

**THESE**  
**POUR LE DIPLOME D'ETAT**  
**DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 23 juin 2026**  
**Par Monsieur Salim RICHET**

---

**Localisation et fonction nucléaire des points de contrôle  
immunologiques en cancérologie**

---

**Membres du jury :**

**Président** : Professeur Jean-Louis CAZIN, Docteur en Pharmacie, Professeur des Universités en Pharmacologie et Pharmacie Clinique à l'UFR3S Pharmacie (Université de Lille), Directeur du Centre de Pharmacologie et Pharmacie Clinique en Cancérologie au Centre Oscar Lambret (Centre de lutte contre le Cancer des Hauts de France), Président du Conseil Scientifique de la Société Française de Pharmacie Oncologique.

**Directeur de thèse** : Docteur Christian BAILLY, Ph.D., Professeur Associé à la Faculté de Pharmacie de Lille.

**Assesseur** : Docteur Fabrice LEJEUNE, Ph.D., DR2 Inserm.

**Membres extérieurs** : Docteur Xavier MARCEL-FOURRIER, Pharm.D., CEO.

## Université de Lille

Président  
Premier Vice-président  
Vice-présidente Formation  
Vice-président Recherche  
Vice-président Ressources Humaine  
Directrice Générale des Services

Régis BORDET  
Bertrand DÉCAUDIN  
Corinne ROBACZEWSKI  
Olivier COLOT  
Jean-Philippe TRICOIT  
Anne-Valérie CHIRIS-FABRE

## UFR3S

Doyen  
Premier Vice-Doyen, Vice-Doyen RH, SI et Qualité  
Vice-Doyenne Recherche  
Vice-Doyen Finances et Patrimoine  
Vice-Doyen International  
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires  
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie  
Vice-Doyen Territoire-Partenariats  
Vice-Doyen Santé numérique et Communication  
Vice-Doyenne Vie de Campus  
Vice-Doyen étudiant

Dominique LACROIX  
Hervé HUBERT  
Karine FAURE  
Emmanuelle LIPKA  
Vincent DERAMECOURT  
Sébastien D'HARANCY  
Caroline LANIER  
Thomas MORGENROTH  
Vincent SOBANSKI  
Anne-Laure BARBOTIN  
Victor HELENA

## Faculté de Pharmacie

Vice - Doyen  
Premier Assesseur et  
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement  
Assesseur à la Vie de la Faculté et  
Assesseur aux Ressources et Personnels  
Responsable de l'Administration et du Pilotage  
Représentant étudiant  
Chargé de mission 1er cycle  
Chargée de mission 2eme cycle  
Chargé de mission Accompagnement et Formation à la Recherche  
Chargé de mission Relations Internationales  
Chargée de Mission Qualité  
Chargé de mission dossier HCERES

Pascal ODOU  
  
Anne GARAT  
  
Emmanuelle LIPKA  
Cyrille PORTA  
Honoré GUISE  
Philippe GERVOIS  
Héloïse HENRY  
Nicolas WILLAND  
Christophe FURMAN  
Marie-Françoise ODOU  
Réjane LESTRELIN

### Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

### Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BERLARBI	Karim	Physiologie	86
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86

M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bio inorganique	85
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

### Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	GILLIOT	Sixtine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

### Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M	BEDART	Corentin	ICPAL	86
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
Mme	BOU KARROUM	Nour	Chimie bioinorganique	
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87

Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FRULEUX	Alexandre	Sciences végétales et fongiques	
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	LIBERELLE	Maxime	Biophysique - RMN	
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
M.	MENETREY	Quentin	Bactériologie - Virologie	87

M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	ROGEL	Anne	Immunologie	
M.	ROSA	Mickaël	Hématologie	87
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

#### Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mme	KUBIK	Laurence	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

### Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BAILLY	Christian	ICPAL	86
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

### Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M	AYED	Elya	Pharmacie officinale	
M.	COUSEIN	Etienne	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
Mme	DANICOURT	Frédérique	Pharmacie officinale	
Mme	DUPIRE	Fanny	Pharmacie officinale	
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
Mme	GEILER	Isabelle	Pharmacie officinale	
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86
M	POTHIER	Jean-Claude	Pharmacie officinale	
Mme	ROGNON	Carole	Pharmacie officinale	

### Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BOUDRY	Augustin	Biomathématiques	
Mme	DERAMOUDT	Laure	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	GISH	Alexandr	Toxicologie et Santé publique	
Mme	NEGRIER	Laura	Chimie analytique	

### Hospitalo-Universitaire (PHU)

	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DESVAGES	Maximilien	Hématologie	
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	

### Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	BERNARD	Lucie	Physiologie	
Mme	BARBIER	Emeline	Toxicologie	
Mme	COMPAGNE	Nina	Chimie Organique	
Mme	COULON	Audrey	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	DUFOSSEZ	Robin	Chimie physique	
Mme	FERRY	Lise	Biochimie	
M	HASYEOUI	Mohamed	Chimie Organique	
Mme	HENRY	Doriane	Biochimie	
Mme	KOUAGOU	Yolène	Sciences végétales et fongiques	
M	LAURENT	Arthur	Chimie-Physique	
M.	MACKIN MOHAMOUR	Synthia	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
Mme	RAAB	Sadia	Physiologie	

### Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	DELOBEAU	Iris	Pharmacie officinale
M	RIVART	Simon	Pharmacie officinale
Mme	SERGEANT	Sophie	Pharmacie officinale
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

**LRU / MAST**

<b>Civ.</b>	<b>Nom</b>	<b>Prénom</b>	<b>Service d'enseignement</b>
Mme	FRAPPE	Jade	Pharmacie officinale
M	LATRON-FREMEAU	Pierre-Manuel	Pharmacie officinale
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique

**Liste de la composition de l'équipe décanale et des enseignants en cours de mise à jour suite aux élections du début de l'année 2026.**

## ***UFR3S-Pharmacie***

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



## Remerciements

Je souhaite tout d'abord remercier mon maître de thèse, **Docteur Christian BAILLY**. Merci de m'avoir aidé dans le choix de ce sujet et d'avoir accepté de la diriger. Merci pour la confiance que vous m'avez accordée, ainsi que votre patience et les nombreux conseils apportés afin de mener à bien ce travail de recherche.

Merci au **Professeur Jean-Louis CAZIN** pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider ce jury.

Merci au **Docteur Fabrice LEJEUNE** et au **Docteur Xavier MARCEL-FOURRIER** pour leur soutien constant et pour avoir accepté de faire partie de mon jury.

Je tiens à remercier également l'ensemble du **corps professionnel de la Faculté de Pharmacie de Lille** pour la richesse des enseignements dispensés sur l'ensemble de mon parcours académique, qui m'ont permis de façonner mes connaissances et la rigueur scientifique pour la rédaction de cette thèse.

Merci à **mes parents, Christophe et Fouzia**, mon frère **Samy** et ma sœur **Yasmina**, pour votre soutien indéfectible, vos encouragements et vos conseils précieux. Votre dévouement m'a permis de suivre mes études dans les meilleures conditions, dans la sérénité et le dépassement de soi. Vous avez participé sans aucun doute à ma réussite jusqu'ici. Je ne l'oublierai jamais.

Merci à **ma partenaire, Fatima-Zohra**, qui depuis plus 1 an, partage ma vie malgré la distance. Tu as su par ta tendresse et ta bienveillance, apporter la motivation nécessaire à la rédaction de cette thèse. Merci pour ton écoute et ta patience qui sont ta plus grande force.

Merci à **mes amis** d'être toujours présents, dans les bons et mauvais moments. La vie n'est pas un long fleuve tranquille. Votre amitié et votre soutien sans faille vous rendent uniques et si précieux.

Merci à **mes collègues**, pour votre gentillesse et votre aide, qui ont toujours été présents pour répondre à mes questions.

Je souhaite aussi remercier l'ensemble des personnes que je n'ai pas pu citer ici, **mes grands-parents, mes tantes, mes oncles, mes cousins et cousines** qui sont pour moi, malgré la distance, ma plus grande force.

Enfin, je ne peux pas terminer **sans rendre hommage et dédier cette thèse à ma tendre mère, Fouzia**, partie trop tôt. Tu es à chaque instant dans mon cœur et je sais que tu n'es pas très loin. Je sais aussi que la vie est très courte et que rien n'est acquis, et qu'on finira par se rejoindre.

## Liste des abréviations

<b>AIF</b>	Apoptosis Inducing Factor
<b>B7-H3</b>	B7 Homolog 3
<b>BCL-2</b>	B-cell lymphoma 2
<b>Bcl-3</b>	B-cell lymphoma 3
<b>BHE</b>	Barrière hémato-encéphalique
<b>BIRC5</b>	Baculoviral IAP repeat-containing protein 5
<b>CCND1</b>	Cyclin D1
<b>CD80/CD86</b>	Cluster of Differentiation 80/86
<b>ChIP</b>	Chromatin Immunoprecipitation
<b>CMH</b>	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
<b>COX-2</b>	Cyclooxygenase-2
<b>CSN5</b>	Constitutive photomorphogenesis 9 signalosome subunit 5
<b>CTLA-4</b>	Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4
<b>CYR61</b>	Cysteine-rich angiogenic inducer 61
<b>EP4</b>	Récepteur 4 des prostaglandines E
<b>GSK3<math>\beta</math></b>	Glycogen synthase kinase 3 $\beta$
<b>HDAC</b>	Histone Deacetylase
<b>HDAC2</b>	Histone Deacetylase 2
<b>HIP1R</b>	Huntingtin-interacting protein 1-related
<b>H3K9/K14ac</b>	Acetylation of Histone H3 at Lysine 9 and 14
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	Interferon Gamma
<b>IFNL2/3</b>	Interferon Lambda 2/3
<b>IFNAR</b>	Interferon Alpha Receptor
<b>IL-8</b>	Interleukin 8
<b>Importine <math>\alpha</math>3</b>	Importine alpha 3

<b>ITIM</b>	Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif
<b>ITSM</b>	Immunoreceptor Tyrosine-based Switch Motif
<b>JAK1</b>	Janus kinase 1
<b>JAK-STAT</b>	Janus Kinase - Signal Transducer and Activator of Transcription
<b>LAG-3</b>	Lymphocyte Activation Gene 3
<b>LATS1/2</b>	Large tumor suppressor kinase 1/2
<b>MEK1/2</b>	Mitogen-activated protein kinase 1/2
<b>MOB1</b>	Mps one binder kinase activator-like 1
<b>MST1/2</b>	Mammalian sterile 20-like kinase 1/2
<b>MVB</b>	Multivesicular Bodies
<b>NK</b>	Natural Killer cells
<b>OTUB1</b>	OTU deubiquitinase ubiquitin aldehyde binding 1
<b>p300</b>	Histone acetyltransferase p300
<b>PD-1</b>	Programmed Cell Death Protein 1
<b>PD-L1</b>	Programmed Death-Ligand 1
<b>PGE2</b>	Prostaglandin E2
<b>SAV1</b>	Salvador homolog 1
<b>SPOP</b>	Speckle-type POZ protein
<b>STAT1/2/3</b>	Signal Transducer and Activator of Transcription 1/2/3
<b>STT3A</b>	Catalytic subunit of oligosaccharyltransferase
<b>TAZ</b>	Transcriptional coactivator with PDZ-binding motif
<b>TAD</b>	Topologically Associating Domain
<b>TCR</b>	T-cell Receptor
<b>TEAD</b>	TEA domain transcription factor
<b>TIM-3</b>	T-cell Immunoglobulin and Mucin Domain 3
<b>TNF</b>	Tumor Necrosis Factor
<b>Treg</b>	Regulatory T cells

<b>UCHL1</b>	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1
<b>USP9X</b>	Ubiquitin-specific protease 9X
<b>USP22</b>	Ubiquitin-specific protease 22
<b>VISTA</b>	V-domain Ig suppressor of T cell activation
<b>YAP</b>	Yes-associated protein
<b>β-TrCP</b>	β-transducin repeat-containing protein

## Liste des figures

**Figure 1** : Les mécanismes d'échappement de la tumeur au système immunitaire (adapté de [20]).

**Figure 2** : Les points de contrôle et la réponse immunitaire.

**Figure 3** : Les mécanismes d'action de PD-1/PD-L1 et leurs inhibitions par les anticorps anti-PD-1/PD-L1 lors de l'activation des lymphocytes T.

**Figure 4** : Les mécanismes d'action de CTLA-4 et de son inhibition par les anticorps anti-CTLA-4 lors de l'activation des lymphocytes T.

**Figure 5** : Les mécanismes d'action de LAG-3 et de son inhibition par les anticorps anti-LAG-3 lors de l'activation des lymphocytes T.

**Figure 6** : Les mécanismes d'action de TIM-3 et de son inhibition par les anticorps anti-TIM-3 lors de l'activation des cellules immunitaires (adapté de [29]).

**Figure 7** : Récepteurs de points de contrôle immunitaire et leurs ligands endogènes respectifs.

**Figure 8** : Trafic endosomal et biogenèse des exosomes (adapté de [38]).

**Figure 9** : Exemple d'analyse de co-localisation en microscopie confocale.

**Figure 10** : Localisation intracellulaire de protéines par microscopie électronique avec immunomarquage à l'or.

**Figure 11** : Analyse de la localisation intracellulaire de PD-L1 par fractionnement cellulaire et Western blot.

**Figure 12** : Modèle mécanistique illustrant le trafic intracellulaire de PD-L1 et sa translocation vers le noyau dans les cellules tumorales.

**Figure 13** : Schéma du fonctionnement de la voie Hippo.

**Figure 14** : Schéma de la translocation nucléaire de PD-L1 via l'axe PGE2-EP4-YAP-importine- $\alpha$ 3 et de son implication dans la voie Hippo (adapté de [53]).

**Figure 15** : Réseau des principaux partenaires moléculaires associés au signalosome intracellulaire de PD-L1 dans les cellules tumorales (adapté de [54]).

**Figure 16** : Organisation tridimensionnelle de la chromatine et régulation coordonnée des loci CD274 (PD-L1) et CD273 (PD-L2) via des domaines TAD, des enhancers et des super-enhancers (adapté de [37] et [55]).

**Figure 17** : Structures chimiques des inhibiteurs de petites molécules de PD-L1.

# Table des matières

Remerciements.....	12
Liste des abréviations .....	14
Liste des figures.....	17
Table des matières .....	18
Introduction .....	20
<b>I. L'importance des points de contrôle immunologiques dans le système immunitaire : PD-1/PD-L1 et au-delà.....</b>	<b>21</b>
<b>1. Définition, structure et mécanismes de base :.....</b>	<b>21</b>
1.1 Définition, structure et fonction des points de contrôle immunologiques..	21
1.2 Régulation de l'activation des lymphocytes T : équilibre entre tolérance et réponse immunitaire.....	22
<b>2. Implication dans les pathologies : .....</b>	<b>22</b>
2.1 Rôle dans l'échappement immunitaire tumoral .....	22
2.2 Implication dans les maladies auto-immunes et infectieuses .....	24
<b>3. Ciblage thérapeutique des checkpoints : .....</b>	<b>25</b>
3.1 Inhibiteurs de PD-1/PD-L1 : mécanisme d'action et efficacité clinique.....	25
3.2 Inhibiteurs de CTLA-4 : mécanismes d'action et efficacité clinique.....	26
3.3 Inhibiteurs de LAG-3 : mécanismes d'action et efficacité clinique.....	27
3.4 Inhibiteurs de TIM-3 : mécanismes d'action et efficacité clinique.....	28
<b>II. Localisation et fonctions membranaires des points de contrôle immunitaire</b>	<b>29</b>
<b>1. Localisation classique : .....</b>	<b>29</b>
1.1 Présence sur la membrane plasmique des lymphocytes (T et B) et autres cellules immunitaires.....	29
1.2 Fonction dans les interactions cellule-cellule .....	30
<b>2. Régulation post-traductionnelle de PD-L1 .....</b>	<b>31</b>
<b>3. Rôle des exosomes et des endosomes dans le trafic des points de contrôle immunitaire :.....</b>	<b>32</b>
3.1 Trafic intracellulaire et export via les exosomes.....	32
3.2 Influence sur la communication intercellulaire et la réponse immunitaire.	33
<b>III. Localisation intracellulaire et nucléaire des points de contrôle immunitaire</b>	<b>34</b>
<b>1. Localisation intracellulaire : .....</b>	<b>34</b>
1.1 Localisation intracellulaire de PD-L1 en dehors de la membrane plasmique	34
1.2 Approches expérimentales permettant d'identifier ces localisations .....	35
<b>2. Localisation nucléaire : .....</b>	<b>38</b>

2.1 Répartition nucléaire de PD-1/PD-L1 et d'autres points de contrôle immunitaire .....	38
2.2 Conditions favorisant la translocation nucléaire des points de contrôle immunitaire .....	39
<b>IV. Rôles et partenaires nucléaires des points de contrôle immunitaire.....</b>	<b>41</b>
<b>1. Fonctions au niveau nucléaire :</b> .....	<b>42</b>
1.1 Rôle dans la régulation de la transcription .....	42
<b>2. Partenaires moléculaires identifiés :</b> .....	<b>46</b>
2.1 Protéines associées : structure, rôle et implication dans la fonction nucléaire .....	46
2.2 Effets épigénétiques et modulation de la chromatine .....	49
<b>V. Perspectives thérapeutiques et recherche future .....</b>	<b>52</b>
<b>1. Implication clinique des découvertes :</b> .....	<b>52</b>
1.1 Ciblage des points de contrôle au niveau nucléaire pour moduler la réponse immunitaire.....	52
1.2 Implications pharmacologiques et nouvelles stratégies de ciblage .....	53
1.3 Stratégies pour contourner les résistances aux inhibiteurs classiques ....	56
<b>2. Défis et opportunités de la recherche :</b> .....	<b>56</b>
2.1 Difficultés méthodologiques pour étudier les points de contrôle nucléaires	56
2.2 Une thérapie émergente à explorer.....	57
Conclusion .....	58
Bibliographie .....	59

## Introduction

Les pathologies cancéreuses sont caractérisées par une prolifération incontrôlée de cellules anormales ayant acquis de nouvelles compétences, avec notamment la capacité d'envahir les tissus environnants ou de former des métastases. Avec les maladies cardiovasculaires, les cancers figurent parmi les principales causes de mortalité dans le monde, avec une incidence qui augmente chaque année selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (1). Les modes de vie, ainsi que les facteurs environnementaux et génétiques, sont responsables de cette augmentation (2).

Du point de vue épidémiologique, les cancers représentent en France la première cause de mort prématurée, avec 157 400 décès enregistrés en 2018, soit 26 % des décès prématurés (3). En 2023, environ 433 000 nouveaux cas ont été estimés en France. À l'échelle mondiale, les cancers sont la deuxième cause de décès après les maladies cardiovasculaires, responsables d'environ 9,7 millions de décès en 2022, avec près de 20 millions de nouveaux cas diagnostiqués (4).

Les traitements oncologiques reposent sur trois piliers majeurs avec la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie. D'autres approches thérapeutiques sont également utilisées, selon le type de cancers (par exemple, l'hormonothérapie pour certains cancers du sein et de la prostate). À ce socle historique s'est récemment ajoutée l'immunothérapie dans les soins anticancéreux (5). En effet, l'immunothérapie permet au système immunitaire de retrouver ses fonctions de défense et d'élimination des cellules tumorales et de contrer l'échappement immunitaire, qui peut être défini comme la capacité des cellules tumorales à éviter la reconnaissance et la destruction par le système immunitaire. Parmi les différentes stratégies développées figurent les anticorps monoclonaux, les cytokines et, plus récemment, les inhibiteurs des points de contrôle immunitaire (6).

Il est essentiel de comprendre les mécanismes biologiques responsables de l'échappement immunitaire des cellules tumorales. Parmi eux, les points de contrôle ont été largement étudiés pour leur rôle membranaire dans la régulation de l'activation du système immunitaire. Toutefois, cette approche principalement centrée sur leur localisation membranaire a laissé inexploitées leurs dimensions intracellulaire et nucléaire, pourtant susceptibles de jouer un rôle en cancérologie (7). Ainsi, l'émergence de la recherche de petites molécules ciblant ces points de contrôle immunitaire pourrait lever certaines contraintes inhérentes aux anticorps.

# **I. L'importance des points de contrôle immunologiques dans le système immunitaire : PD-1/PD-L1 et au-delà**

Le système immunitaire peut être défini comme un ensemble d'organes, de cellules et de substances qui nous protègent contre un certain nombre de pathologies, notamment infectieuses. En effet, lorsque le système immunitaire reconnaît un élément anormal, il déclenche une alarme et s'active pour combattre, par exemple, des bactéries, des virus, des parasites et des cellules modifiées ou altérées.

## **1. Définition, structure et mécanismes de base :**

### 1.1 Définition, structure et fonction des points de contrôle immunologiques

Les points de contrôle immunitaire ou « checkpoints immunitaires » sont des récepteurs membranaires régulateurs exprimés principalement à la surface des lymphocytes T, mais également sur d'autres cellules du système immunitaire telles que les cellules B, les cellules NK et les cellules présentatrices d'antigènes (8). Ces récepteurs modulent l'activation cellulaire afin de contrôler l'intensité, l'amplitude et la durée de la réponse immunitaire (9). Sur une même cellule, on retrouve à la fois des récepteurs co-activateurs et co-inhibiteurs de point de contrôle immunitaire. Ainsi, c'est la balance complexe entre les signaux activateurs et inhibiteurs qui détermine le seuil d'activation cellulaire.

Sur le plan structural, la majorité des points de contrôle immunitaire appartiennent à la superfamille des immunoglobulines ou à la famille des récepteurs du TNF (10)(11). Sur ces récepteurs, on retrouve généralement des domaines extracellulaires impliqués dans la reconnaissance ligand-récepteur, un unique domaine transmembranaire et des domaines intracellulaires contenant des motifs spécifiques, tels que les motifs ITIM et ITSM (12), capables de recruter des phosphatases et de moduler les voies de signalisation intracellulaires. Ces voies contrôlent principalement la prolifération, la production de cytokines, la survie cellulaire et la différenciation.

Physiologiquement, ces récepteurs jouent un rôle central dans le maintien de la tolérance immunitaire (13) et dans la contraction de la réponse inflammatoire après élimination de l'antigène. Cependant, dans le contexte tumoral, l'activation

excessive des lymphocytes T contribue à leur épuisement et à l'échappement immunitaire (14)(15).

## 1.2 Régulation de l'activation des lymphocytes T : équilibre entre tolérance et réponse immunitaire

L'activation des lymphocytes T repose sur la capacité du système immunitaire à distinguer le « soi » du « non-soi » (16). Cette discrimination s'effectue par la reconnaissance, via le récepteur des cellules T (TCR), de peptides antigéniques présentés par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) (17). Les molécules du CMH de classe I, exprimées par la majorité des cellules nucléées, présentent des peptides endogènes issus du soi ou soi altérés. En présence de peptides dérivés d'agents pathogènes ou de néo-antigènes tumoraux, cette reconnaissance peut déclencher une réponse immunitaire spécifique.

Cependant, la reconnaissance seul des antigènes n'est pas insuffisante. Un signal de co-stimulation, notamment via l'interaction CD28–B7 (18), est nécessaire pour permettre une activation complète des lymphocytes T. L'intégration de ces signaux activateurs et inhibiteurs permet de déterminer l'intensité, l'amplitude et la durée de la réponse immunitaire. (10). Ainsi, les points de contrôle immunitaire participent au maintien de la tolérance envers le soi et à la prévention des réponses auto-immunes (13). En revanche, dans le contexte tumoral, l'activation excessive de ces voies inhibitrices favorise l'inhibition fonctionnelle des lymphocytes T et l'échappement immunitaire (9).

## 2. Implication dans les pathologies :

### 2.1 Rôle dans l'échappement immunitaire tumoral

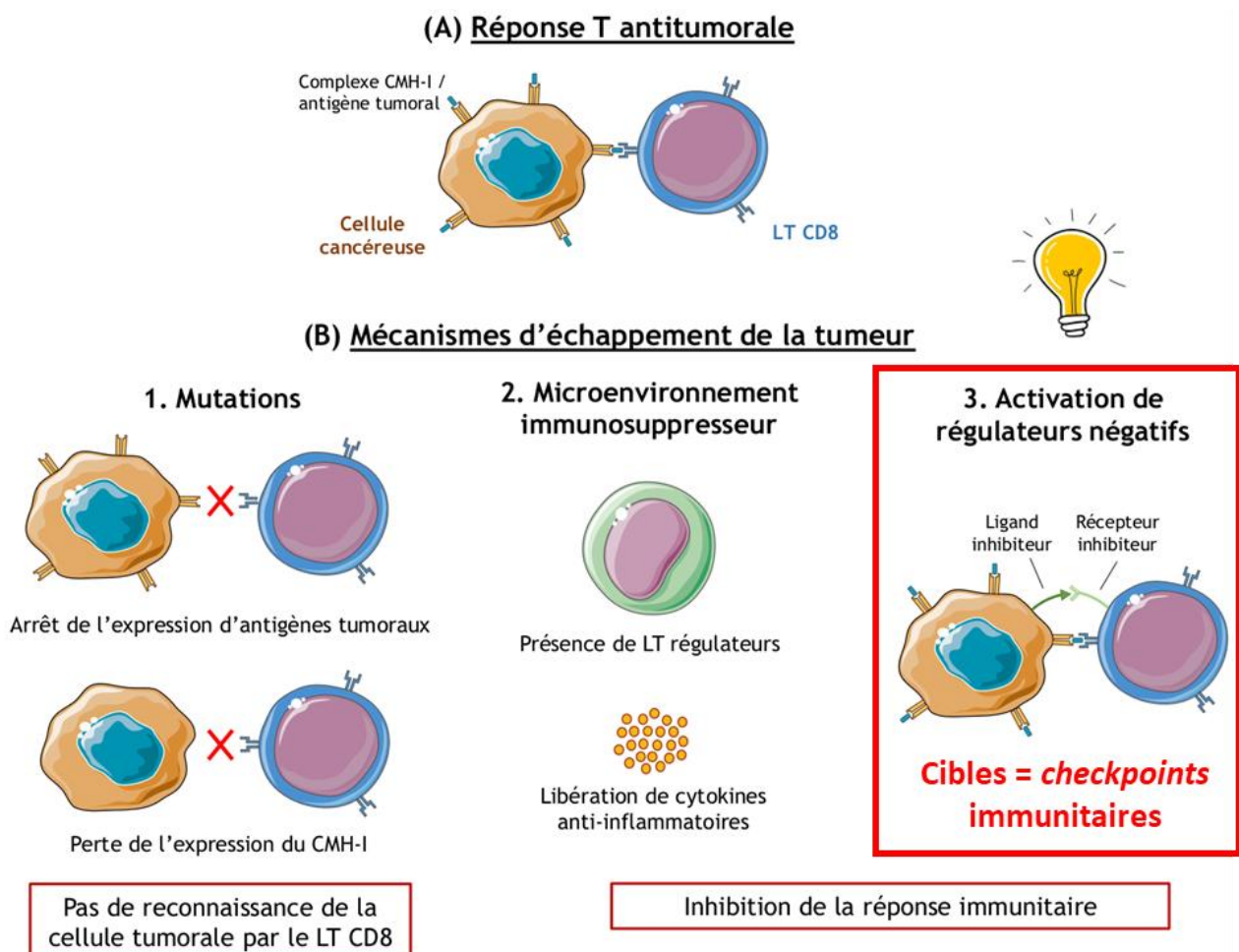
La progression tumorale résulte en partie d'un processus dynamique d'interaction entre la tumeur et le système immunitaire, décrit dans le concept « d'immunoediting », comprenant les phases d'élimination, d'équilibre et d'échappement (19). Au fil du temps, les cellules tumorales ont mis en place une multitude de mécanismes visant à échapper au système immunitaire, dont l'objectif final est d'altérer la reconnaissance des cellules tumorales ou d'inhiber la réponse

immunitaire. Ainsi, on retrouve trois grands mécanismes d'échappement tumoral décrits ci-dessous (Fig. 1) (20) :

**1. Altération de la présentation des antigènes**, notamment par des mutations entraînant une diminution de l'expression des antigènes tumoraux ou des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMH I).

**2. Induction d'un microenvironnement immunosuppresseur**, avec l'expansion de lymphocytes T régulateurs et la production de cytokines anti-inflammatoires comme, par exemple, l'IL-10.

**3. Expression de ligands inhibiteurs à la surface des cellules tumorales**, qui sont capables de se lier aux récepteurs inhibiteurs des lymphocytes T, tels que PD-1 ou CTLA-4, responsables de leur inhibition fonctionnelle.

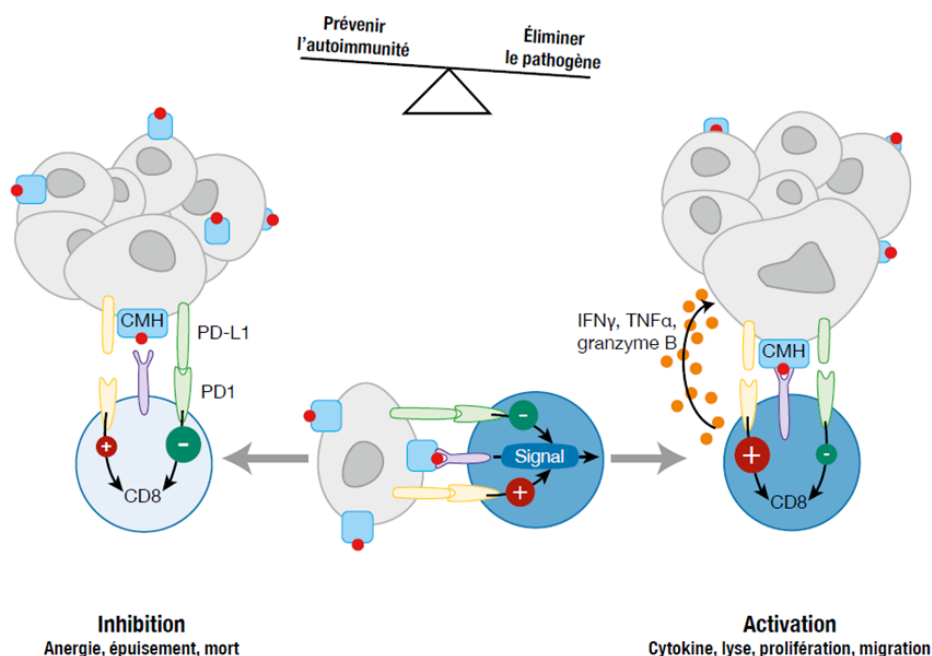


**Figure 1 : Les mécanismes d'échappement de la tumeur au système immunitaire (adapté de [20])**

La compréhension de ces mécanismes d'échappement a permis le développement d'une nouvelle classe thérapeutique : les inhibiteurs des points de contrôle immunitaire ou « anti-checkpoints », qui ont valu le prix Nobel, en 2018, à Tasuku Honjo et James P. Allison. Ces agents, tels que les anticorps dirigés contre PD-1 ou PD-L1, permettent de restaurer l'activité des lymphocytes T et de rétablir une réponse immunitaire antitumorale efficace (9).

## 2.2 Implication dans les maladies auto-immunes et infectieuses

L'équilibre entre signaux activateurs et inhibiteurs constitue un mécanisme fondamental de régulation, permettant l'élimination des agents pathogènes, tout en prévenant le développement de phénomènes auto-immuns. Les points de contrôle immunitaire assurent ainsi le maintien de l'homéostasie immunitaire en modulant l'intensité et la durée de l'activation des lymphocytes T. Si les récepteurs co-stimulateurs favorisent l'induction d'une réponse immune efficace en cas d'infection ou de transformation tumorale, les récepteurs inhibiteurs limitent cette activation afin d'éviter des réponses excessives, susceptibles d'induire des pathologies auto-immunes telles que la polyarthrite rhumatoïde, le lupus systémique ou l'asthme (Fig. 2) (21).



**Figure 2 : Les points de contrôle et la réponse immunitaire (21)**

Ces mécanismes participent également à un rétrocontrôle négatif, impliquant notamment la production de cytokines immunosuppressives par les cellules environnantes, contribuant à la résolution de la réponse immunitaire et au maintien

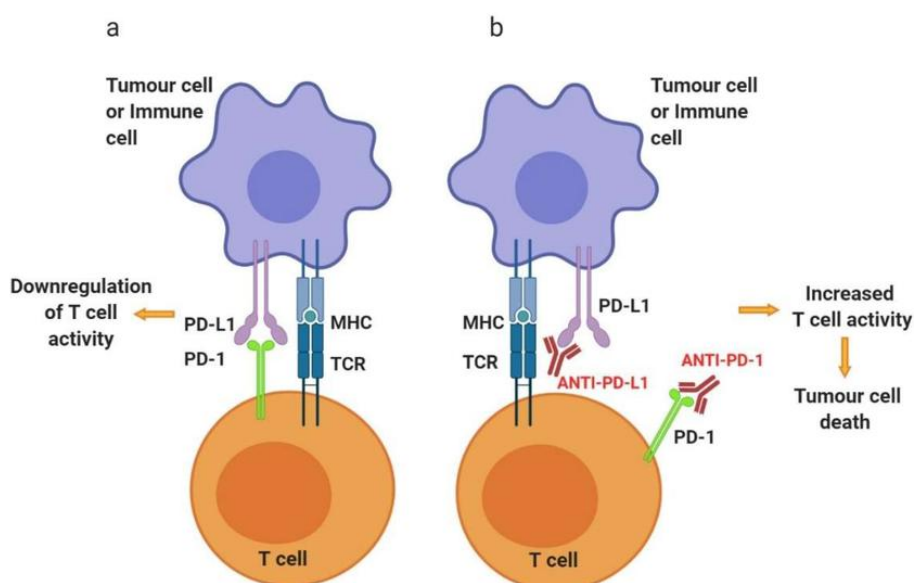
de la tolérance périphérique. L'importance physiologique de ces voies régulatrices est illustrée par l'apparition d'effets indésirables d'origine immunitaire chez certains patients traités par inhibiteurs des points de contrôle immunitaire, tels que des dermatites inflammatoires, des colites ou des endocrinopathies, confirmant leur rôle central dans la prévention de l'auto-immunité (22).

### 3. Ciblage thérapeutique des checkpoints :

Il existe plus d'une douzaine de points de contrôle immunitaire, mais nous n'en aborderons que 4, par mesure de simplification.

#### 3.1 Inhibiteurs de PD-1/PD-L1 : mécanisme d'action et efficacité clinique

PD-1 (« Programmed cell death protein 1 ») est un récepteur inhibiteur de la superfamille des immunoglobulines exprimé à la surface des lymphocytes T activés. Son interaction avec PD-L1 ou PD-L2 entraîne le recrutement de la phosphatase SHP-2, inhibant les voies de signalisation du TCR (notamment PI3K/AKT), ce qui réduit la prolifération, la production de cytokines pro-inflammatoire et les fonctions cytotoxiques des lymphocytes T (Fig 3, a). Afin de restaurer l'activation des lymphocytes T, on utilise des anticorps anti-PD-1 (nivolumab, pembrolizumab) ou anti-PD-L1 (atezolizumab, durvalumab) qui bloque les interactions avec les ligands PD-L1 ou PD-L2, permettant ainsi de restaurer l'activité antitumorale des lymphocytes T (Fig 3, b) (23).



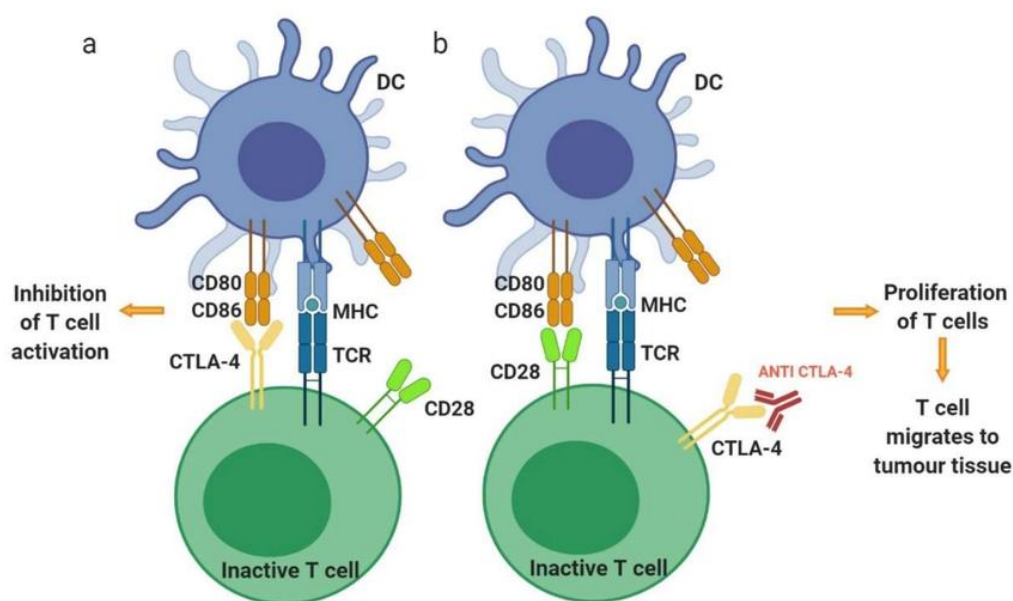
**Figure 3 : Les mécanismes d'action de PD-1/PD-L1 et ces inhibitions par les anticorps anti-PD-1/PD-L1 lors de l'activation des lymphocytes T (23)**

Au niveau clinique, les inhibiteurs de PD-1/PD-L1 ont démontré une activité à large spectre dans les tumeurs solides et, dans une moindre mesure, dans les tumeurs hématologiques, avec des indications approuvées dans plus de quinze types de cancers distincts, tels que le mélanome, le lymphome de Hodgkin, les cancers ORL et le carcinome hépatocellulaire (24).

À ce jour, une quinzaine d'anticorps ciblent l'axe PD-1/PD-L1, mais aucune petite molécule ni autre médicament que des anticorps ne cible cet axe. Cependant, des recherches intenses sont en cours, avec plus de 15 molécules biologiques en développement clinique (anticorps bispécifiques, fragments d'anticorps, ...).

### 3.2 Inhibiteurs de CTLA-4 : mécanismes d'action et efficacité clinique

Le récepteur CTLA-4 (« Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4 ») est exprimé principalement par les lymphocytes T activés ainsi que par les lymphocytes T régulateurs (Treg). Les molécules CD28 et CTLA-4, présentes sur les cellules T, rentrent en compétition pour se fixer aux molécules CD80/CD86 présentes à la surface des cellules présentatrices d'antigènes (Fig 4, a). Le blocage de CTLA-4 par un anticorps monoclonal, tel que l'ipilimumab, restaure la co-stimulation dépendante de CD28, ce qui entraîne une expansion des lymphocytes T effecteurs et une diminution des Treg intratumoraux, restaurant ainsi la réponse inflammatoire (Fig 4, b) (23).

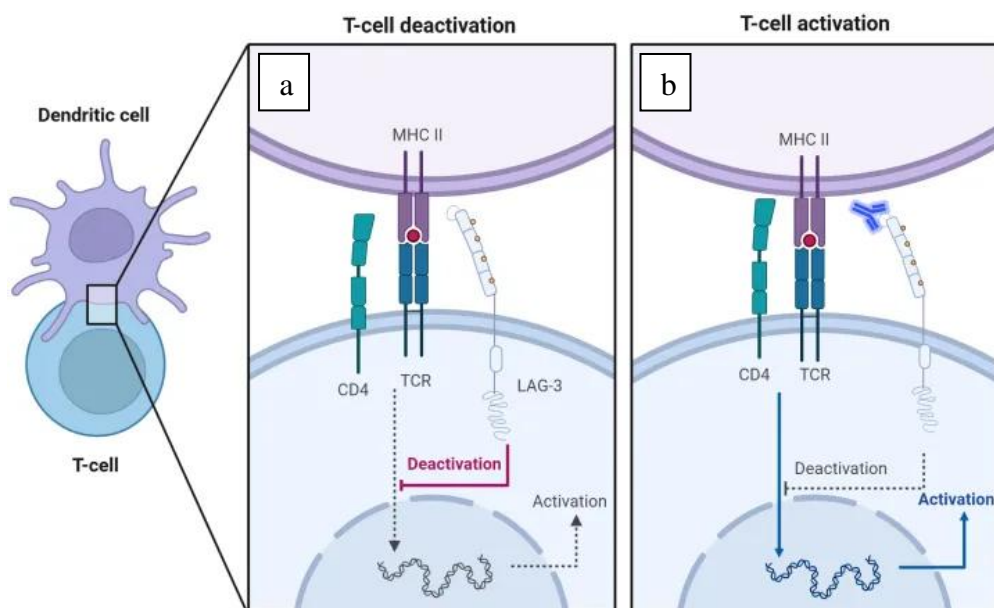


**Figure 4 : Les mécanismes d'action de CTLA-4 et de son inhibition par les anticorps anti-CTLA-4 lors de l'activation des lymphocytes T (23)**

L'ipilimumab est le premier représentant de cette classe, il a démontré une efficacité dans le traitement du mélanome métastatique (25), ainsi qu'une efficacité accrue en association avec le nivolumab (anticorps anti-PD-1) (26). Toutefois, les effets indésirables d'origine immunitaire, notamment les colites et les endocrinopathies, sont plus fréquents et généralement plus sévères qu'avec les inhibiteurs de PD-1 utilisés en monothérapie (26).

### 3.3 Inhibiteurs de LAG-3 : mécanismes d'action et efficacité clinique

LAG-3 (« Lymphocyte Activation Gene-3 ») est un récepteur inhibiteur exprimé à la surface des lymphocytes T épuisés et se lie aux molécules du CMH de classe II. Son activation inhibe la prolifération des lymphocytes T, renforce leur état d'épuisement et coopère fréquemment avec PD-1 (Fig 5, a). Le blocage de LAG-3 vise ainsi à restaurer les réponses immunitaires T dans les tumeurs résistantes aux inhibiteurs de PD-1 (Fig 5, b) (27).



**Figure 5 : Les mécanismes d'action de LAG-3 et de son inhibition par les anticorps anti-LAG-3 lors de l'activation des lymphocytes T (27)**

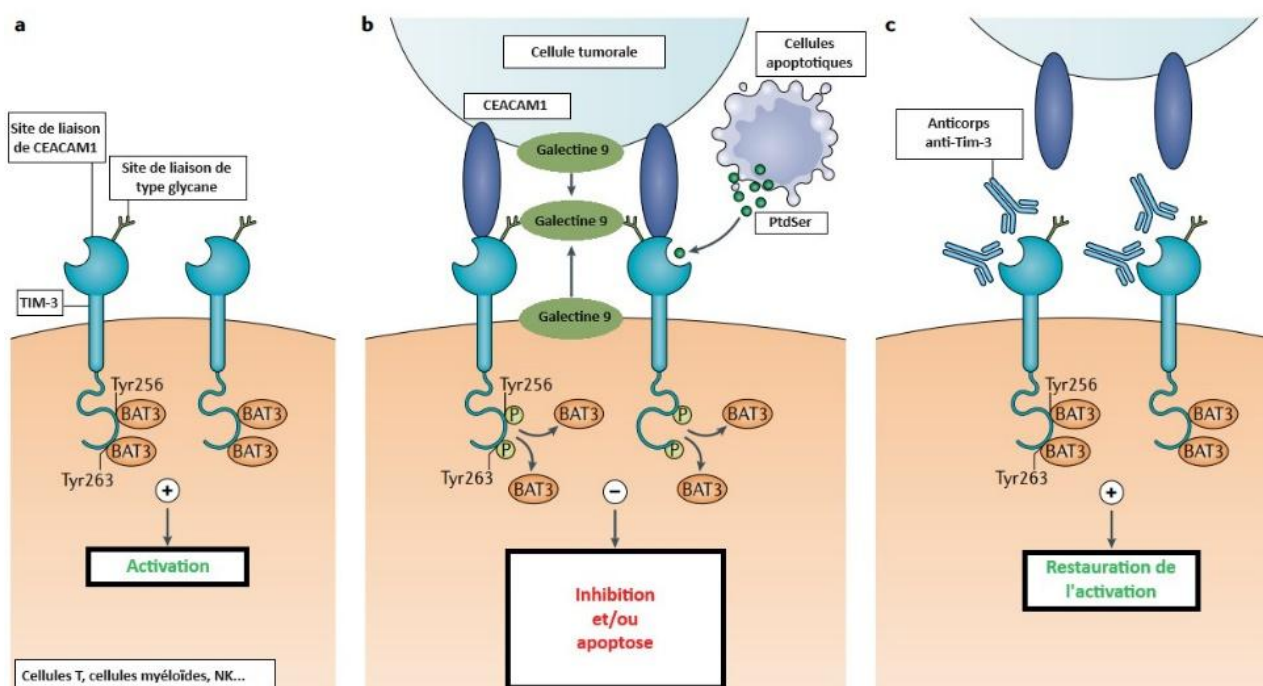
Au niveau clinique, le relatlimab est le premier anticorps ciblant LAG-3 à avoir été approuvé en bithérapie (2022). L'association du relatlimab (anti-LAG-3) et du nivolumab (anti-PD-1) a montré une amélioration significative de la survie dans le mélanome avancé (28). Ainsi, d'un point de vue clinique, le ciblage combiné des points de contrôle immunitaire est une stratégie thérapeutique encourageante (mais aussi très coûteuse).

### 3.4 Inhibiteurs de TIM-3 : mécanismes d'action et efficacité clinique

TIM-3 (« T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3 ») est un récepteur inhibiteur exprimé par les lymphocytes T épuisés, les cellules NK ainsi que certaines cellules myéloïdes, notamment les cellules dendritiques et les mastocytes. Ce récepteur est fréquemment co-exprimé avec PD-1 dans les tumeurs résistantes aux inhibiteurs de points de contrôle.

Au niveau extracellulaire, la protéine TIM-3 interagit avec différents ligands, dont la galectine-9, ce qui induit l'activation des voies de signalisation intracellulaire via la protéine adaptatrice BAT3. Son activation induit alors une inhibition fonctionnelle, voire l'apoptose des cellules immunitaires, contribuant ainsi à la tolérance tumorale (Fig. 6, b).

Ces découvertes ont conduit au développement d'anticorps ciblant TIM-3, tels que le sabatolimab (MBG453), utilisé dans les syndromes myélodysplasiques et les leucémies myéloïdes aiguës, dans l'objectif est de restaurer l'activité antitumorale (Fig. 6, c) (29).



**Figure 6 : Les mécanismes d'action de TIM-3 et de son inhibition par les anticorps anti-TIM-3 lors de l'activation des cellules immunitaires (adapté de [29])**

Plusieurs anticorps anti-TIM-3 sont actuellement évalués dans des essais cliniques, avec des résultats préliminaires encourageants, notamment en association avec les inhibiteurs de PD-1.

Ces 4 exemples montrent la diversité des points de contrôle immunitaire, qui sont nombreux. Leur expression et leur degré d'implication dans la pathologie varient d'une tumeur à une autre.

## **II. Localisation et fonctions membranaires des points de contrôle immunitaire**

Après la présentation et l'analyse des mécanismes fonctionnels des points de contrôle immunitaire, l'étude de leur localisation membranaire est une étape essentielle, avant l'exploration de leur localisation intracellulaire et nucléaire.

### **1. Localisation classique :**

#### 1.1 Présence sur la membrane plasmique des lymphocytes (T et B) et autres cellules immunitaires

Les points de contrôle immunitaire sont des protéines transmembranaires dont l'expression est finement régulée en fonction de l'état d'activation cellulaire et du contexte immunologique (9)(10). Ainsi, leur présence sur la membrane plasmique est dynamique.

Pour les lymphocytes T, leur expression membranaire est induite après une stimulation antigénique (10). Certains récepteurs, comme CTLA-4, présentent une régulation particulière avec un stockage intracellulaire et un transport vers la membrane après activation (31). D'autres, comme PD-1, sont faiblement exprimés sur les lymphocytes T naïfs, mais leur expression devient soutenue lors d'une stimulation antigénique chronique, notamment dans un contexte de cancer ou d'infection persistante (32)(33).

Au-delà des lymphocytes T, plusieurs cellules du système immunitaire expriment ces molécules ou leurs ligands à leur surface, notamment les cellules présentatrices d'antigènes, les cellules NK et les cellules myéloïdes (cellules dendritiques, macrophages et monocytes) (10). Ainsi, cette distribution permet l'établissement d'un réseau régulateur intercellulaire complexe.

La nature transmembranaire des points de contrôle immunitaire a historiquement orienté leur développement thérapeutique vers un ciblage de leur

domaine extracellulaire par des anticorps monoclonaux (34). Cependant, de nouveaux travaux montrent l'existence d'une localisation et d'une fonction intracellulaires de ces points de contrôle immunitaire, notamment nucléaires, avec PD-1/PD-L1 en tête de file. Ces recherches semblent montrer un rôle dans l'échappement tumoral et dans la résistance aux traitements (7).

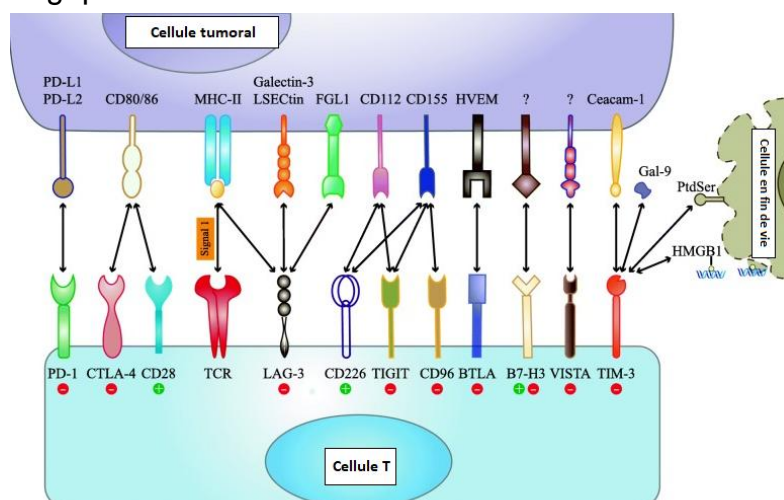
## 1.2 Fonction dans les interactions cellule-cellule

Les points de contrôle exercent leur fonction principalement au niveau de la synapse immunologique, interface spécialisée formée lors du contact entre un lymphocyte T et une cellule présentatrice d'antigène ou une cellule tumorale (35)(36).

Au sein de cette structure organisée, on retrouve :

- les récepteurs co-stimulateurs et co-inhibiteurs, qui se redistribuent dynamiquement au sein de domaines fonctionnels de la synapse immunologique ;
- certains d'entre eux, tels que PD-1, peuvent se concentrer dans des microdomaines membranaires spécifiques favorisant des interactions multiprotéiques ;
- le recrutement de protéines intracellulaires (ex. phosphatases et/ou kinases) est coordonné dans l'espace.

La figure 7 montre la diversité des interactions ligand-récepteur dans cette synapse immunologique.



**Figure 7 : Récepteurs de points de contrôle immunitaire et leurs ligands endogènes respectifs (8)**

Ainsi, l'organisation spatiale d'une synapse immunologique est dynamique, unique et multiprotéique. Les différentes interactions ligand-récepteur coexistent et sont coordonnées, permettant de moduler l'intensité et l'issue fonctionnelle de la signalisation du TCR (35).

## **2. Régulation post-traductionnelle de PD-L1**

Après la traduction, la protéine PD-L1 peut subir plusieurs modifications post-traductionnelles responsables de sa stabilité, de sa localisation et de sa fonction immunologique. Parmi ces mécanismes, on retrouve principalement la glycosylation, la phosphorylation, l'ubiquitination et l'acétylation.

La N-glycosylation constitue une modification essentielle de PD-L1. En effet, cette modification stabilise la protéine en empêchant sa reconnaissance par certaines ligases E3, notamment  $\beta$ -TrCP, empêchant ainsi sa dégradation protéasomale. Les formes non glycosylées de PD-L1, quant à elles, sont phosphorylées par GSK3 $\beta$ , ce qui favorise leur ubiquitination et leur dégradation. Un point intéressant à noter est que la N-glycosylation de PD-L1 peut altérer sa reconnaissance par les anticorps et donc rendre inefficaces les thérapies anticancéreuses par anticorps anti-PD-L1, ainsi le ciblage de cette modification constitue une approche prometteuse en thérapie anticancéreuse mais aussi plus largement dans le diagnostic clinique (37).

La phosphorylation de PD-L1 peut se faire sur plusieurs résidus d'acides aminés, responsables de sa stabilité et de ses interactions protéiques. Par exemple, la phosphorylation sur la Tyr112 par la kinase JAK1 induit le recrutement d'une N-glycosyltransférase du réticulum endoplasmique (STT3A), apportant des résidus de glucose sur PD-L1, responsables de la stabilité de PD-L1 (37).

L'ubiquitination constitue un mécanisme important de régulation de la quantité de PD-L1. Plusieurs ligases E3, comme SPOP ou  $\beta$ -TrCP, ciblent PD-L1 pour sa dégradation via le protéasome. Cette régulation est notamment dépendante du cycle cellulaire, avec des variations d'expression de PD-L1 au cours des différentes phases. Les enzymes telles que CSN5, USP9X, USP22, OTUB1 ou UCHL1 sont, quant à elles, responsables de la déubiquitination et stabilisent PD-L1 en empêchant sa dégradation. L'activation de ces voies contribue ainsi à l'accumulation de PD-L1 dans les cellules tumorales et à l'échappement immunitaire (37).

Enfin, PD-L1 peut subir aussi une acétylation réversible régulée par l'acétyltransférase p300 et la désacétylase HDAC2. Ces modifications jouent un rôle important dans la translocation nucléaire de PD-L1, établissant un lien direct entre la régulation post-traductionnelle et les fonctions intracellulaires de la protéine (7) (37).

### 3. Rôle des exosomes et des endosomes dans le trafic des points de contrôle immunitaire :

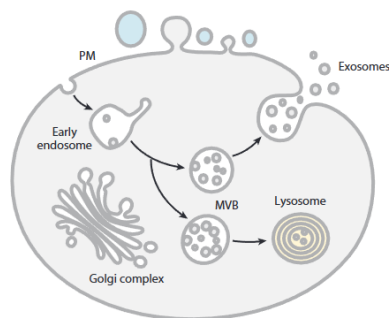
#### 3.1 Trafic intracellulaire et export via les exosomes

Au-delà de leur localisation membranaire, les points de contrôle immunitaire et leurs ligands sont soumis à un trafic intracellulaire dynamique, qui implique des compartiments endosomaux et des vésicules extracellulaires (38). Ainsi, ces mécanismes contribuent à la régulation de l'expression des points de contrôle, de leur recyclage et de leur localisation intracellulaire.

En effet, après interaction avec leurs ligands, ou de manière constitutive, certains points de contrôle peuvent être internalisés par endocytose. Ces récepteurs sont alors dirigés vers des compartiments endosomaux, où leur devenir dépend de mécanismes de tri intracellulaire.

Les endosomes peuvent évoluer vers des corps multivésiculaires (en anglais MVB, pour « Multivesicular Bodies »), qui sont des structures caractérisées par la présence de petites vésicules internes, formées par invagination de la membrane endosomale (38). Ces compartiments constituent un carrefour décisionnel (Fig 8) :

- soit ils fusionnent avec les lysosomes, ce qui entraîne la dégradation du récepteur ;
- soit ils fusionnent avec la membrane plasmique, ce qui libère les vésicules dans le milieu extracellulaire sous forme d'exosomes.



**Figure 8 : Trafic endosomal et biogenèse des exosomes (adapté de [38])**

Des travaux ont notamment montré que des ligands tels que PD-L1 peuvent être exportés sous forme exosomale, ce qui contribue à une immunosuppression dépassant le simple contact direct cellule-cellule (39). En effet, les exosomes tumoraux, qui renferment PD-L1, peuvent se déplacer dans le flux sanguin périphérique et interagir avec des lymphocytes T à distance du site de la tumeur d'origine. Ce mécanisme permet d'étendre l'inhibition immunitaire au-delà du microenvironnement tumoral immédiat et participe à une immunosuppression systémique, capable d'altérer la réponse antitumorale globale (40).

Ainsi, la présence de PD-L1 exosomal a été corrélée à la progression des tumeurs et à la résistance aux inhibiteurs de PD-1 (39). La présence de ces vésicules extracellulaires constitue alors non seulement un mécanisme d'échappement immunitaire, mais aussi un biomarqueur potentiel de réponse thérapeutique.

Pour conclure, le trafic endosomal et l'export exosomal, en particulier des ligands tels que PD-L1, ne sont pas limités à une régulation membranaire locale, mais participent à une reprogrammation immunitaire à distance, ce qui renforce la complexité des mécanismes d'évasion tumorale.

### 3.2 Influence sur la communication intercellulaire et la réponse immunitaire

Les mécanismes décrits précédemment illustrent bien que les points de contrôle ne se limitent pas à une interaction membranaire statique au sein de la synapse immunologique. Leur trafic endosomal et leur export exosomal participent à une communication intercellulaire élargie, modulant la réponse immunitaire à l'échelle du microenvironnement tumoral et au-delà. À cela s'ajoute aussi le clivage et le relargage (« shedding ») de formes solubles des récepteurs, qui contribuent également à leur régulation.

Ainsi, la localisation membranaire des points de contrôle immunitaire s'inscrit dans une dynamique subcellulaire complexe, où leur distribution et leur devenir intracellulaire conditionnent l'intensité et la portée des signaux immunorégulateurs. Cette continuité fonctionnelle prépare l'exploration de compartiments plus internes, notamment cytoplasmiques et nucléaires, pouvant ouvrir la voie à la découverte de nouvelles stratégies thérapeutiques.

### **III. Localisation intracellulaire et nucléaire des points de contrôle immunitaire**

Pendant longtemps, ces récepteurs ont été décrits comme étant principalement membranaires. Cependant, en réalité, les points de contrôle immunitaire ont une répartition intracellulaire plus complexe. En effet, des travaux récents ont mis en évidence la présence de certaines de ces molécules dans différents compartiments intracellulaires, et parfois même au niveau du noyau, montrant que leur rôle pourrait dépasser les interactions membranaires classiques.

#### **1. Localisation intracellulaire :**

##### **1.1 Localisation intracellulaire de PD-L1 en dehors de la membrane plasmique**

Les points de contrôle immunitaire ont initialement été décrits comme des récepteurs exprimés à la surface des cellules immunitaires et impliqués dans des interactions avec leurs ligands. Cependant, certaines de ces molécules ont également été identifiées dans différents compartiments intracellulaires. Des observations expérimentales ont notamment mis en évidence la présence de PD-1 et surtout de PD-L1 dans le cytoplasme, ainsi que dans des compartiments intracellulaires impliqués dans le trafic des protéines (41).

Ces localisations intracellulaires correspondent en partie aux différentes étapes de synthèse, de maturation et de transport de ces protéines avant leur expression à la membrane plasmique. Plusieurs études ont également montré que PD-L1 pouvait être présent dans des réservoirs intracellulaires dynamiques, et subir des phénomènes de trafic entre la membrane plasmique et différents compartiments cellulaires. Ces phénomènes permettent d'expliquer la stabilité et la disponibilité de PD-L1 à la surface cellulaire (39).

Par ailleurs, l'accumulation intracellulaire de PD-L1 a été décrite dans plusieurs types tumoraux et pourrait influencer la quantité de protéine exprimée à la surface cellulaire. Cette régulation de la distribution intracellulaire de PD-L1 pourrait ainsi participer aux mécanismes d'échappement immunitaire des cellules cancéreuses (39).

## 1.2 Approches expérimentales permettant d'identifier ces localisations

Plusieurs approches expérimentales permettent aujourd'hui d'étudier la localisation subcellulaire des points de contrôle immunitaire, et d'analyser leur distribution au sein des cellules. Parmi les techniques les plus couramment utilisées figure la microscopie confocale associée à l'immunofluorescence. Il permet de détecter des protéines telles que PD-1 ou PD-L1 à l'aide d'anticorps spécifiques couplés à des fluorophores. Cela permet l'observation de leur répartition dans les différents compartiments cellulaires et constitue un outil largement utilisé pour l'étude de la localisation des protéines dans les cellules immunitaires ou tumorales (42).

Cette technique est souvent couplée au marquage des organites via des marqueurs spécifiques. La comparaison du signal fluorescent de la protéine étudiée avec celui de marqueurs du réticulum endoplasmique, de l'appareil de Golgi ou des compartiments endosomaux permet d'évaluer la co-localisation entre ces structures et d'identifier plus précisément les compartiments intracellulaires dans lesquels ces protéines peuvent être présentes (42).

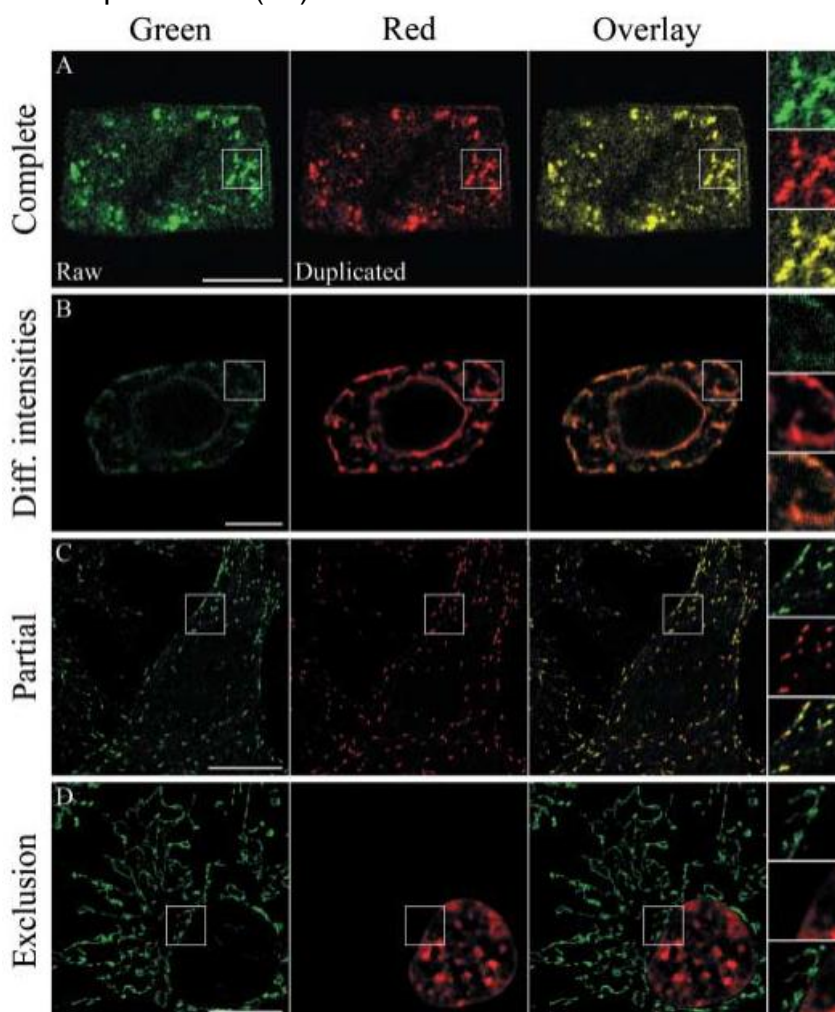
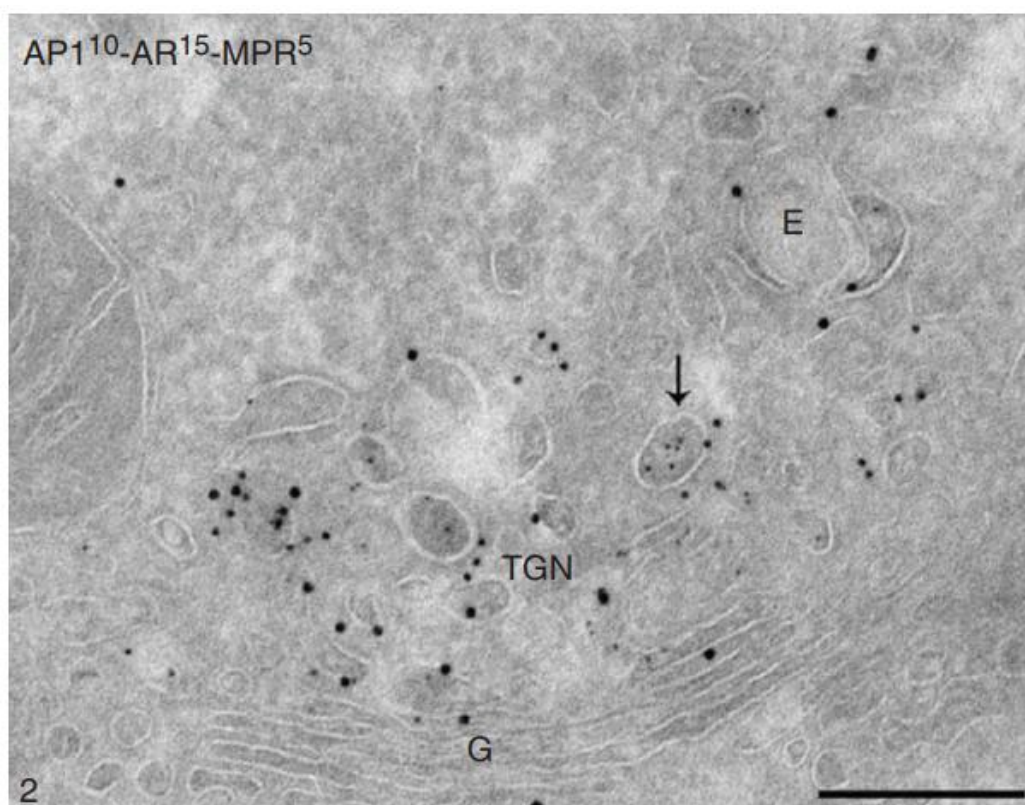


Figure 9 : Exemple d'analyse de co-localisation en microscopie confocale (42)

Les signaux fluorescents de deux protéines ou structures cellulaires sont visualisés dans deux canaux distincts : vert (Green) et rouge (Red). L'image de superposition (Overlay) permet d'identifier les zones de co-localisation apparaissant en jaune, résultant du chevauchement des deux signaux. Pour chaque expérience de co-localisation, un gros plan est effectué, cela est représenté par des petits carrés et rassemblé à droite de la figure 9. Les différents panneaux illustrent plusieurs situations possibles : (A) co-localisation complète, (B) co-localisation avec intensités différentes, (C) co-localisation partielle et (D) absence de co-localisation (exclusion). Ce type d'analyse est couramment utilisé en microscopie confocale pour déterminer la distribution subcellulaire des protéines et leur association éventuelle avec des compartiments intracellulaires spécifiques (adapté de [42]).

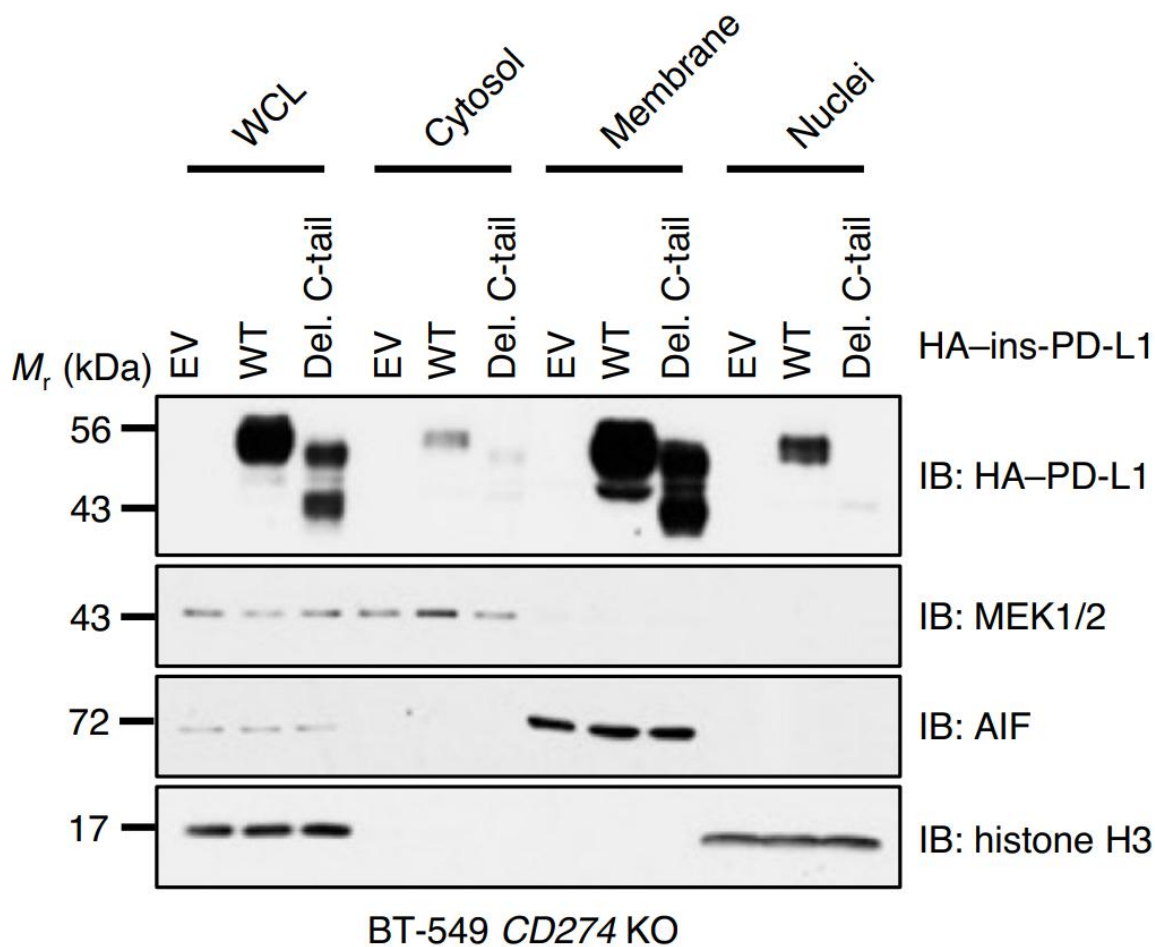
D'autres approches peuvent être aussi mobilisées afin de croiser les résultats. Parmi elles, la microscopie électronique permet par exemple d'observer l'organisation structurale des cellules avec une haute résolution, bien supérieure à la microscopie optique. Dans certaines conditions, cette technique peut être associée à des méthodes d'immunomarquage utilisant des anticorps couplés à des particules d'or (immunogold), ce qui permet de localiser certaines protéines directement au sein de structures cellulaires spécifiques (43).



**Figure 10 : Localisation intracellulaire de protéines par microscopie électronique avec immunomarquage à l'or (43)**

La microscopie électronique permet d'observer l'organisation ultrastructurale des cellules avec une résolution nettement supérieure à celle de la microscopie optique. Dans cet exemple, les particules d'or apparaissent sous forme de points denses aux électrons et indiquent la localisation de protéines au niveau de structures telles que l'appareil de Golgi (G), le réseau trans-Golgi (TGN) ou les endosomes (E). Cette approche permet ainsi d'identifier la distribution subcellulaire de protéines avec une grande précision structurale (adapté de [43]).

Une troisième technique peut être utilisée afin de renforcer ces résultats, avec le fractionnement cellulaire, qui est basé sur des méthodes biochimiques. Cette technique consiste à séparer les différents compartiments de la cellule (44), comme le cytosol, les membranes ou encore le noyau, afin d'en analyser ensuite le contenu protéique. Les fractions obtenues peuvent ensuite être étudiées à l'aide de techniques comme le Western blot ou la spectrométrie de masse afin de confirmer la présence des protéines d'intérêt dans les différents compartiments cellulaires.



**Figure 11 : Analyse de la localisation intracellulaire de PD-L1 par fractionnement cellulaire et Western blot (7)**

Le fractionnement cellulaire permet de séparer différents compartiments intracellulaires, notamment les fractions cytosoliques, membranaires et nucléaires. Dans cette expérience, des cellules BT-549 CD274-KO (dépourvues de PD-L1 endogène) ont été utilisées afin d'étudier la localisation d'une forme recombinante de PD-L1. Les cellules ont été transfectées soit avec une forme sauvage de PD-L1 (WT), soit avec une forme mutée dépourvue de la région intracellulaire C-terminale (Del C-tail). Après séparation des fractions cellulaires, les protéines présentes dans chaque compartiment ont été analysées par Western blot. La détection de PD-L1 dans les fractions cytosolique, membranaire et nucléaire permet d'évaluer sa distribution intracellulaire. L'utilisation de protéines marqueurs spécifiques, telles que MEK1/2 pour le cytosol, AIF pour les compartiments membranaires/mitochondriaux et l'histone H3 pour le noyau, permet de vérifier la qualité du fractionnement et la pureté des différentes fractions cellulaires. Cette approche biochimique constitue ainsi une méthode complémentaire aux techniques d'imagerie pour confirmer la localisation intracellulaire des protéines (adapté de [7]).

L'association de ces différentes approches expérimentales — microscopie, immunomarquage et analyses biochimiques — permet ainsi de caractériser avec précision la distribution intracellulaire des protéines étudiées. Ces stratégies expérimentales ont permis de mettre en évidence la présence intracellulaire et nucléaire de PD-L1 dans plusieurs types cellulaires tumoraux.

## **2. Localisation nucléaire :**

### **2.1 Répartition nucléaire de PD-1/PD-L1 et d'autres points de contrôle immunitaire**

Les recherches sur la localisation membranaire des points de contrôle immunitaire ont connu un essor majeur autour de 2018, tandis que la localisation nucléaire de ces molécules est plus récente, avec des travaux publiés à partir de 2022 et 2023. Parmi ces molécules, PD-L1 est aujourd'hui celle pour laquelle la localisation nucléaire est la mieux documentée. Des études menées dans différents types tumoraux ont montré que PD-L1 pouvait être détecté dans le noyau de cellules cancéreuses, en plus de sa localisation membranaire et cytoplasmique, suggérant que cette protéine pourrait exercer des fonctions intracellulaires distinctes de son rôle classique membranaire dans la régulation de l'activation des lymphocytes T (45).

Cette localisation nucléaire mise en évidence à l'aide de techniques d'immunohistochimie et d'immunofluorescence montre que PD-L1 pourrait participer à la régulation de l'expression de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire, la survie tumorale ainsi que dans la réponse aux traitements anticancéreux (7).

Même si PD-L1 représente actuellement l'exemple le plus étudié, la possibilité que d'autres points de contrôle immunitaire présentent également une distribution intracellulaire plus complexe a été évoquée. Quelques travaux ont montré la présence intracellulaire de molécules telles que PD-1 ou CTLA-4, mais leurs présences nucléaires restent encore peu caractérisées et leurs implications fonctionnelles sont encore mal connues (46)(47).

Ces observations montrent que la localisation nucléaire de certains points de contrôle immunitaire peut représenter un niveau supplémentaire de régulation cellulaire. L'étude des mécanismes moléculaires responsables du transport de ces protéines vers le noyau apparaît alors importante. La compréhension de ces processus de translocation permettra de mieux appréhender les fonctions intracellulaires potentielles de ces molécules, ce qui sera abordé dans la section suivante.

## 2.2 Conditions favorisant la translocation nucléaire des points de contrôle immunitaire

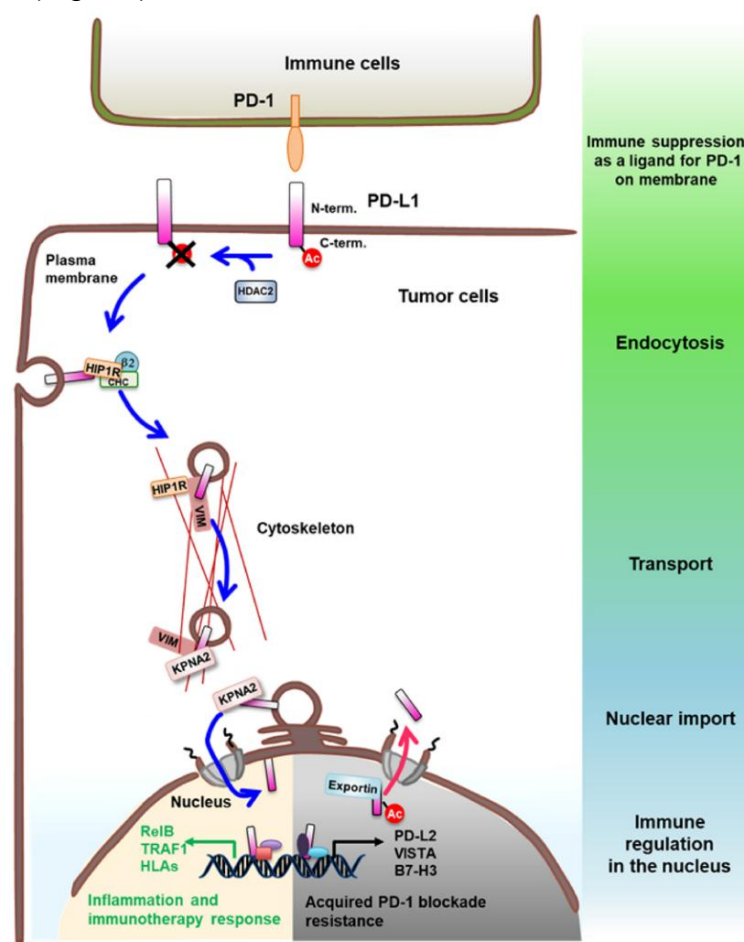
La présence de certains points de contrôle immunitaire dans le noyau révèle l'existence de mécanismes permettant leur transport vers ce compartiment cellulaire. Plusieurs travaux montrent que cette redistribution intracellulaire est influencée par différents signaux cellulaires ou par certaines conditions physiopathologiques.

Parmi les mécanismes décrits, les modifications post-traductionnelles de PD-L1 jouent un rôle important dans la régulation de sa localisation intracellulaire. Il a notamment été montré que l'état d'acétylation de PD-L1 influence sa distribution intracellulaire. En particulier, la déacétylation de PD-L1 par l'histone désacétylase HDAC2 favorise sa translocation vers le noyau, où la protéine peut moduler l'expression de gènes impliqués dans la progression tumorale et la réponse immunitaire (7). Ces observations montrent que les modifications post-traductionnelles participent au contrôle du trafic intracellulaire de PD-L1 et de ses fonctions au sein des cellules tumorales.

Le deuxième facteur important à prendre en compte est la stabilité de PD-L1. Des travaux ont montré que la déubiquitination de PD-L1 par la protéine CSN5 contribue à stabiliser la protéine et à réguler son accumulation intracellulaire (48). De plus, certaines protéines régulatrices, telles que CMTM6/8, participent également au maintien de l'expression et de la stabilité de PD-L1, en contrôlant son trafic intracellulaire et en limitant sa dégradation lysosomale (41).

Enfin, la distribution intracellulaire de PD-L1 dépend aussi du microenvironnement tumoral. En effet, différents signaux présents dans ce contexte — notamment ceux associés aux réponses inflammatoires ou induits par certains traitements anticancéreux — peuvent moduler à la fois l'expression et la localisation intracellulaire de cette protéine. Ces variations pourraient contribuer à l'adaptation des cellules tumorales aux contraintes du microenvironnement et participer aux mécanismes d'échappement immunitaire (49).

Ainsi, la translocation nucléaire de PD-L1 est un processus dynamique, résultant de l'intégration de multiples signaux cellulaires et mécanismes de régulation post-traductionnelle (Fig. 12).



**Figure 12 : Modèle mécanistique illustrant le trafic intracellulaire de PD-L1 et sa translocation vers le noyau dans les cellules tumorales (7)**

PD-L1 est initialement exprimé à la membrane plasmique des cellules tumorales où son interaction avec PD-1 exprimé par les cellules immunitaires induit une inhibition de l'activation des lymphocytes T. Une fraction de PD-L1 peut subir une déacétylation médiée par l'histone désacétylase HDAC2, constituant un événement de régulation précoce qui favorise son interaction avec des protéines impliquées dans l'endocytose, notamment HIP1R. La protéine est alors internalisée puis transportée dans le cytoplasme le long du cytosquelette, processus auquel participent des protéines structurales telles que la vimentine. Au cours de ce trafic intracellulaire, PD-L1 peut interagir avec des importines, notamment KPNA2, qui permet son transport à travers les pores nucléaires et sa translocation vers le noyau. Une fois dans ce compartiment, PD-L1 peut agir comme régulateur transcriptionnel indirect en modulant l'expression de gènes impliqués dans la réponse immunitaire et l'expression d'autres molécules de points de contrôle immunitaire telles que PD-L2, VISTA ou B7-H3. La présence de protéines d'export nucléaire telles que Exportin-1 montre par ailleurs que cette localisation nucléaire constitue un processus dynamique et réversible, avec PD-L1 pouvant également être exportée du noyau vers le cytoplasme. Ainsi, cette activité nucléaire contribue à l'adaptation des cellules tumorales au microenvironnement immunitaire et participer aux mécanismes de résistance acquise aux thérapies ciblant l'axe PD-1/PD-L1. Le schéma illustre bien les différentes étapes du processus, depuis la fonction membranaire classique de PD-L1 jusqu'à ses fonctions nucléaires impliquées dans la régulation transcriptionnelle et la résistance aux immunothérapies (adapté de [7]).

Ces observations montrent que la localisation nucléaire des points de contrôle immunitaire peut conférer à ces molécules des fonctions biologiques supplémentaires au sein des cellules tumorales. L'étude de ces rôles nucléaires et des partenaires moléculaires constitue un enjeu important pour mieux comprendre les mécanismes d'échappement tumoral.

#### **IV. Rôles et partenaires nucléaires des points de contrôle immunitaire**

La localisation nucléaire de certains points de contrôle immunitaire montre qu'ils peuvent avoir des fonctions intracellulaires au-delà de leur rôle membranaire classique. Parmi eux, PD-L1 est aujourd'hui le point de contrôle dont la fonction nucléaire est la mieux documentée, ce qui offre un modèle pour explorer les

nouveaux mécanismes impliqués dans l'échappement tumoral et la résistance aux immunothérapies.

## **1. Fonctions au niveau nucléaire :**

### 1.1 Rôle dans la régulation de la transcription

La présence de PD-L1 dans le noyau ne signifie pas que cette protéine agit comme un facteur de transcription classique. En effet, PD-L1 ne possède pas de domaine connu de liaison directe à l'ADN (50). Les données disponibles indiquent plutôt qu'elle exerce une fonction de co-régulation transcriptionnelle indirecte, en modulant l'expression de gènes impliqués dans la réponse immunitaire et l'échappement tumoral (7).

Dans l'étude de Gao et al., l'analyse du séquençage de l'ARN a montré que la déplétion de CD274, gène codant PD-L1, diminuait l'expression de plusieurs gènes de points de contrôle immunitaire, notamment PDCD1LG2 (PD-L2), VSIR (VISTA) et CD276 (B7-H3) (7). Ces résultats ont ensuite été validés expérimentalement par RT-qPCR et Western blot dans des cellules CD274-KO ou « knockdown », confirmant que l'expression de ces trois molécules dépend, au moins en partie, de la présence de PD-L1 (7). De plus, l'expression de PDCD1LG2 et de VSIR était positivement corrélée à celle de CD274 dans des cellules de cancer du sein humain (7). Ces résultats soutiennent donc l'idée que le PD-L1 nucléaire favorise l'expression d'autres checkpoints immunitaires non ciblés par le blocage PD-1/PD-L1, ce qui fournit un mécanisme plausible de résistance acquise à l'immunothérapie anti-PD-1 (7).

D'autres travaux plus récents montrent également que PD-L1 nucléaire peut participer à la régulation transcriptionnelle de gènes impliqués dans l'inflammation tumorale. Dans des cellules de cancer de l'ovaire stimulées par l'IFN- $\gamma$ , une cytokine pro-inflammatoire, l'expression de PD-L1 est fortement induite, et cette protéine a été retrouvée associée aux régions promotrices des gènes codant pour IL-8, BCL3 et STAT1. En effet, PD-L1 favorise l'acétylation des histones et le recrutement de l'ARN polymérase II (RNA Pol II), conduisant à une augmentation de la transcription de ces gènes (50). L'interleukine 8 (IL-8, codée par le gène CXCL8) est une chimiokine pro-inflammatoire impliquée dans le recrutement de cellules immunitaires. Elle possède aussi des propriétés pro-angiogéniques et pro-tumorales, favorisant la prolifération,

la migration et l'invasion des cellules cancéreuses. BCL3, membre de la famille IκB et co-régulateur transcriptionnel de la voie NF-κB, est quant à lui associé à la survie cellulaire, à la prolifération tumorale et à la résistance à l'apoptose. L'induction de ces gènes par PD-L1 nucléaire montrent que cette protéine participe à des programmes de transcription qui favorise la progression tumorale et la survie des cellules cancéreuses (50).

Ces observations montrent que, au-delà de son rôle de ligand immunitaire membranaire, PD-L1 participe à des mécanismes de signalisation intracellulaire en faveur de la survie cellulaire et de la progression tumoral.

D'autre part, l'inhibition de la protéine HDAC2, conduit à une diminution de PD-L1 nucléaire et augmente l'expression de gènes associés à la reconnaissance des ARN double brin (réponse antivirale), ainsi que de gènes impliqués dans la présentation antigénique du CMH de classe I (HLA-A, HLA-B, HLA-C) (7)(51). En d'autres termes, la diminution du PD-L1 nucléaire s'accompagne d'une augmentation de la capacité des cellules tumorales à signaler un état de danger immunitaire et à présenter leurs antigènes aux lymphocytes T CD8+ cytotoxiques.

Ce point est particulièrement important pour les gènes du HLA de classe I, car il relie directement la fonction nucléaire de PD-L1 à la présentation antigénique. Quand cette voie est rétablie, les cellules tumorales deviennent en théorie plus visibles pour les lymphocytes T cytotoxiques. Ainsi, les données de Gao montrent que le PD-L1 nucléaire ne se contente pas de soutenir l'expression de checkpoints alternatifs ; il participe aussi à un état transcriptionnel qui influence la visibilité immunologique de la tumeur via la régulation de gènes liés au CMH I / HLA (7).

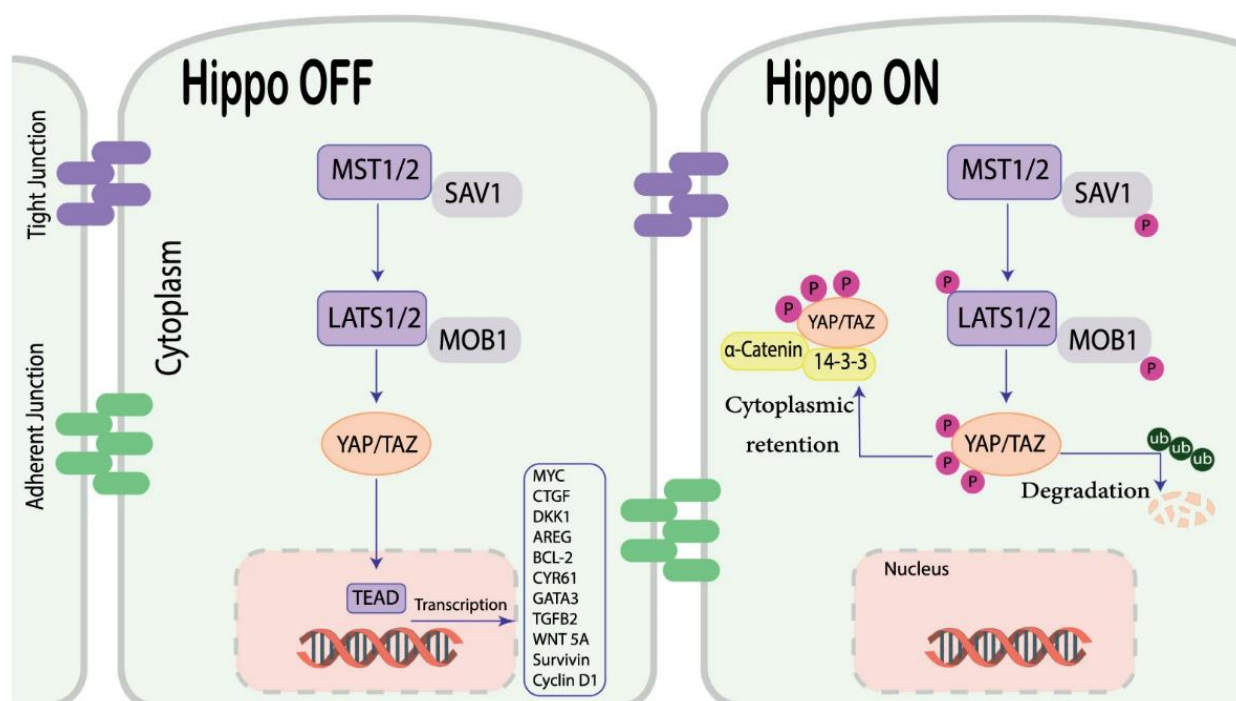
Une étude encore plus récente montre que PD-L1 est impliquée dans la voie Hippo, une voie clé de régulation négative de la croissance cellulaire. En effet, lorsqu'elle est active, elle bloque la croissance cellulaire et la progression tumorale, tandis que lorsqu'elle est inactive, la croissance est maintenue.

Les principaux effecteurs de cette voie sont la protéine TEAD, qui est un facteur de transcription, ainsi que les protéines YAP/TAZ, qui sont des coactivateurs transcriptionnels dépendants de TEAD.

Concrètement, l'activation de la voie Hippo (« Hippo ON ») induit une cascade de kinases (MST1/2 et LATS1/2), stabilisées par des protéines adaptatrices (SAV1 et MOB1). Ces kinases phosphorylent les protéines YAP/TAZ, qui sont alors retenues

dans le cytoplasme ou dégradées. Elles ne peuvent donc plus interagir avec TEAD dans le noyau, dont l'interaction est indispensable pour l'activation de gènes impliqués dans la prolifération et la survie cellulaire (Fig. 13) (52).

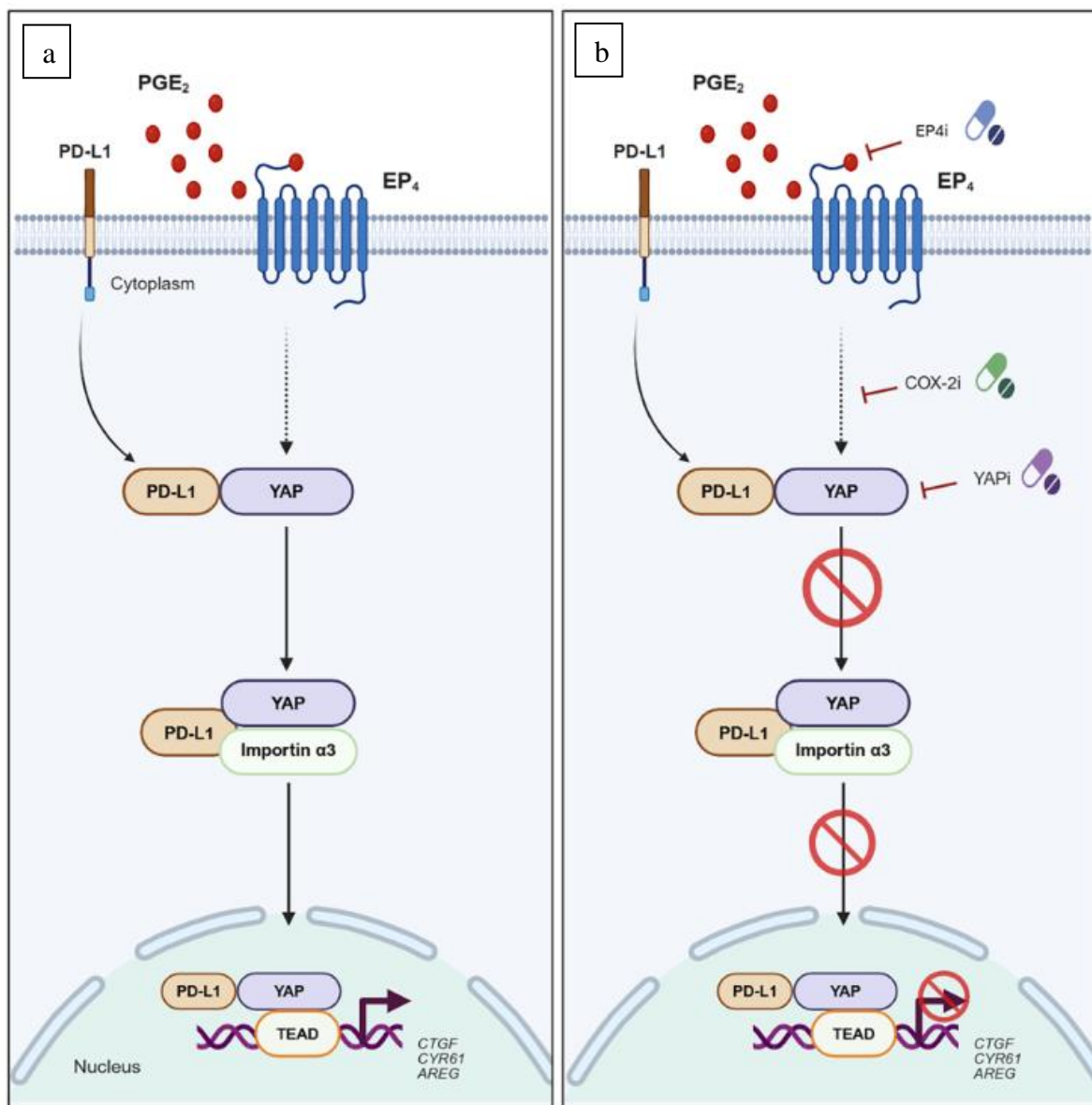
À l'inverse, lorsque la voie Hippo est inactive (« Hippo OFF »), les protéines YAP/TAZ sont libérées et peuvent être transloquées dans le noyau, où elles interagissent avec TEAD et induisent l'activation de gènes de prolifération cellulaire, de survie cellulaire et de type pro-oncogénique. Parmi ces gènes, on peut citer CCND1 (« Cyclin D1 »), un régulateur majeur du cycle cellulaire, BCL-2 et BIRC5 (« Survivin »), qui inhibent la mort cellulaire, ainsi que CYR61, impliqué dans l'angiogénèse (Fig. 13) (52). Dans ce contexte, la régulation de YAP/TAZ est particulièrement importante, car leur activité nucléaire peut être modulée par PD-L1.



**Figure 13 : Schéma du fonctionnement de la voie Hippo (52)**

L'étude de Satapathy et al. montre que PD-L1 intervient dans la voie Hippo jusqu'au noyau, via l'axe PGE2-EP4-YAP-importine- $\alpha$ 3 dans les tumeurs solides. En effet, la prostaglandine E2 (PGE2), dérivée de l'acide arachidonique et synthétisée par la cyclo-oxygénase 2 (COX-2), est capable de moduler la voie Hippo via un récepteur majeur couplé aux protéines G (EP4) dans la prolifération tumorale. L'activation du récepteur EP4 par la PGE2 favorise l'expression et la translocation de PD-L1 dans le noyau via l'interaction avec la protéine YAP associée à l'importine- $\alpha$ 3. Ils ont aussi montré que la translocation nucléaire de PD-L1 dépend de YAP, mais que YAP peut entrer indépendamment en utilisant l'importine- $\alpha$ 3 pour son transport

nucléaire. La présence combinée de PD-L1 et YAP dans le noyau associée à TEAD amplifie l'expression des gènes pro-oncogéniques (CCND1, BCL-2, BIRC5, etc.) par rapport à YAP seul associé à TEAD (Fig 14, a). Ainsi, l'interaction de PD-L1 et de YAP est particulièrement importante dans le noyau pour amplifier le signal de transcription de TEAD (53).



**Figure 14 : Schéma de la translocation nucléaire de PD-L1 via l'axe PGE2-EP4-YAP-importine- $\alpha$ 3 et de son implication dans la voie Hippo (adapté de [53])**

Ainsi, le blocage de cet axe PGE2-EP4-YAP-importine- $\alpha$ 3 par des inhibiteurs du récepteur EP4, de la COX-2 et de la protéine YAP bloque la translocation nucléaire de PD-L1 via cette voie et induit une diminution de l'expression de gènes responsables de la progression tumorale par TEAD (Fig 14, b). On comprend donc l'importance de PD-L1 nucléaire et des stratégies qui peuvent être mises en œuvre

pour diminuer sa translocation vers le noyau dans la lutte de la prolifération cancéreuse.

Ainsi, la protéine PD-L1 nucléaire apparaît comme un régulateur transcriptionnel indirect qui agit à trois niveaux : d'une part en favorisant l'expression de molécules immunosuppressives telles que PD-L2, VISTA et B7-H3 ; d'autre part en s'inscrivant dans des programmes transcriptionnels qui modulent la reconnaissance et la présentation antigénique (7) ; et troisièmement dans la régulation de l'expression des gènes pro-oncogéniques dépendants de l'axe YAP/TAZ de la voie Hippo (53).

## **2. Partenaires moléculaires identifiés :**

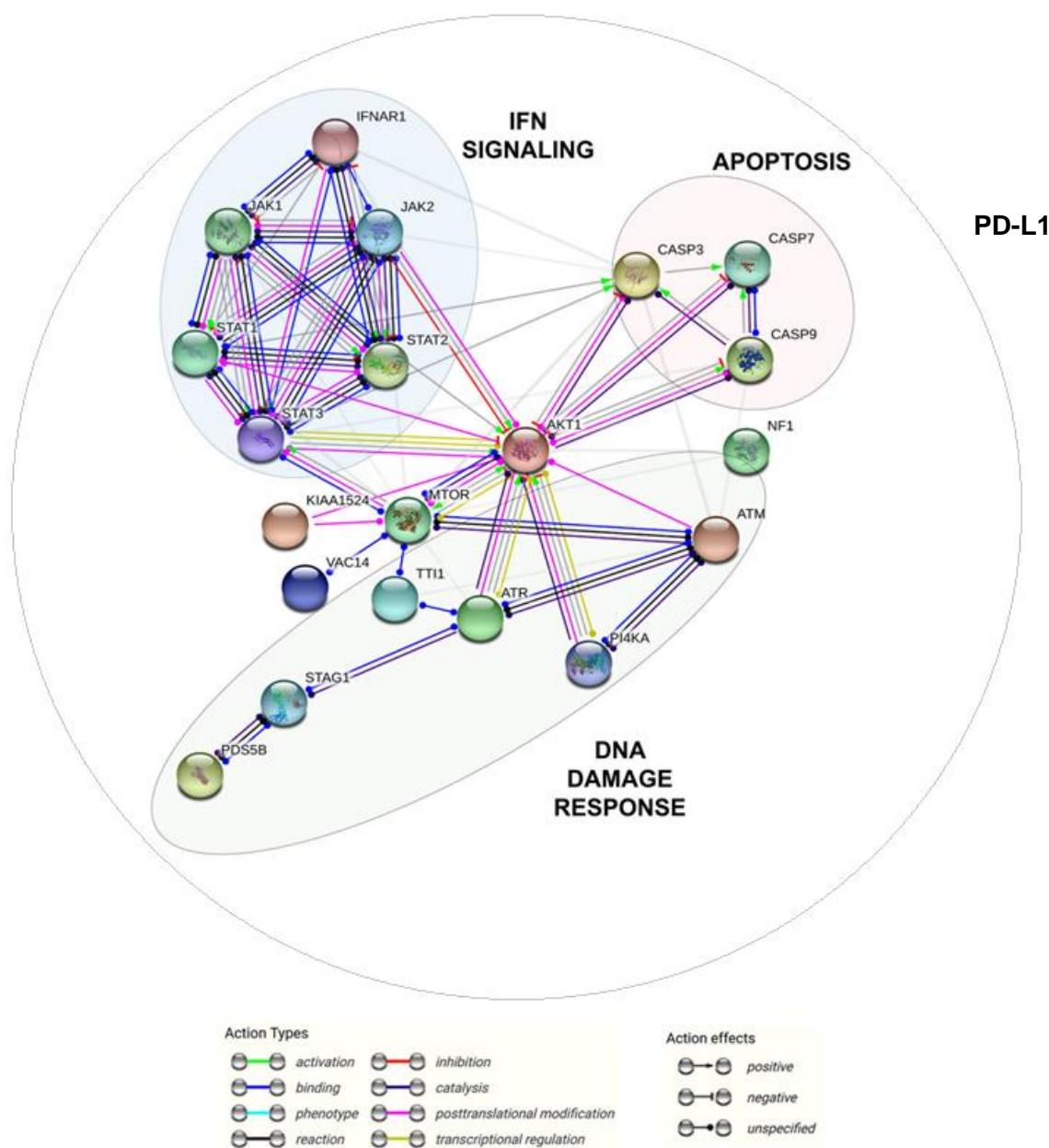
### **2.1 Protéines associées : structure, rôle et implication dans la fonction nucléaire**

Les fonctions nucléaires de PD-L1 ne semblent pas reposer sur une activité directe de la protéine, mais agissent en synergie avec d'autres molécules au niveau de l'ADN. Ce point est important, car PD-L1 ne possède pas de domaine connu de liaison directe à l'ADN. Il est donc plus juste de la considérer comme une protéine capable de s'insérer dans des complexes de signalisation et de régulation, plutôt que comme un facteur de transcription classique (7)(54).

Dans l'article d'Escors et al., cette idée est abordée à travers la notion de signalosome intracellulaire de PD-L1. Les auteurs ne décrivent pas seulement une protéine isolée, mais un ensemble d'associations protéiques construites à partir de données d'interaction, puis organisées par une analyse bioinformatique de réseau. Autrement dit, il s'agit d'un modèle d'interactome qui regroupe autour de PD-L1 plusieurs protéines appartenant à des voies biologiques communes (54). Cette approche est intéressante, car elle permet de visualiser rapidement quels types de fonctions cellulaires peuvent être connectés à PD-L1, même si toutes les interactions ne correspondent pas forcément à des liaisons directes démontrées une par une.

L'analyse proposée par Escors et al. fait ressortir trois ensembles fonctionnels particulièrement intéressants pour comprendre la signalisation intracellulaire de PD-L1 : la signalisation des interférons, la régulation de l'apoptose et la réponse aux dommages de l'ADN (54).

Le premier module, lié aux interférons, est probablement le plus facile à relier à la fonction nucléaire de PD-L1. En effet, la voie JAK-STAT contrôle directement des programmes transcriptionnels impliqués dans l'inflammation, la réponse antivirale et la présentation antigénique. Le fait que PD-L1 soit connectée à STAT1, STAT2 et STAT3 montre qu'elle se situe au croisement de plusieurs réponses cellulaires majeures. Ce point est cohérent avec les données de Gao et al., qui montrent qu'en réduisant la localisation nucléaire de PD-L1 par inhibition de HDAC2, on observe une induction de IFNL2 et IFNL3, une activation de la signalisation JAK-STAT, ainsi qu'une augmentation de gènes liés à la présentation antigénique de classe I (7).



**Figure 15 : Réseau des principaux partenaires moléculaires associés au signalosome intracellulaire de PD-L1 dans les cellules tumorales immunitaires (adapté de [54])**

Ainsi, même si l'article d'Escors ne démontre pas à lui seul une fonction nucléaire directe de PD-L1 via chacune de ces protéines, il soutient l'idée que PD-L1 s'insère dans un environnement moléculaire compatible avec une modulation indirecte de voies transcriptionnelles dépendantes des interférons.

Le deuxième module concerne les caspases, en particulier CASP3, CASP7 et CASP9 (54). Ici, l'intérêt est de montrer que PD-L1 est aussi associée à des voies impliquées dans la mort cellulaire programmée. Cela rejoint plusieurs observations selon lesquelles les signaux intracellulaires liés à PD-L1 participent à la résistance aux stimuli pro-apoptotiques, notamment ceux induits par les interférons (54). Dit autrement, PD-L1 ne sert pas seulement à freiner les lymphocytes T à la membrane : elle peut aussi aider la cellule tumorale à mieux tolérer un environnement hostile. Même si ce point relève davantage de la survie cellulaire que de la transcription au sens strict, il reste pertinent ici, car une cellule qui résiste mieux à l'apoptose est aussi une cellule qui maintient plus facilement ses programmes transcriptionnels pro-tumoraux.

Le troisième module, souvent moins commenté, est celui de la réponse aux dommages de l'ADN. La présence de ATM, ATR et STAG1 dans le réseau proposé par Escors et al. est particulièrement intéressante, car elle élargit le rôle potentiel de PD-L1 au-delà des seules voies immunitaires (54). ATM et ATR sont des kinases centrales de la réponse au stress génotoxique, activées notamment lors de cassures de l'ADN ou de stress répliatif. STAG1, de son côté, intervient dans l'organisation chromatinienne et la cohésion des chromatides. On ne peut pas conclure, à partir de cette seule figure, que PD-L1 joue un rôle direct dans la réparation de l'ADN. En revanche, on peut dire que PD-L1 apparaît associée à un environnement moléculaire compatible avec les mécanismes d'adaptation au stress génomique, ce qui est particulièrement intéressant dans les cellules tumorales exposées à une forte instabilité génétique ou à des traitements cytotoxiques.

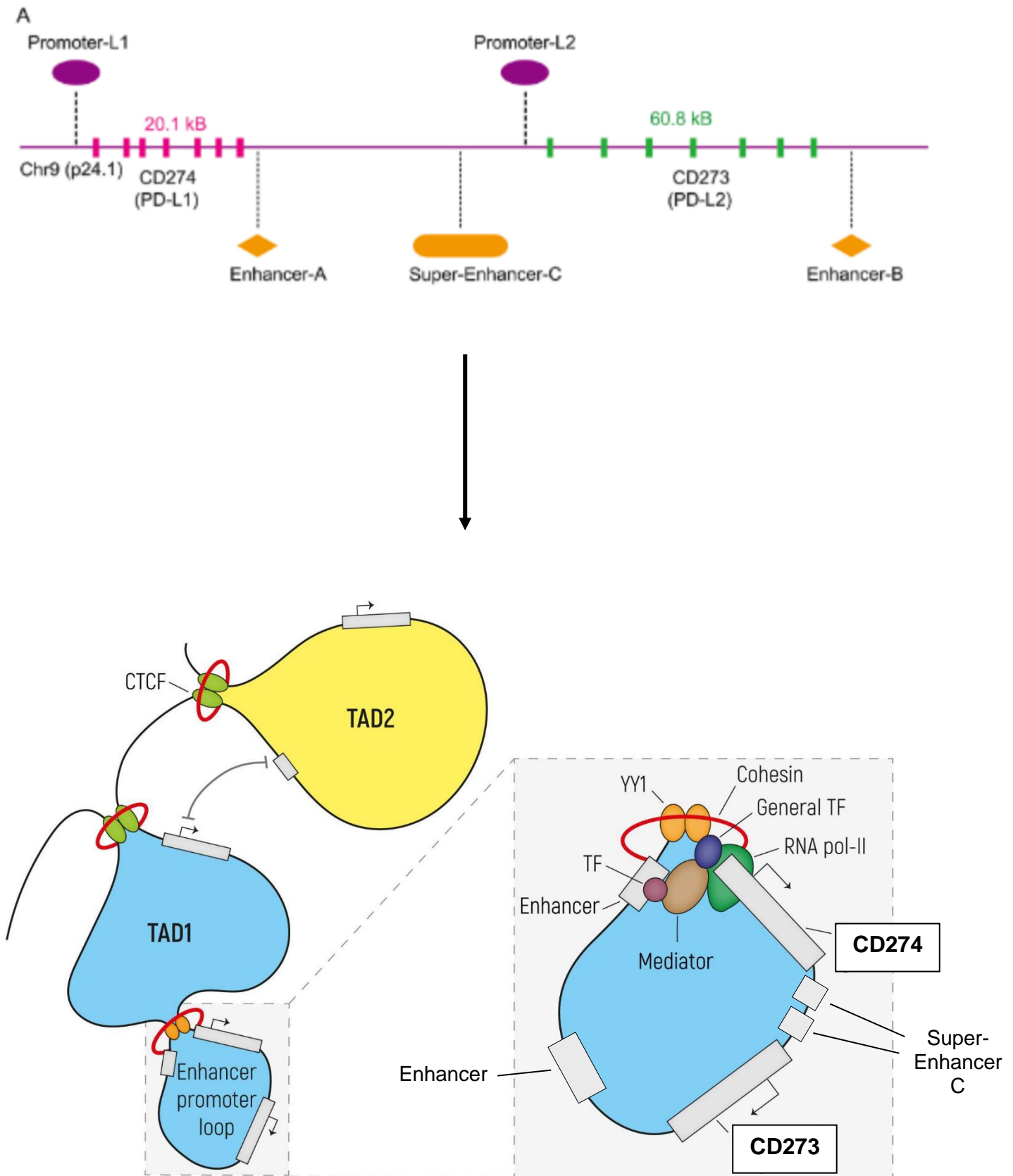
Au centre de ce réseau, la place de AKT1/mTOR mérite d'être soulignée. Si ces protéines apparaissent comme un point de convergence, c'est parce qu'elles relient des signaux de nature différente : inflammation, survie, métabolisme, stress cellulaire. Cette centralité a du sens biologiquement. La voie AKT/mTOR est un axe majeur de la prolifération tumorale et de l'adaptation métabolique. Le fait qu'elle se situe au cœur du signalosome de PD-L1 montre que PD-L1 n'est pas simplement associée à une voie immunitaire isolée, mais qu'elle s'intègre dans un réseau plus

large qui aide la cellule tumorale à coordonner plusieurs réponses en même temps (54). C'est probablement ce point qui donne à PD-L1 un intérêt particulier : sa localisation nucléaire ne doit pas être comprise séparément du reste de sa signalisation intracellulaire, mais comme une extension d'un système plus global d'adaptation tumorale.

Au total, les partenaires moléculaires associés à PD-L1 montrent que cette protéine s'inscrit dans un réseau fonctionnel complexe, à l'interface entre signalisation inflammatoire, le contrôle de l'apoptose et la réponse au stress génomique. Dans le cadre de la fonction nucléaire, ces données renforcent l'idée que PD-L1 agit surtout comme un co-régulateur indirect, dont les effets dépendent de protéines partenaires et de voies déjà actives dans la cellule, plutôt que comme un facteur de transcription autonome (7)(54).

## 2.2 Effets épigénétiques et modulation de la chromatine

Les données disponibles sur les effets épigénétiques de PD-L1 nucléaire restent encore limitées, mais elles montrent un rôle dans la modulation locale de la chromatine plutôt que dans une régulation transcriptionnelle directe et autonome. À ce jour, deux niveaux de régulation sont surtout documentés : d'une part, le contrôle de la localisation nucléaire de PD-L1 par des enzymes impliquées dans les mécanismes acétylation/désacétylation ; d'autre part, l'association de PD-L1 nucléaire à certains promoteurs accompagnés de modifications de l'environnement chromatinien compatible avec l'activation transcriptionnelle. Par ailleurs, des travaux récents montrent que l'expression de PD-L1 et PD-L2 est également influencée par l'organisation tridimensionnelle du génome, notamment via la formation de domaines topologiques (TAD) impliquant les loci CD274 (codant pour PD-L1) et CD273 (codant pour PD-L2), ainsi que par la présence d'enhancers et de super-enhancers (Fig.16) tels que le super-enhancer PD-L1L2-SE (Super-Enhancer-C), qui favorisent une transcription intense et coordonnée des deux gènes (37)(55). Ainsi, ces mécanismes montrent l'importance de l'architecture 3D de la chromatine dans la régulation coordonnée de gènes impliqués dans l'échappement immunitaire tumoral.



**Figure 16 : Organisation tridimensionnelle de la chromatine et régulation coordonnée des loci CD274 (PD-L1) et CD273 (PD-L2) via des domaines TAD, des enhancers et des super-enhancers (adapté de [37] et [55])**

Le premier élément repose sur l'étude de Gao et al., qui montre que la translocation nucléaire de PD-L1 dépend de son état d'acétylation. Dans ce modèle, l'histone désacétylase HDAC2 favorise l'entrée nucléaire de PD-L1, tandis que l'acétyltransférase p300 s'oppose à ce processus en maintenant un état d'acétylation plus élevé (7). Ce point est important pour cette sous-partie, non pas seulement parce qu'il explique un mécanisme de trafic intracellulaire, mais parce qu'il relie directement la présence nucléaire de PD-L1 à des enzymes classiquement impliquées dans la régulation épigénétique. Autrement dit, l'accès de PD-L1 au compartiment nucléaire dépend lui-même d'un équilibre enzymatique appartenant à la régulation spatiale de la chromatine.

Le second élément, plus directement liée à la chromatine, a été montré dans des cellules de cancer de l'ovaire stimulées par l'IFN- $\gamma$ . Comme vu précédemment, les expériences de ChIP (« Chromatin Immunoprecipitation ») ont mis en évidence un enrichissement de PD-L1 au niveau des régions promotrices de l'IL-8, BCL3 et STAT1, à proximité du site d'initiation de la transcription ainsi qu'en amont des promoteurs. Surtout, cette occupation des promoteurs s'accompagne d'une augmentation de l'acétylation de l'histone H3 (Lys9/Lys14) et d'un recrutement accru de l'ARN polymérase II, qui sont deux marqueurs compatibles avec un état de chromatine transcriptionnellement actif (50). Ces résultats montrent ainsi que PD-L1 nucléaire n'est pas seulement présente dans le noyau, mais qu'elle est aussi associée à un remodelage local de l'environnement transcriptionnel. Ces observations sont cohérentes avec un mécanisme dans lequel PD-L1 est recrutée dans des régions chromatiniennes déjà ouvertes et actives, potentiellement sous l'influence d'interactions enhanceur/promoteur (37).

De plus, les auteurs soulignent que les promoteurs étudiés sont riches en sites de liaison pour d'autres facteurs de transcription, notamment NF- $\kappa$ B, IRF1, STAT1 et STAT3, ce qui montre que PD-L1 agit plutôt comme un co-régulateur recruté au sein d'un complexe transcriptionnel déjà actif (50). Son effet sur la chromatine paraît donc indirect, via son association à des promoteurs où l'on observe une augmentation de l'acétylation de l'histone H3 et du recrutement de l'ARN polymérase II (50).

Ainsi, les données actuellement ne permettent pas d'attribuer à PD-L1 un rôle épigénétique au sens strict, mais elles soutiennent l'idée d'une modulation locale de la chromatine sur certains gènes cibles impliqués dans l'inflammation et l'adaptation

tumorale. Ces mécanismes s'intègrent dans une régulation globale impliquant l'architecture chromatinienne, les domaines TAD et les super-enhancers, qui participent à l'expression coordonnée de PD-L1 et de PD-L2 dans les cellules tumorales et à la régulation d'autres gènes impliqués dans les processus oncogéniques et l'adaptation tumorale (37).

## **V. Perspectives thérapeutiques et recherche future**

À ce jour, la grande majorité des données disponibles concernant la localisation et les fonctions nucléaires des points de contrôle immunitaire concerne PD-L1, qui constitue le modèle le mieux documenté. Cette prédominance reflète à la fois l'importance biologique et thérapeutique de cette molécule, mais souligne également un déséquilibre dans la littérature, les données concernant d'autres checkpoints tels que PD-1, CTLA-4, LAG-3 ou TIM-3 restant encore limitées. Cette situation constitue à la fois une limite et une opportunité de recherche, en suggérant que d'autres points de contrôle immunitaire pourraient également présenter des fonctions intracellulaires et/ou nucléaires encore inexplorées.

### **1. Implication clinique des découvertes :**

#### **1.1 Ciblage des points de contrôle au niveau nucléaire pour moduler la réponse immunitaire**

Les travaux récents montrent que la localisation nucléaire de PD-L1 ne correspond pas à une simple redistribution intracellulaire, mais qu'elle peut modifier la réponse tumorale à l'immunothérapie. L'étude de Gao et al. montre que cette translocation dépend de l'état d'acétylation de PD-L1 et qu'elle influence l'efficacité du blocage de PD-1 (7). L'inhibition de HDAC2 réduit l'accumulation nucléaire de PD-L1, diminue l'expression de checkpoints alternatifs comme PD-L2, VISTA et B7-H3, et favorise en parallèle des programmes liés à la signalisation des interférons et à la présentation antigénique de classe I (7).

L'étude de Satapathy et al. montre, quant à elle, que la translocation de PD-L1 vers le noyau dépend également de l'axe PGE2–EP4–YAP–importine  $\alpha$ 3, impliqué dans la voie Hippo, et que le ciblage du récepteur EP4, de la COX-2 et/ou de la

protéine YAP par des inhibiteurs peut ralentir la transcription de gènes pro-oncogéniques (CCND1, BCL-2, BIRC5, CYR61, etc.)(53).

Ces résultats montrent que le ciblage de PD-L1 à la membrane ne neutralise pas forcément ses fonctions nucléaires. Empêcher sa translocation vers le noyau pourrait donc représenter une stratégie complémentaire aux anticorps déjà utilisés. Cette hypothèse est soutenue par des expériences in vivo montrant qu'un inhibiteur de HDAC2 associé à un anti-PD-1 ralentit davantage la croissance tumorale que l'anti-PD-1 seul, avec augmentation de l'infiltration en lymphocytes T CD8+ cytotoxiques et amélioration de la survie dans des modèles murins immunocompétents (7).

Même si ces données restent précliniques, elles montrent que certaines résistances aux inhibiteurs classiques pourraient dépendre non seulement de mécanismes membranaires, mais aussi de fonctions intracellulaires et nucléaires de PD-L1 encore non ciblées (7)(50)(54)(53).

## 1.2 Implications pharmacologiques et nouvelles stratégies de ciblage

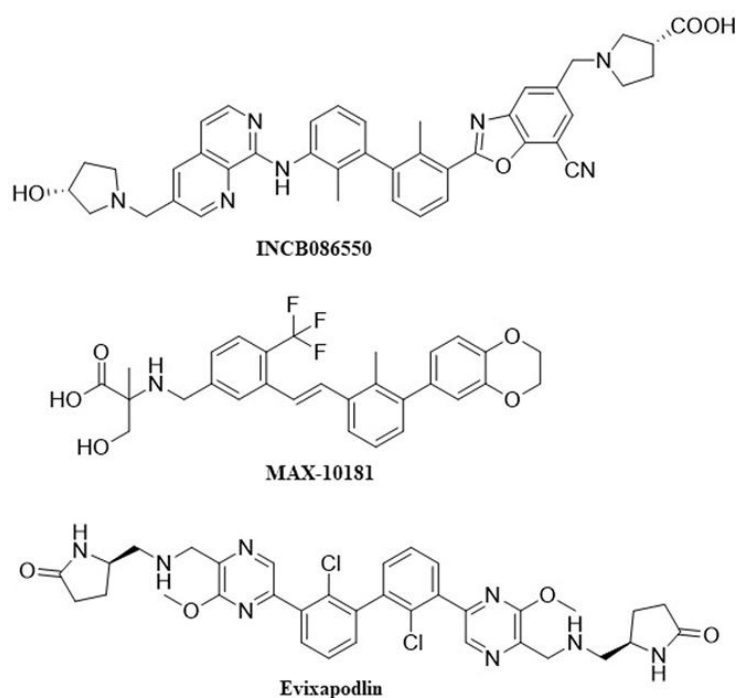
La localisation nucléaire de PD-L1 ouvre des perspectives pharmacologiques nouvelles, distinctes des approches classiques reposant sur les anticorps monoclonaux ciblant PD-L1 à la surface cellulaire. En effet, en raison de leur structure macromoléculaire, les anticorps monoclonaux ne permettent pas d'atteindre les compartiments intracellulaires et nucléaires. À l'inverse, les petites molécules présentent plusieurs avantages, notamment une meilleure pénétration cellulaire avec la capacité de cibler des interactions protéiques et des enzymes intracellulaires, une meilleure diffusion au sein des tissus tumoraux, la capacité de traverser certaines barrières biologiques comme la barrière hémato-encéphalique (BHE), un coût de production généralement plus faible, une administration par voie orale, une pharmacocinétique plus modulable, ainsi que des conditions de conservation moins contraignantes, ne nécessitant pas de chaîne du froid. Elles permettent ainsi de cibler directement les fonctions intracellulaires de PD-L1, ouvrant la voie à de nouvelles stratégies thérapeutiques.

D'un point de vue pharmacologique, plusieurs stratégies peuvent être envisagées, notamment l'inhibition des voies impliquées dans le transport nucléaire via les importines, le ciblage de régulateurs épigénétiques tels que les HDAC ou

p300, ou encore l'inhibition de cofacteurs transcriptionnels comme YAP. Des exemples de petites molécules illustrent ces approches, tels que les inhibiteurs de HDAC (par exemple la vorinostat ou la romidepsine), les antagonistes du récepteur EP4 (l'E7046 ou le L001), les inhibiteurs de COX-2 tels que le célécoxib, ou encore les inhibiteurs de YAP (la vertéporfine ou le CA3). Ainsi, le blocage notamment de l'axe PGE2–EP4–YAP–importine  $\alpha$ 3 par ces inhibiteurs permet d'empêcher la translocation nucléaire de PD-L1 et entraîne une diminution de l'expression de gènes pro-oncogéniques dépendants de YAP et TEAD (53)(56)(57)(58)(59). Ces approches pourraient ainsi limiter certains mécanismes de résistance aux immunothérapies actuelles en ciblant des fonctions intracellulaires de PD-L1. De plus, le développement de thérapies combinées multicibles apparaît particulièrement pertinent ici afin de limiter les mécanismes de résistance et d'échappement tumoral liés à PD-L1 en potentialisant la réponse antitumorale.

Ainsi, le développement de petites molécules capables de moduler le trafic intracellulaire de PD-L1, sa translocation nucléaire ou ses interactions avec des partenaires nucléaires représente une stratégie innovante et prometteuse.

Une autre approche considérée depuis quelques années consiste à cibler directement PD-L1 (et éventuellement PD-1) avec des petites molécules, en général synthétiques, capables de pénétrer à l'intérieur des cellules et d'atteindre le compartiment nucléaire. Les premières séries de petites molécules inhibitrices de PD-L1, notamment celles développées par Bristol Myers Squibb (telles que BMS-202), ont joué un rôle déterminant dans la validation du concept de ciblage de l'interaction PD-1/PD-L1 par des composés de faible poids moléculaire. Ces molécules ont permis de démontrer, pour la première fois, qu'une inhibition directe de cette interaction protéine–protéine était possible, notamment via un mécanisme original de dimérisation de PD-L1, bloquant ainsi son interaction avec PD-1 (60). Cependant, ces premières séries présentent certaines limites, notamment en termes de propriétés pharmacocinétiques, de solubilité et de sélectivité, qui ont freiné leur développement clinique. De plus, la majorité des données disponibles repose sur des modèles précliniques, et la transposition de ces résultats chez l'Homme reste encore à démontrer. L'ensemble de ces limites a conduit au développement d'autres composés plus récents, tels que Evixapodlin, MAX-10181 ou encore INCB086550 (Fig. 17).



**Figure 17 : Structures chimiques des inhibiteurs de petites molécules de PD-L1 (61)**

Les essais réalisés par Slota et al. sur ces composés confirment les données de la littérature : ils présentent une forte puissance, avec des concentrations d'activité de l'ordre du nanomolaire, aussi bien pour l'inhibition de l'interaction PD-1/PD-L1, reflétée par l'IC<sub>50</sub>, que pour la restauration de l'activation des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup>, reflétée par l'EC<sub>50</sub>. On retrouve notamment des résultats remarquables observés pour INCB086550 (61). Ces valeurs témoignent du fort potentiel de ces molécules par rapport aux anticorps monoclonaux et les positionnent comme de possibles alternatives.

Au niveau préclinique, différentes séries chimiques ont été proposées avec des résultats encourageants, notamment sur des modèles tumoraux cellulaires et animaux, incluant les composés développés par Bristol Myers Squibb, tels que BMS-202 (62), ainsi que des inhibiteurs plus récents tels que Evixapodlin et INCB086550 (63)(64). Toutefois, le niveau de documentation reste variable selon les composés, avec des données encore limitées pour MAX-10181.

Des essais cliniques sont en cours pour certaines de ces molécules. Par exemple, INCB086550 fait actuellement l'objet d'études de phase I et II visant à évaluer sa sécurité, sa tolérance et sa pharmacocinétique (NCT05101369 et NCT04674748), ainsi que son efficacité et son innocuité chez des patients atteints de tumeurs solides, notamment dans le cancer du poumon non à petites cellules, le

cancer urothélial, le carcinome à cellules rénales, le carcinome hépatocellulaire et le mélanome (NCT04674748). Concernant MAX-10181, des essais de phase I sont en cours en Australie et en Chine (NCT04122339 et NCT05196360). De même, l'essai clinique de phase I (NCT04049617) de l'Evixapodlin a également montré une bonne tolérance et un profil de sécurité acceptable chez des patients atteints de tumeurs solides avancées.

Les preuves d'efficacité clinique de ces molécules restent encore limitées à ce jour. Néanmoins, cette approche apparaît prometteuse, notamment en raison de sa capacité potentielle à cibler différentes formes de PD-L1 (membranaires, intracellulaires et circulantes). Par ailleurs, ces petites molécules pourraient permettre une meilleure pénétration dans le système nerveux central et ainsi contribuer à la prise en charge des métastases cérébrales. Cependant, plusieurs défis persistent, en particulier en termes de validation clinique, de spécificité d'action et de tolérance à long terme.

### 1.3 Stratégies pour contourner les résistances aux inhibiteurs classiques

Pour contourner certaines résistances, une piste complémentaire serait de ne pas cibler seulement PD-L1 à la membrane, mais aussi les mécanismes qui permettent son trafic intracellulaire et son accès au noyau. Dans le modèle proposé par Gao et al., plusieurs protéines pourraient ainsi représenter des cibles potentielles, notamment HIP1R dans l'endocytose, la vimentine dans le transport cytoplasmique, ainsi que les importines et exportines qui contrôlent ses échanges avec le noyau (7).

L'intérêt de cette approche serait d'agir plus en amont, en limitant la redistribution intracellulaire de PD-L1, plutôt qu'en bloquant uniquement sa fonction membranaire. À ce stade, il s'agit encore d'une hypothèse préclinique, mais elle montre que certaines résistances aux inhibiteurs classiques pourraient aussi dépendre du trafic intracellulaire, et pas seulement de son expression à la surface cellulaire.

## **2. Défis et opportunités de la recherche :**

### 2.1 Difficultés méthodologiques pour étudier les points de contrôle nucléaires

L'étude des points de contrôle immunitaire au niveau nucléaire reste difficile. La mise en évidence d'une protéine membranaire dans le noyau exige d'écarter les artefacts techniques, notamment les chevauchements optiques en microscopie et la contamination des fractions cellulaires. Cela impose de croiser plusieurs méthodes, comme l'immunofluorescence, le fractionnement cellulaire, le Western blot et parfois la CHIP (7)(50).

L'interprétation fonctionnelle est également délicate. Pour PD-L1, l'absence de domaine connu de liaison directe à l'ADN suggère plutôt un rôle indirect, au sein de complexes de régulation transcriptionnelle, qu'un rôle de facteur de transcription classique (50)(54).

Enfin, les résultats varient selon le type tumoral, le contexte inflammatoire, la stimulation par l'IFN- $\gamma$  et le modèle expérimental, ce qui limite leur généralisation à l'ensemble des cancers humains.

## 2.2 Une thérapie émergente à explorer

Il est encore trop tôt pour parler d'une véritable thérapie nucléaire des points de contrôle immunitaire. En revanche, les données disponibles montrent que la fonction nucléaire de PD-L1 pourrait influencer l'expression d'autres checkpoints, les voies IFN/STAT1, la présentation antigénique et certaines résistances aux anti-PD-1/anti-PD-L1, ce qui justifie d'explorer ce champ plus en profondeur (7)(50).

L'intérêt principal n'est pas de remplacer les immunothérapies actuelles, mais de mieux comprendre leurs limites et d'en améliorer l'efficacité. Dans cette perspective, les stratégies combinées paraissent les plus plausibles, par exemple en ciblant les mécanismes de translocation nucléaire et/ou certains partenaires régulateurs de PD-L1, en association avec les traitements anti-PD-1/anti-PD-L1.

Plus largement, ce champ ouvre une nouvelle voie de recherche intéressante : il montre que les points de contrôle immunitaire, et PD-L1 en particulier, ne doivent plus être vus uniquement comme des protéines de surface, mais comme des molécules à fonctions multiples, impliquées aussi dans l'adaptation intracellulaire et la régulation nucléaire.

## Conclusion

Au départ, les points de contrôle immunitaire ont surtout été étudiés comme des protéines de membrane, ce qui est logique puisque c'est sur cette base qu'ont été développées les principales immunothérapies. Mais les données analysées dans ce travail montrent que cette vision est probablement incomplète. Dans certains contextes tumoraux, et surtout pour PD-L1, ces molécules ne se limitent pas à la membrane plasmique. Leur présence dans d'autres compartiments, notamment dans le noyau, laisse penser qu'elles peuvent participer à des mécanismes intracellulaires plus larges que la simple interaction PD-1/PD-L1 à la membrane.

Les résultats disponibles restent encore partiels, mais ils vont globalement dans le même sens. Pour PD-L1, plusieurs travaux montrent un rôle dans la régulation indirecte de l'expression génique, avec des effets possibles sur d'autres checkpoints immunitaires, sur certaines voies inflammatoires comme IFN/STAT1, et sur la présentation antigénique. Cela peut contribuer à expliquer pourquoi certaines tumeurs répondent mal, ou finissent par échapper, aux inhibiteurs classiques de PD-1/PD-L1.

Cependant, il faut quand même rester prudent. Cette thématique reste récente, les preuves sont inégales selon les modèles, et l'étude d'une localisation nucléaire demande une vraie rigueur méthodologique pour éviter les artefacts. On n'en est donc pas à une application clinique directe. En revanche, cette approche a un réel intérêt, parce qu'elle permet de mieux comprendre certaines limites actuelles de l'immunothérapie. Au fond, ce travail montre surtout une chose : pour comprendre pleinement le rôle des points de contrôle immunitaire en cancérologie, il ne faut sans doute plus les regarder seulement à la membrane, mais aussi dans leur dynamique intracellulaire et nucléaire.

Dans cette perspective, le développement de petites molécules capables de cibler les fonctions intracellulaires et nucléaires de PD-L1 représente une piste thérapeutique prometteuse. Contrairement aux anticorps monoclonaux, ces approches peuvent permettre d'interférer directement avec les mécanismes de translocation nucléaire et les interactions intracellulaires de PD-L1, et ainsi contribuer à dépasser certaines limites des immunothérapies actuelles.

# Bibliographie

## Sitographie

(1) World Health Organization. (2022). Cancer. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cancer> - consulté le 22 novembre 2025.

(3) Fondation ARC pour la recherche sur le cancer. (2024). Le cancer en chiffres : France et monde. <https://www.fondation-arc.org/cancer/le-cancer-en-chiffres-france-et-monde> - consulté le 22 novembre 2025.

(4) Global Cancer Observatory. (2024). Cancer today. [https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=population&group\\_populations=0](https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=population&group_populations=0) - consulté le 22 novembre 2025.

(6) American Cancer Society. (2019). What is immunotherapy ? <https://www.cancer.org/cancer/managing-cancer/treatment-types/immunotherapy/what-is-immunotherapy.html> - consulté le 22 novembre 2025.

(20) Planet Vie. (2021). Immunothérapie et cancers. <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/sante/pharmacologie/immunotherapie-et-cancers> - consulté le 12 décembre 2025.

## Publications

(2) Feng Y, Spezia M, Huang S, Yuan C, Zeng Z, Zhang L, et al. Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. *Genes & Diseases*. 1 juin 2018;5(2):77-106. doi:10.1016/j.gendis.2018.05.001.

(5) Zugazagoitia J, Guedes C, Ponce S, Ferrer I, Molina-Pinelo S, Paz-Ares L. Current Challenges in Cancer Treatment. *Clin Ther*. juill 2016;38(7):1551-66. doi:10.1016/j.clinthera.2016.03.026.

(7) Gao Y, Nihira NT, Bu X, Chu C, Zhang J, Kolodziejczyk A, et al. Acetylation-dependent regulation of PD-L1 nuclear translocation dictates the efficacy of anti-PD-1 immunotherapy. *Nat Cell Biol.* sept 2020;22(9):1064-75. doi:10.1038/s41556-020-0562-4.

(8) Qin S, Xu L, Yi M, Yu S, Wu K, Luo S. Novel immune checkpoint targets: moving beyond PD-1 and CTLA-4. *Mol Cancer.* 6 nov 2019;18(1):155. doi:10.1186/s12943-019-1091-2.

(9) Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer.* 22 mars 2012;12(4):252-64. doi:10.1038/nrc3239.

(10) Chen L, Flies DB. Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. *Nat Rev Immunol.* avr 2013;13(4):227-42. doi:10.1038/nri3405.

(11) Croft M. The role of TNF superfamily members in T-cell function and diseases. *Nat Rev Immunol.* avr 2009;9(4):271-85. doi:10.1038/nri2526.

(12) Okazaki T, Honjo T. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application. *Int Immunol.* juill 2007;19(7):813-24. doi:10.1093/intimm/dxm057.

(13) Fife BT, Pauken KE. The role of the PD-1 pathway in autoimmunity and peripheral tolerance. *Ann N Y Acad Sci.* janv 2011;1217:45-59. doi:10.1111/j.1749-6632.2010.05919.x.

(14) Wherry EJ. T cell exhaustion. *Nat Immunol.* juin 2011;12(6):492-9. doi:10.1038/ni.2035.

(15) Thommen DS, Schumacher TN. T Cell Dysfunction in Cancer. *Cancer Cell.* 9 avr 2018;33(4):547-62. doi:10.1016/j.ccell.2018.03.012.

(16) Janeway CA, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol.* 2002;20:197-216. doi:10.1146/annurev.immunol.20.083001.084359.

(17) Rock KL, Reits E, Neefjes J. Present Yourself! By MHC Class I and MHC Class II Molecules. *Trends Immunol.* nov 2016;37(11):724-37. doi:10.1016/j.it.2016.08.010.

(18) Sharpe AH, Freeman GJ. The B7-CD28 superfamily. *Nat Rev Immunol.* févr 2002;2(2):116-26. doi:10.1038/nri727.

(19) Vesely MD, Schreiber RD. Cancer Immunoediting: antigens, mechanisms and implications to cancer immunotherapy. *Ann N Y Acad Sci.* mai 2013;1284(1):1-5. doi:10.1111/nyas.12105.

(21) Vuagnat P, Champiat S. Immunothérapies anti-checkpoints : aspects fondamentaux. *MCED n°95 – Décembre 2018:* 5-10.

(22) Postow MA, Sidlow R, Hellmann MD. Immune-Related Adverse Events Associated with Immune Checkpoint Blockade. *N Engl J Med.* 11 janv 2018;378(2):158-68. doi:10.1056/NEJMra1703481.

(23) Alard E, Butnariu AB, Grillo M, Kirkham C, Zinovkin DA, Newnham L, et al. Advances in Anti-Cancer Immunotherapy: Car-T Cell, Checkpoint Inhibitors, Dendritic Cell Vaccines, and Oncolytic Viruses, and Emerging Cellular and Molecular Targets. *Cancers (Basel).* 7 juill 2020;12(7):1826. doi:10.3390/cancers12071826.

(24) Vaddepally RK, Kharel P, Pandey R, Garje R, Chandra AB. Review of Indications of FDA-Approved Immune Checkpoint Inhibitors per NCCN Guidelines with the Level of Evidence. *Cancers (Basel).* 20 mars 2020;12(3):738. doi:10.3390/cancers12030738.

(25) Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med.* 19 août 2010;363(8):711-23. doi:10.1056/NEJMoa1003466.

(26) Wolchok JD, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Rutkowski P, Grob JJ, Cowey CL, et al. Overall Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med.* 5 oct 2017;377(14):1345-56. doi:10.1056/NEJMoa1709684.

(27) Ren K, Hamdy H, Meyiah A, Elkord E. Lymphocyte-activation gene 3 in cancer immunotherapy: function, prognostic biomarker and therapeutic potentials. *Front Immunol.* 2024;15:1501613. doi:10.3389/fimmu.2024.1501613.

(28) Tawbi HA, Schadendorf D, Lipson EJ, Ascierto PA, Matamala L, Castillo Gutiérrez E, et al. Relatlimab and Nivolumab versus Nivolumab in Untreated Advanced Melanoma. *N Engl J Med.* 6 janv 2022;386(1):24-34. doi:10.1056/NEJMoa2109970.

(29) Wolf Y, Anderson AC, Kuchroo VK. TIM3 comes of age as an inhibitory receptor. *Nat Rev Immunol.* mars 2020;20(3):173-85. doi:10.1038/s41577-019-0224-6.

(30) Acharya N, Sabatos-Peyton C, Anderson AC. Tim-3 finds its place in the cancer immunotherapy landscape. *J Immunother Cancer.* juin 2020;8(1):e000911. doi:10.1136/jitc-2020-000911.

(31) Regulation of surface and intracellular expression of CTLA4 on mouse T cells - PubMed [Internet]. [cité 21 janvier 2026]. Disponible sur : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8943377/>.

(32) Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, Zhu B, Allison JP, Sharpe AH, et al. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature.* 9 févr 2006;439(7077):682-7. doi:10.1038/nature04444.

(33) Pauken KE, Wherry EJ. Overcoming T cell exhaustion in infection and cancer. *Trends Immunol.* avr 2015;36(4):265-76. doi:10.1016/j.it.2015.02.008.

(34) Wei SC, Duffy CR, Allison JP. Fundamental Mechanisms of Immune Checkpoint Blockade Therapy. *Cancer Discov.* sept 2018;8(9):1069-86. doi:10.1158/2159-8290.CD-18-0367.

(35) Dustin ML. The immunological synapse. *Cancer Immunol Res.* nov 2014;2(11):1023-33. doi:10.1158/2326-6066.CIR-14-0161.

(36) Dustin ML, Cooper JA. The immunological synapse and the actin cytoskeleton: molecular hardware for T cell signaling. *Nat Immunol.* juill 2000;1(1):23-9. doi:10.1038/76877.

(37) Fan Z, Wu C, Chen M, Jiang Y, Wu Y, Mao R, et al. The generation of PD-L1 and PD-L2 in cancer cells: From nuclear chromatin reorganization to extracellular presentation. *Acta Pharm Sin B.* mars 2022;12(3):1041-53. doi:10.1016/j.apsb.2021.09.010.

(38) Colombo M, Raposo G, Théry C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2014;30:255-89. doi:10.1146/annurev-cellbio-101512-122326.

(39) Chen G, Huang AC, Zhang W, Zhang G, Wu M, Xu W, et al. Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response. *Nature.* août 2018;560(7718):382-6. doi:10.1038/s41586-018-0392-8.

(40) Whiteside TL. Exosomes and tumor-mediated immune suppression. *J Clin Invest.* 1 avr 2016;126(4):1216-23. doi:10.1172/JCI81136.

(41) Burr ML, Sparbier CE, Chan YC, Williamson JC, Woods K, Beavis PA, et al. CMTM6 maintains the expression of PD-L1 and regulates anti-tumour immunity. *Nature.* 7 sept 2017;549(7670):101-5. doi:10.1038/nature23643.

(42) Bolte S, Cordelières FP. A guided tour into subcellular colocalization analysis in light microscopy. *J Microsc.* déc 2006;224(Pt 3):213-32. doi:10.1111/j.1365-2818.2006.01706.x.

(43) Slot JW, Geuze HJ. Cryosectioning and immunolabeling. *Nat Protoc.* 2007;2(10):2480-91. doi:10.1038/nprot.2007.365.

(44) Liao PC, Bergamini C, Fato R, Pon LA, Pallotti F. Isolation of mitochondria from cells and tissues. *Methods Cell Biol.* 2020;155:3-31. doi:10.1016/bs.mcb.2019.10.002.

(45) Yu J, Zhuang A, Gu X, Hua Y, Yang L, Ge S, et al. Nuclear PD-L1 promotes EGR1-mediated angiogenesis and accelerates tumorigenesis. *Cell Discov.* 28 mars 2023;9(1):33. doi:10.1038/s41421-023-00521-7.

(46) Zheng H, Ning Y, Zhan Y, Liu S, Wen Q, Fan S. New insights into the important roles of tumor cell-intrinsic PD-1. *Int J Biol Sci.* 16 juin 2021;17(10):2537-47. doi:10.7150/ijbs.60114.

(47) Linsley PS, Bradshaw J, Greene J, Peach R, Bennett KL, Mittler RS. Intracellular trafficking of CTLA-4 and focal localization towards sites of TCR engagement. *Immunity.* juin 1996;4(6):535-43. doi:10.1016/s1074-7613(00)80480-x.

(48) Lim SO, Li CW, Xia W, Cha JH, Chan LC, Wu Y, et al. Deubiquitination and Stabilization of PD-L1 by CSN5. *Cancer Cell.* 12 déc 2016;30(6):925-39. doi:10.1016/j.ccell.2016.10.010.

(49) Taube JM, Anders RA, Young GD, Xu H, Sharma R, McMiller TL, et al. Colocalization of inflammatory response with B7-h1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape. *Sci Transl Med.* 28 mars 2012;4(127):127ra37. doi:10.1126/scitranslmed.3003689.

(50) Reddy SU, Sham R, Smith K, Gaire B, Vancura A, Vancurova I. Immune checkpoint protein PD-L1 promotes transcription of angiogenic and oncogenic proteins IL-8, Bcl3, and STAT1 in ovarian cancer cells. *J Biol Chem.* avr 2025;301(4):108339. doi:10.1016/j.jbc.2025.108339.

(51) Seliger B, Cabrera T, Garrido F, Ferrone S. HLA class I antigen abnormalities and immune escape by malignant cells. *Semin Cancer Biol.* févr 2002;12(1):3-13. doi:10.1006/scbi.2001.0404.

(52) Noorbakhsh N, Hayatmoghadam B, Jamali M, Golmohammadi M, Kavianpour M. The Hippo signaling pathway in leukemia: function, interaction, and carcinogenesis. *Cancer Cell Int.* 25 déc 2021;21(1):705. doi:10.1186/s12935-021-02408-7.

(53) Satapathy SR, Sjölander A. Nuclear PD-L1 regulates YAP-driven transcription via the PGE2-EP4-YAP-importin  $\alpha$ 3 axis in solid tumors. *Cell Rep.* 24 févr 2026;45(2):116963. doi:10.1016/j.celrep.2026.116963.

(54) Escors D, Gato-Cañas M, Zuazo M, Arasanz H, García-Granda MJ, Vera R, et al. The intracellular signalosome of PD-L1 in cancer cells. *Signal Transduct Target Ther.* 2018;3:26. doi:10.1038/s41392-018-0022-9.

(55) Perenthaler E, Yousefi S, Niggel E, Barakat TS. Beyond the Exome: The Non-coding Genome and Enhancers in Neurodevelopmental Disorders and Malformations of Cortical Development. *Front Cell Neurosci.* 2019;13:352. doi:10.3389/fncel.2019.00352.

(56) Hong DS, Parikh A, Shapiro GI, Varga A, Naing A, Meric-Bernstam F, et al. First-in-human phase I study of immunomodulatory E7046, an antagonist of PGE2-receptor E-type 4 (EP4), in patients with advanced cancers. *J Immunother Cancer.* juin 2020;8(1):e000222. doi:10.1136/jitc-2019-000222.

(57) He J, Lin X, Meng F, Zhao Y, Wang W, Zhang Y, et al. A Novel Small Molecular Prostaglandin Receptor EP4 Antagonist, L001, Suppresses Pancreatic Cancer Metastasis. *Molecules*. 11 févr 2022;27(4):1209. doi:10.3390/molecules27041209.

(58) Wei C, Li X. The Role of Photoactivated and Non-Photoactivated Verteporfin on Tumor. *Front Pharmacol*. 2020;11:557429. doi:10.3389/fphar.2020.557429.

(59) Han S, Lim JY, Cho K, Lee HW, Park JY, Ro SW, et al. Anti-Cancer Effects of YAP Inhibitor (CA3) in Combination with Sorafenib against Hepatocellular Carcinoma (HCC) in Patient-Derived Multicellular Tumor Spheroid Models (MCTS). *Cancers (Basel)*. 31 mai 2022;14(11):2733. doi:10.3390/cancers14112733.

(60) Guzik K, Zak KM, Grudnik P, Magiera K, Musielak B, Törner R, et al. Small-Molecule Inhibitors of the Programmed Cell Death-1/Programmed Death-Ligand 1 (PD-1/PD-L1) Interaction via Transiently Induced Protein States and Dimerization of PD-L1. *J Med Chem*. 13 juill 2017;60(13):5857-67. doi:10.1021/acs.jmedchem.7b00293.

(61) Slota A, Golebiowska-Mendroch K, Kocik-Krol J, Musielak B, Stec M, Weglarczyk K, et al. Characterization of Clinically Evaluated Small-Molecule Inhibitors of PD-L1 for Immunotherapy. *ACS Med Chem Lett*. 10 juill 2025;16(7):1359-64. doi:10.1021/acsmchemlett.5c00245.

(62) Xu Y, Du H, Guo W, Liu B, Yan W, Zhang C, et al. Discovery of Highly Potent Small-Molecule PD-1/PD-L1 Inhibitors with a Novel Scaffold for Cancer Immunotherapy. *J Med Chem*. 14 mars 2024;67(5):4083-99. doi:10.1021/acs.jmedchem.3c02362.

(63) Odegard JM, Othman AA, Lin KW, Wang AY, Nazareno J, Yoon OK, et al. Oral PD-L1 inhibitor GS-4224 selectively engages PD-L1 high cells and elicits

pharmacodynamic responses in patients with advanced solid tumors. *J Immunother Cancer*. 11 avr 2024;12(4):e008547. doi:10.1136/jitc-2023-008547.

(64) Koblish HK, Wu L, Wang LCS, Liu PCC, Wynn R, Rios-Doria J, et al. Characterization of INCB086550: A Potent and Novel Small-Molecule PD-L1 Inhibitor. *Cancer Discov*. 2 juin 2022;12(6):1482-99. doi:10.1158/2159-8290.CD-21-1156.

Université de Lille  
UFR3S-Pharmacie  
**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
Année Universitaire 2025/2026

**Nom : RICHET**  
**Prénom : Salim**

**Titre de la thèse :** Localisation et fonction nucléaire des points de contrôle immunologiques en cancérologie.

**Mots-clés :** Points de contrôle immunologiques, échappement immunitaire, immunothérapie, résistances, membrane plasmique, exosomes, endosomes, trafic intracellulaire, localisation subcellulaire, translocation nucléaire, stress cellulaire, cancers, partenaires nucléaires, transcription, épigénétique, signalisation intracellulaire, régulation génique, PD-1/PD-L1, CTLA-4, LAG-3, TIM-3.

---

**Résumé :**

Les points de contrôle immunologiques sont des acteurs majeurs de l'échappement tumoral et des cibles centrales de l'immunothérapie. Cette thèse montre que leur rôle ne se limite pas à la membrane plasmique, mais peut aussi s'exercer dans d'autres compartiments intracellulaires, notamment au niveau du noyau. Les données récentes, en particulier pour PD-L1, montrent l'existence d'une localisation intracellulaire et nucléaire associée à des fonctions plus larges, notamment dans la régulation transcriptionnelle, la présentation antigénique et certaines résistances aux anti-PD-1/PD-L1. Même si ces résultats restent encore précliniques et doivent être interprétés avec prudence, ils ouvrent une piste importante pour mieux comprendre les limites actuelles de l'immunothérapie et envisager, à terme, des approches complémentaires.

---

**Membres du jury :**

**Président :** Professeur Jean-Louis CAZIN, Docteur en Pharmacie, Professeur des Universités en Pharmacologie et Pharmacie Clinique à l'UFR3S Pharmacie (Université de Lille), Directeur du Centre de Pharmacologie et Pharmacie Clinique en Cancérologie au Centre Oscar Lambret (Centre de lutte contre le Cancer des Hauts de France), Président du Conseil Scientifique de la Société Française de Pharmacie Oncologique.

**Directeur de thèse :** Docteur Christian BAILLY, Ph.D., Professeur Associé à la Faculté de Pharmacie de Lille.

**Assesseur :** Docteur Fabrice LEJEUNE, Ph.D., DR2 Inserm.

**Membres extérieurs :** Docteur Xavier MARCEL-FOURRIER, Pharm.D., CEO.