Hsu W-M, Hsieh F-J, Jeng Y-M, Kuo M-L, Tsao P-N, Lee H, et al. GRP78 expression correlates with histologic differentiation and favorable prognosis in neuroblastic tumors. *Int J Cancer*. 2005 Mar 1;113(6):920–7.
255. Zheng Y-Z, Cao Z-G, Hu X, Shao Z-M. The endoplasmic reticulum stress markers GRP78 and CHOP predict disease-free survival and responsiveness to chemotherapy in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2014 Jun;145(2):349–58.
256. Zhang L-H, Yang X-L, Zhang X, Cheng J-X, Zhang W. Association of elevated GRP78 expression with increased astrocytoma malignancy via Akt and ERK pathways. *Brain Res*. 2011 Jan 31;1371:23–31.
257. Kwon D, Koh J, Kim S, Go H, Min HS, Kim YA, et al. Overexpression of endoplasmic reticulum stress-related proteins, XBP1s and GRP78, predicts poor prognosis in pulmonary adenocarcinoma. *Lung Cancer Amst Neth*. 2018 Aug;122:131–7.
258. Sun Y, Jiang F, Pan Y, Chen X, Chen J, Wang Y, et al. XBP1 promotes tumor invasion and is associated with poor prognosis in oral squamous cell carcinoma. *Oncol Rep*. 2018 Aug;40(2):988–98.
259. Wu S, Du R, Gao C, Kang J, Wen J, Sun T. The role of XBP1s in the metastasis and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 07;500(3):530–7.
260. Davies MPA, Barraclough DL, Stewart C, Joyce KA, Eccles RM, Barraclough R, et al. Expression and splicing of the unfolded protein response gene XBP-1 are significantly associated with clinical outcome of endocrine-treated breast cancer. *Int J Cancer*. 2008 Jul 1;123(1):85–8.
261. Yang J, Cheng D, Zhou S, Zhu B, Hu T, Yang Q. Overexpression of X-Box Binding Protein 1 (XBP1) Correlates to Poor Prognosis and Up-Regulation of PI3K/mTOR in Human Osteosarcoma. *Int J Mol Sci*. 2015 Dec 2;16(12):28635–46.
262. Wang M, Ruan S, Ming J, Dong F. Nuclear expression of XBP1s is correlated with breast cancer survival: a retrospective analysis based on tissue microarray. *OncoTargets Ther*. 2017;10:5927–34.

263. Schardt JA, Weber D, Eyholzer M, Mueller BU, Pabst T. Activation of the unfolded protein response is associated with favorable prognosis in acute myeloid leukemia. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2009 Jun 1;15(11):3834–41.
264. Gambella M, Rocci A, Passera R, Gay F, Omedè P, Crippa C, et al. High XBP1 expression is a marker of better outcome in multiple myeloma patients treated with bortezomib. *Haematologica*. 2014 Feb;99(2):e14-16.
265. Liu C-Y, Hsu C-C, Huang T-T, Lee C-H, Chen J-L, Yang S-H, et al. ER stress-related ATF6 upregulates CIP2A and contributes to poor prognosis of colon cancer. *Mol Oncol*. 2018 Oct;12(10):1706–17.
266. Martinez-Useros J, Georgiev-Hristov T, Borrero-Palacios A, Fernandez-Aceñero MJ, Rodríguez-Remírez M, del Puerto-Nevado L, et al. Identification of Poor-outcome Biliopancreatic Carcinoma Patients With Two-marker Signature Based on ATF6 α and p-p38 “STARD Compliant.” *Medicine (Baltimore)*. 2015 Nov;94(45):e1972.
267. Hanaoka M, Ishikawa T, Ishiguro M, Tokura M, Yamauchi S, Kikuchi A, et al. Expression of ATF6 as a marker of pre-cancerous atypical change in ulcerative colitis-associated colorectal cancer: a potential role in the management of dysplasia. *J Gastroenterol*. 2018 May;53(5):631–41.
268. He Y, Correa AM, Raso MG, Hofstetter WL, Fang B, Behrens C, et al. The role of PKR/eIF2 α signaling pathway in prognosis of non-small cell lung cancer. *PLoS One*. 2011;6(11):e24855.
269. Guo L, Chi Y, Xue J, Ma L, Shao Z, Wu J. Phosphorylated eIF2 α predicts disease-free survival in triple-negative breast cancer patients. *Sci Rep*. 2017 15;7:44674.
270. Classification Vidal - VIDAL eVIDAL [Internet]. [cited 2019 Jul 19]. Available from: <https://evidal.vidal.fr/classifications/vidal.html>
271. Pettenati C, Ingersoll MA. Mechanisms of BCG immunotherapy and its outlook for bladder cancer. *Nat Rev Urol*. 2018 Oct;15(10):615–25.
272. Axten JM, Medina JR, Feng Y, Shu A, Romeril SP, Grant SW, et al. Discovery of 7-Methyl-5-(1-([3-(trifluoromethyl)phenyl]acetyl)-2,3-dihydro-1H-indol-5-yl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amine (GSK2606414), a Potent and Selective First-in-Class Inhibitor of Protein Kinase R (PKR)-like Endoplasmic Reticulum Kinase (PERK). *J Med Chem*. 2012 Aug 23;55(16):7193–207.
273. Axten JM, Romeril SP, Shu A, Ralph J, Medina JR, Feng Y, et al. Discovery of GSK2656157: An Optimized PERK Inhibitor Selected for Preclinical Development. *ACS Med Chem Lett*. 2013 Oct 10;4(10):964–8.
274. Atkins C, Liu Q, Minthorn E, Zhang S-Y, Figueroa DJ, Moss K, et al. Characterization of a novel PERK kinase inhibitor with antitumor and antiangiogenic activity. *Cancer Res*. 2013 Mar 15;73(6):1993–2002.
275. Rojas-Rivera D, Delvaeye T, Roelandt R, Nerinckx W, Augustyns K, Vandenaabeele P, et al. When PERK inhibitors turn out to be new potent RIPK1

- inhibitors: critical issues on the specificity and use of GSK2606414 and GSK2656157. *Cell Death Differ.* 2017 Jun;24(6):1100–10.
276. Cross BCS, Bond PJ, Sadowski PG, Jha BK, Zak J, Goodman JM, et al. The molecular basis for selective inhibition of unconventional mRNA splicing by an IRE1-binding small molecule. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 Apr 10;109(15):E869.
277. Sanches M, Duffy NM, Talukdar M, Thevakumaran N, Chiovitti D, Canny MD, et al. Structure and mechanism of action of the hydroxy-aryl-aldehyde class of IRE1 endoribonuclease inhibitors. *Nat Commun.* 2014 Aug 28;5:4202.
278. Li X-X, Zhang H-S, Xu Y-M, Zhang R-J, Chen Y, Fan L, et al. Knockdown of IRE1 α inhibits colonic tumorigenesis through decreasing β -catenin and IRE1 α targeting suppresses colon cancer cells. *Oncogene.* 2017 30;36(48):6738–46.
279. Chan SMH, Lowe MP, Bernard A, Miller AA, Herbert TP. The inositol-requiring enzyme 1 (IRE1 α) RNase inhibitor, 4 μ 8C, is also a potent cellular antioxidant. *Biochem J.* 2018 Mar 9;475(5):923–9.
280. Cojocari D, Vellanki RN, Sit B, Uehling D, Koritzinsky M, Wouters BG. New small molecule inhibitors of UPR activation demonstrate that PERK, but not IRE1 α signaling is essential for promoting adaptation and survival to hypoxia. *Radiother Oncol J Eur Soc Ther Radiol Oncol.* 2013 Sep;108(3):541–7.
281. Logue SE, McGrath EP, Cleary P, Greene S, Mnich K, Almanza A, et al. Inhibition of IRE1 RNase activity modulates the tumor cell secretome and enhances response to chemotherapy. *Nat Commun.* 2018 Aug 15;9(1):3267.
282. Mimura N, Fulciniti M, Gorgun G, Tai Y-T, Cirstea D, Santo L, et al. Blockade of XBP1 splicing by inhibition of IRE1 α is a promising therapeutic option in multiple myeloma. *Blood.* 2012 Jun 14;119(24):5772.
283. Papandreou I, Denko NC, Olson M, Melckebeke HV, Lust S, Tam A, et al. Identification of an Ire1alpha endonuclease specific inhibitor with cytotoxic activity against human multiple myeloma. *Blood.* 2011 Jan 27;117(4):1311–4.
284. Kriss CL, Pinilla-Ibarz JA, Mailloux AW, Powers JJ, Tang C-HA, Kang CW, et al. Overexpression of TCL1 activates the endoplasmic reticulum stress response: a novel mechanism of leukemic progression in mice. *Blood.* 2012 Aug 2;120(5):1027–38.
285. Chien W, Ding L-W, Sun Q-Y, Torres-Fernandez LA, Tan SZ, Xiao J, et al. Selective inhibition of unfolded protein response induces apoptosis in pancreatic cancer cells. *Oncotarget.* 2014 Jun 1;5(13):4881–94.
286. Ri M, Tashiro E, Oikawa D, Shinjo S, Tokuda M, Yokouchi Y, et al. Identification of Toyocamycin, an agent cytotoxic for multiple myeloma cells, as a potent inhibitor of ER stress-induced XBP1 mRNA splicing. *Blood Cancer J.* 2012 Jul;2(7):e79.
287. Wang L, Perera BGK, Hari SB, Bhatarai B, Backes BJ, Seeliger MA, et al. Divergent allosteric control of the IRE1 α endoribonuclease using kinase inhibitors. *Nat Chem Biol.* 2012 Dec;8(12):982–9.

288. Feldman HC, Tong M, Wang L, Meza-Acevedo R, Gobillot TA, Lebedev I, et al. Structural and Functional Analysis of the Allosteric Inhibition of IRE1 α with ATP-Competitive Ligands. *ACS Chem Biol*. 2016 19;11(8):2195–205.
289. Harrington PE, Biswas K, Malwitz D, Tasker AS, Mohr C, Andrews KL, et al. Unfolded Protein Response in Cancer: IRE1 α Inhibition by Selective Kinase Ligands Does Not Impair Tumor Cell Viability. *ACS Med Chem Lett*. 2015 Jan 8;6(1):68–72.
290. Ghosh R, Wang L, Wang ES, Perera BGK, Igbaria A, Morita S, et al. Allosteric Inhibition of the IRE1 α RNase Preserves Cell Viability and Function during Endoplasmic Reticulum Stress. *Cell*. 2014 Jul 31;158(3):534–48.
291. Iwawaki T, Akai R, Yamanaka S, Kohno K. Function of IRE1 alpha in the placenta is essential for placental development and embryonic viability. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Sep 29;106(39):16657–62.
292. Gallagher CM, Walter P. Ceapins inhibit ATF6 α signaling by selectively preventing transport of ATF6 α to the Golgi apparatus during ER stress. *eLife*. 2016 Jul 20;5:e11880.
293. Torres SE, Gallagher CM, Plate L, Gupta M, Liem CR, Guo X, et al. Ceapins block the unfolded protein response sensor ATF6 α by inducing a neomorphic inter-organelle tether. *eLife*. 2019 May 31;8.
294. Gallagher CM, Garri C, Cain EL, Ang KK-H, Wilson CG, Chen S, et al. Ceapins are a new class of unfolded protein response inhibitors, selectively targeting the ATF6 α branch. *eLife*. 2016 20;5.
295. Millet A, Plaisant M, Ronco C, Cerezo M, Abbe P, Jaune E, et al. Discovery and Optimization of N-(4-(3-Aminophenyl)thiazol-2-yl)acetamide as a Novel Scaffold Active against Sensitive and Resistant Cancer Cells. *J Med Chem*. 2016 Sep 22;59(18):8276–92.
296. Ronco C, Millet A, Plaisant M, Abbe P, Hamouda-Tekaya N, Rocchi S, et al. Structure activity relationship and optimization of N-(3-(2-aminothiazol-4-yl)aryl)benzenesulfonamides as anti-cancer compounds against sensitive and resistant cells. *Bioorg Med Chem Lett*. 2017 15;27(10):2192–6.
297. Cerezo M, Lehraiki A, Millet A, Rouaud F, Plaisant M, Jaune E, et al. Compounds Triggering ER Stress Exert Anti-Melanoma Effects and Overcome BRAF Inhibitor Resistance. *Cancer Cell*. 2016 13;29(6):805–19.
298. Cerezo M, Benhida R, Rocchi S. Targeting BIP to induce Endoplasmic Reticulum stress and cancer cell death. *Oncoscience*. 2016 Dec 9;3(11–12):306–7.
299. Ruggiero C, Doghman-Bouguerra M, Ronco C, Benhida R, Rocchi S, Lalli E. The GRP78/BiP inhibitor HA15 synergizes with mitotane action against adrenocortical carcinoma cells through convergent activation of ER stress pathways. *Mol Cell Endocrinol*. 2018 Oct 15;474:57–64.

300. Booth L, Cazanave SC, Hamed HA, Yacoub A, Ogretmen B, Chen C-S, et al. OSU-03012 suppresses GRP78/BiP expression that causes PERK-dependent increases in tumor cell killing. *Cancer Biol Ther*. 2012 Feb 15;13(4):224–36.
301. Mateo J, De Bono JS, Ramanathan RK, Lustberg MB, Zivi A, Basset D, et al. A first-in-human phase I trial of AR-12, a PDK-1 inhibitor, in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol*. 2013 May 20;31(15_suppl):2608–2608.
302. Martin S, Lamb HK, Brady C, Lefkove B, Bonner MY, Thompson P, et al. Inducing apoptosis of cancer cells using small-molecule plant compounds that bind to GRP78. *Br J Cancer*. 2013 Jul 23;109(2):433–43.
303. Jurkin J, Henkel T, Nielsen AF, Minnich M, Popow J, Kaufmann T, et al. The mammalian tRNA ligase complex mediates splicing of XBP1 mRNA and controls antibody secretion in plasma cells. *EMBO J*. 2014 Dec 17;33(24):2922–36.
304. Kosmaczewski SG, Edwards TJ, Han SM, Eckwahl MJ, Meyer BI, Peach S, et al. The RtcB RNA ligase is an essential component of the metazoan unfolded protein response. *EMBO Rep*. 2014 Dec;15(12):1278–85.
305. Tsaytler P, Bertolotti A. Exploiting the selectivity of protein phosphatase 1 for pharmacological intervention. *FEBS J*. 2013 Jan;280(2):766–70.
306. Tsaytler P, Harding HP, Ron D, Bertolotti A. Selective inhibition of a regulatory subunit of protein phosphatase 1 restores proteostasis. *Science*. 2011 Apr 1;332(6025):91–4.
307. Kang HJ, Seol HS, Lee SE, Suh Y-A, Kim J, Jang SJ, et al. Guanabenz Acetate Induces Endoplasmic Reticulum Stress-Related Cell Death in Hepatocellular Carcinoma Cells. *J Pathol Transl Med*. 2019 Mar;53(2):94–103.
308. Boyce M, Bryant KF, Jousse C, Long K, Harding HP, Scheuner D, et al. A selective inhibitor of eIF2 α dephosphorylation protects cells from ER stress. *Science*. 2005 Feb 11;307(5711):935–9.
309. Schewe DM, Aguirre-Ghiso JA. Inhibition of eIF2 α Dephosphorylation Maximizes Bortezomib Efficiency and Eliminates Quiescent Multiple Myeloma Cells Surviving Proteasome Inhibitor Therapy. *Cancer Res*. 2009 Feb 15;69(4):1545–52.
310. Drexler HCA. Synergistic Apoptosis Induction in Leukemic Cells by the Phosphatase Inhibitor Salubrinal and Proteasome Inhibitors. *PLOS ONE*. 2009 Jan 8;4(1):e4161.
311. Sidrauski C, Tsai JC, Kampmann M, Hearn BR, Vedantham P, Jaishankar P, et al. Pharmacological dimerization and activation of the exchange factor eIF2B antagonizes the integrated stress response. *eLife*. 2015 Apr 15;4:e07314.
312. Nguyen HG, Conn CS, Kye Y, Xue L, Forester CM, Cowan JE, et al. Development of a stress response therapy targeting aggressive prostate cancer. *Sci Transl Med*. 2018 May 2;10(439).
313. Jung B-J, Yoo H-S, Shin S, Park Y-J, Jeon S-M. Dysregulation of NRF2 in Cancer: from Molecular Mechanisms to Therapeutic Opportunities. *Biomol Ther*. 2018 Jan 1;26(1):57–68.

314. Sova M, Saso L. Design and development of Nrf2 modulators for cancer chemoprevention and therapy: a review. *Drug Des Devel Ther.* 2018;12:3181–97.
315. Singh A, Venkannagari S, Oh KH, Zhang Y-Q, Rohde JM, Liu L, et al. Small Molecule Inhibitor of NRF2 Selectively Intervenes Therapeutic Resistance in KEAP1-Deficient NSCLC Tumors. *ACS Chem Biol.* 2016 18;11(11):3214–25.
316. Bollong MJ, Yun H, Sherwood L, Woods AK, Lairson LL, Schultz PG. A Small Molecule Inhibits Deregulated NRF2 Transcriptional Activity in Cancer. *ACS Chem Biol.* 2015 Oct 16;10(10):2193–8.
317. Lee S, Lim M-J, Kim M-H, Yu C-H, Yun Y-S, Ahn J, et al. An effective strategy for increasing the radiosensitivity of Human lung Cancer cells by blocking Nrf2-dependent antioxidant responses. *Free Radic Biol Med.* 2012 Aug 15;53(4):807–16.
318. Choi E-J, Jung B-J, Lee S-H, Yoo H-S, Shin E-A, Ko H-J, et al. A clinical drug library screen identifies clobetasol propionate as an NRF2 inhibitor with potential therapeutic efficacy in KEAP1 mutant lung cancer. *Oncogene.* 2017 Sep 14;36(37):5285–95.
319. Ren D, Villeneuve NF, Jiang T, Wu T, Lau A, Toppin HA, et al. Brusatol enhances the efficacy of chemotherapy by inhibiting the Nrf2-mediated defense mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011 Jan 25;108(4):1433–8.
320. Wang XJ, Hayes JD, Henderson CJ, Wolf CR. Identification of retinoic acid as an inhibitor of transcription factor Nrf2 through activation of retinoic acid receptor alpha. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007 Dec 4;104(49):19589–94.
321. Probst BL, Trevino I, McCauley L, Bumeister R, Dulubova I, Wigley WC, et al. RTA 408, A Novel Synthetic Triterpenoid with Broad Anticancer and Anti-Inflammatory Activity. *PloS One.* 2015;10(4):e0122942.
322. Wang X-Y, Zhang X-H, Peng L, Liu Z, Yang Y-X, He Z-X, et al. Bardoxolone methyl (CDDO-Me or RTA402) induces cell cycle arrest, apoptosis and autophagy via PI3K/Akt/mTOR and p38 MAPK/Erk1/2 signaling pathways in K562 cells. *Am J Transl Res.* 2017;9(10):4652–72.
323. de Zeeuw D, Akizawa T, Audhya P, Bakris GL, Chin M, Christ-Schmidt H, et al. Bardoxolone methyl in type 2 diabetes and stage 4 chronic kidney disease. *N Engl J Med.* 2013 Dec 26;369(26):2492–503.
324. Ma Y-M, Peng Y-M, Zhu Q-H, Gao A-H, Chao B, He Q-J, et al. Novel CHOP activator LGH00168 induces necroptosis in A549 human lung cancer cells via ROS-mediated ER stress and NF- κ B inhibition. *Acta Pharmacol Sin.* 2016 Sep;37(10):1381–90.
325. de-Freitas-Junior JCM, Bastos LG, Freire-Neto CA, Rocher BD, Abdelhay ESW, Morgado-Díaz JA. N-glycan biosynthesis inhibitors induce in vitro anticancer activity in colorectal cancer cells. *J Cell Biochem.* 2012 Sep;113(9):2957–66.

326. Jiang H, Zou J, Zhang H, Fu W, Zeng T, Huang H, et al. Unfolded protein response inducers tunicamycin and dithiothreitol promote myeloma cell differentiation mediated by XBP-1. *Clin Exp Med*. 2015 Feb 1;15(1):85–96.
327. Guha P, Kaptan E, Gade P, Kalvakolanu DV, Ahmed H. Tunicamycin induced endoplasmic reticulum stress promotes apoptosis of prostate cancer cells by activating mTORC1. *Oncotarget*. 2017 Sep 15;8(40):68191–207.
328. Morin MJ, Bernacki RJ. Biochemical effects and therapeutic potential of tunicamycin in murine L1210 leukemia. *Cancer Res*. 1983 Apr;43(4):1669–74.
329. Mahalingam D, Wilding G, Denmeade S, Sarantopoulos J, Cosgrove D, Cetnar J, et al. Mipsagargin, a novel thapsigargin-based PSMA-activated prodrug: results of a first-in-man phase I clinical trial in patients with refractory, advanced or metastatic solid tumours. *Br J Cancer*. 2016 Apr 26;114(9):986–94.
330. Tseng C-N, Hong Y-R, Chang H-W, Yu T-J, Hung T-W, Hou M-F, et al. Brefeldin A reduces anchorage-independent survival, cancer stem cell potential and migration of MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Mol Basel Switz*. 2014 Oct 29;19(11):17464–77.
331. Rajamahanty S, Alonzo C, Aynehchi S, Choudhury M, Konno S. Growth inhibition of androgen-responsive prostate cancer cells with brefeldin A targeting cell cycle and androgen receptor. *J Biomed Sci*. 2010 Jan 26;17:5.
332. Tseng C-N, Huang C-F, Cho C-L, Chang H-W, Huang C-W, Chiu C-C, et al. Brefeldin A effectively inhibits cancer stem cell-like properties and MMP-9 activity in human colorectal cancer Colo 205 cells. *Mol Basel Switz*. 2013 Aug 22;18(9):10242–53.
333. Phillips LR, Wolfe TL, Malspeis L, Supko JG. Analysis of brefeldin A and the prodrug breflate in plasma by gas chromatography with mass selective detection. *J Pharm Biomed Anal*. 1998 Apr 1;16(8):1301–9.
334. Obeng EA, Carlson LM, Gutman DM, Harrington WJ, Lee KP, Boise LH. Proteasome inhibitors induce a terminal unfolded protein response in multiple myeloma cells. *Blood*. 2006 Jun 15;107(12):4907–16.
335. Ri M. Endoplasmic-reticulum stress pathway-associated mechanisms of action of proteasome inhibitors in multiple myeloma. *Int J Hematol*. 2016 Sep;104(3):273–80.
336. Zhang X-H, Wang X-Y, Zhou Z-W, Bai H, Shi L, Yang Y-X, et al. The combination of digoxin and GSK2606414 exerts synergistic anticancer activity against leukemia in vitro and in vivo. *BioFactors Oxf Engl*. 2017 Nov;43(6):812–20.

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2018/2019

Nom : LESIRE

Prénom : Laëtitia

Titre de la thèse : *L'Unfolded Protein Response* dans le cancer : de nouvelles cibles thérapeutiques ?

Mots-clés : *Unfolded Protein Response* (UPR), cancer, réticulum endoplasmique, recherche pharmaceutique.

Résumé : *L'Unfolded Protein Response* (UPR) est une voie de signalisation induite par l'accumulation de protéines mal-conformées au sein du réticulum endoplasmique et dont le principal objectif est le rétablissement de l'homéostasie protéique. L'UPR est ainsi associé à la survie, mais aussi à la mort cellulaire lorsque le stress protéique dépasse ses capacités adaptatives. Les cellules cancéreuses sollicitent particulièrement la voie UPR pour survivre. Cette voie de signalisation est ainsi associée au développement tumoral. La modulation de l'UPR par de petites molécules chimiques, seules ou en combinaison, provoque ainsi une toxicité vis-à-vis des cellules cancéreuses, ce qui en fait un potentiel thérapeutique intéressant dans cette pathologie où le besoin thérapeutique est insatisfait.

Membres du jury :

Président : **M. Karim BELARBI**, Docteur en Pharmacie, Maître de conférences en Pharmacologie, Université de Lille.

Directeur, conseiller de thèse : **M. Benoit DEPRez**, Professeur des Universités, laboratoire U1177, Université de Lille.

Assesseur(s) :

Mme. Florence LEROUX, Docteur en Pharmacie, Ingénieur de recherche INSERM, laboratoire U1177, Institut Pasteur de Lille.

M. Pascal DAO PHAN, Docteur en Pharmacie, Professeur associé, Bayer HealthCare SAS, Loos.