

امجلوهريه ازجايرنة ارقميدلاطيه ايبعشلة

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة ايلعلم الالعلي واحبلث املعلي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



عماجابة تخمي ار - باذعة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE ET MICROBIOLOGIE APPLIQUEE



LBMA
Laboratoire de Biochimie
et Microbiologie Appliquée

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat
Spécialité: Biologie Moléculaire et Cellulaire

THEME

**Polymorphisme HLA et Expression
Menin/HSP27 dans le Cancer de la Prostate
dans une Population de l'Est Algérien**

Présentée par: Mme BOUREFIS Asma

Membres de Jury :

Mme BENBOUZID Houneida (Prof)	Présidente de jury	UBMA
Mme BERREDJEM Hajira (Prof)	Directrice de thèse	UBMA
Mme BOUKOFFA-TOUIL Chafia (Prof)	Examinatrice	USTHB
Mme BOUASLA Asma (Prof)	Examinatrice	Univ. Souk Ahras
Mme HARBI Karima (MCA)	Examinatrice	UBMA

Année universitaire: 2022 / 2023

Cette thèse a été réalisée dans deux laboratoires, où j'ai eu l'occasion de côtoyer un certain nombre de personnes, que je tiens à remercier sincèrement.

Laboratoire de Biochimie et Microbiologie Appliquées

**Equipe de Biologie Moléculaire et Cellulaire
des Pathologies Humaines**

Faculté des Sciences

Université Badji Mokhtar-Annaba

Directrice du Laboratoire : Prof. Hajira BERREDJEM



LBMA
Laboratoire de Biochimie
et Microbiologie Appliquées

Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille (CRCM)

Département d'Oncologie Moléculaire

Groupe Leader Cancer de la Prostate

UMR 1068 Inserm-Institut Paoli-Calmettes

Université-CNRS UMR 7258, Aix-Marseille

Directrice du laboratoire : Prof. Palma ROCCHI



Dédicaces

Je dédie cette thèse à mes parents, pour les nombreux sacrifices qui m'ont permis de toujours réaliser mes rêves et qui m'ont énormément soutenue pendant toutes ces années. Merci de m'avoir élevé comme ils l'ont fait, tout le bonheur que vous m'avez offert me donne cette force de persévérer et de croire en l'avenir.

Merci de tout mon cœur

À la mémoire de mon Papa, un être unique et magnifique.

Les efforts consentis pour la réussite de tes enfants ont été énormes. Tu n'as ménagé aucun effort pour notre éducation, notre réussite et notre bien-être. Tu nous as enseigné le culte du travail et de la responsabilité. Pour moi, tu as toujours été le conseiller de choix.

Je T'AIME PAPA et tu resteras toujours gravé dans mon cœur.

Puisse Dieu t'accueillir dans son vaste Paradis.

Tu ne quitteras jamais mes pensées.

A ma maman, femmes courageuse, intelligente et dévouée. Ton amour, ton affection et surtout tes prières m'ont été d'un grand apport. Les mots me manquent. Le seul que je trouve, c'est : **JE T'AIME MAMAN**. Que le Tout Puissant t'accorde une longue vie et une très bonne santé.

Je remercie plus particulièrement, mes frères et sœurs qui m'ont toujours apporté un soutien sans faille lors de mes études ou en dehors... Merci d'avoir été patient en m'apportant le soutien et les encouragements à la réussite de mon parcours... Merci à tous d'avoir été à mes côtés.

Une pensée particulière à mon époux, qui a fait preuve d'une patience incroyable et insoupçonnée. Merci pour ta présence, tes encouragements et ton affection inconditionnels. J'embrasse très fort mon fils, sa présence m'a donné la force d'aller jusqu'au bout pour qu'il soit plus tard fier de sa maman.

Merci à vous deux, vous avez apporté un rayon de Lumière et de Bonheur dans ma vie,

Enfin, ce travail est dédié aux patients atteints de cancer qui nous inspirent à nous appliquer le plus possible chaque jour.

Remerciements

Cette thèse est le résultat d'un encadrement de qualité réalisé par

Madame le Professeur **Hajira BERREDJEM**, ma directrice de thèse, envers qui j'ai une grande estime et une haute considération. Je vous remercie du fond du cœur d'avoir fait de ces années de thèse un vrai moment de plaisir et d'épanouissement. Merci pour m'avoir offert la possibilité d'effectuer une thèse sur un sujet intéressant et novateur et qui me tenait à cœur, pour tout ce que vous m'avez appris, pour m'avoir conseillée et dirigée tout au long de ce projet et d'avoir su me remotiver dans les moments difficiles. Votre rôle dans ma formation et dans mon cursus a été et restera fondamental. Merci d'avoir été présente à tous les instants, les bons comme les moins bons, par vos qualités scientifiques et humaines. Merci pour votre soutien constant et votre confiance. Toujours de bonne humeur, toujours disponible, malgré les multiples charges qui vous incombent.

Merci d'avoir été à l'origine de cette belle aventure.

Merci de rendre la recherche motivante, souriante et efficace.

Je tiens à remercier tout particulièrement Madame le Professeur **Palma ROCCHI** avec qui j'ai passé 2 années très enrichissantes tant du point de vue scientifique, que du point de vue humain. Je tiens à insister sur vos qualités humaines : disponible, à l'écoute et compréhensive. Vos conseils, vos nombreuses compétences scientifiques, votre disponibilité et votre enthousiasme m'ont accompagné tout au long de mes stages au sein de votre laboratoire. Je vous souhaite le meilleur pour vos futures années de carrière déjà bien remplie. Ce projet n'a pas été simple à terminer et si j'en suis là aujourd'hui c'est, en partie, grâce à vous. Merci pour tous !!

Mes profonds remerciements aux membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ma thèse de doctorat. Votre présence et vos suggestions m'honorent et contribuent grandement à la valorisation de ce travail.

Prof. **Houneida BENBOUZID** en qualité de président. Merci de me faire l'immense honneur de présider mon jury de thèse, merci pour le soutien au cours de mon parcours.

Prof. **Chaffia BOUKOFFA TOUIL**, Dr. **Karima HARBI** et Dr. **Asma BOUASLA** en qualité d'examinatrices. Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect, de ma sincère reconnaissance et de ma haute considération.

Toute ma reconnaissance et gratitude à Dr. Omar DJEFFAL pour sa collaboration inestimable pour le recrutement des malades et pour le suivi clinique et thérapeutique.

Un grand merci à Dr. Mohamed Lamine BELGHARSA et Hanene pour leur aide et expertise des techniques d'anatomie et cytologie Pathologiques ainsi que pour leur accueil chaleureux.

Un grand merci à mes collègues de laboratoire avec lesquels j'ai beaucoup appris, Yasmine, Imène, Chaima, Khanh, Kanette et Sara. Merci pour votre temps, votre compréhension et votre aide, ainsi que votre sympathie ! Merci d'avoir été présents pour échanger les connaissances et s'entraider

Merci à Virginie, José et à l'équipe ICEP notamment Emilie pour votre aide technique, pour avoir répondu aux maintes questions et incertitudes auxquelles je faisais face et pour votre professionnalisme.

Un grand merci à tout le staff administratif de l'Université Badji Mokhtar-Annaba, ayant contribué de près ou de loin à l'aboutissement de mes démarches administratives.

Nous témoignons ici nos vifs remerciements et notre profonde reconnaissance
aux patients atteints de Cancer de la Prostate,
ainsi qu'aux médecins pour avoir participer à cette étude.

*Vous avez tous participé à votre manière, sur le plan scientifique
ou personnel à l'aboutissement de ce travail. Merci à tous !!!*

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

RESUMES

INTRODUCTION 1

Revue de la Bibliographie

CHAPITRE I : LE CANCER DE LA PROSTATE

1. LA PROSTATE	6
1.1. Morphologie et anatomie de la prostate	6
1.1.1. Structure de la prostate	6
1.1.2. Zones de la prostate	7
1.2. Rôle physiologique de la prostate	8
2. PATHOLOGIES DE LA PROSTATE	9
3. DEVELOPPEMENT DE LA PROSTATE	9
3.1. Les androgènes et leurs récepteurs	10
4. CANCER DE LA PROSTATE (CaP)	11
4.1. Epidémiologie et facteurs de risque	11
4.2. Carcinogénèse prostatique	13
4.3. Évolution et classification du CaP	15
4.4. Diagnostic clinique et anatomopathologique du CaP	17
4.4.1. Le toucher rectal	17
4.4.2. Le marqueur prostatique	17
4.4.3. Biopsies prostatiques	18
4.4.4. L'IRM prostatique	20
4.5. Traitement du CaP	20
4.5.1. Traitement des cancers localisés	21
4.5.2. Traitement des cancers métastatiques	22
5. LES BIOMARQUEURS BIOLOGIQUES	23
5.1. Classifications des biomarqueurs	23
5.1.1. Selon leur nature biochimique	23
5.1.2. Selon leurs fonctions	24
5.1.3. Selon la nature de la variable mesurée par la méthode de dosage du biomarqueur	25
5.2. Les Critères d'un biomarqueur tumorale idéal	25
5.3. Évaluation de pronostique et utilité clinique d'un biomarqueur tumorale	26

CHAPITRE II : LA PROTEINE DE CHOC THERMIQUE (HSP27)

1. GENERALITES SUR LES HSPS	27
2. LOCALISATION ET STRUCTURE DE HSP27	29

3. EXPRESSION ET FONCTION DE HSP27	33
3.1. Activité chaperonne	34
3.2. Inhibition de l'apoptose	35
3.3. Activité anti-oxydante	37
3.4. La régulation du cytosquelette	38
3.5. Initiation de la traduction	39
3.6. La prolifération cellulaire	39
3.7. Fonction cytoprotectrice en thérapie anticancéreuse	40
4. HSP27 ET CANCER	41
5. HSP27 ET IMMUNITE	43
5.1. Mécanismes possibles de la réponse antitumorale relayée par les HSPs	46
5.2. Caractéristiques des peptides antigéniques associés aux HSPs	47

CHAPITRE III : La Menine (NEM1)

1. STRUCTURE, LOCALISATION ET EXPRESSION DE LA MENINE	49
2. EXPRESSION ET FONCTION	51
2.1. Régulation de la transcription et de la prolifération	51
2.2. Régulation de la stabilité génomique	53
2.3. Régulation de l'apoptose	53
3. MENINE ET CANCER	53

CHAPITRE IV : Le complexe majeur d'histocompatibilité

1. REPOSE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORALE	56
2. CARACTERISTIQUES ET STRUCTURE DES MOLECULES DU CMH	57
2.1. CMH de classe I	58
2.2. CMH de classe II	59
3. ROLE DES MOLECULES HLA	59
3.1. Rôle des molécules HLA de classe I	60
3.2. Rôle des molécules HLA de classe II	61
4. SYSTEME HLA ET CANCER	62

Matériels et Méthodes

1. POPULATION D'ETUDE	65
2. ANALYSE QUALITATIVE DE L'EXPRESSION DE HSP27 ET MENINE, <i>IN VITRO</i> , SUR LIGNEES TUMORALES	66
2.1. Les lignées cellulaires prostatiques et conditions de culture	66
2.1. 1. La lignée PNTA1	66
2.1.2. La lignée LNCaP	67
2.1.3. La lignée PC-3	67
2.2. Congélation et décongélation des cellules	67
2.3. Repiquage des lignées cellulaires	68
2.4. Comptage et passage des cellules	68

2.5. Extraction et dosage des protéines	68
2.6. Analyse des protéines par Western blot	69
3. ANALYSES QUANTITATIVES DES PROTEINES HSP27 ET MENINE : EXPRESSION DES PROTEINES DANS LE SURNAGEANT ET LES SERUMS HUMAINS.....	70
3.1. Immuno-dosage enzymatique ELISA	70
4. MISE EN EVIDENCE DE HSP27 ET MENIN PAR IMMUNOHISTOCHIMIE	71
5. REALISATION DU TYPAGE HLA	72
5.1. Extraction de l'ADN	72
5.2. Typage par PCR-SSP	72
5.3. Electrophorèse sur gel d'agarose	75
5.4. Interprétation des résultats	75
6. ANALYSE STATISTIQUE	77

Resultats et Discussion

CHAPITRE I : Association CaP et HSP27/Menine

1. Caractéristiques clinico-pathologiques de la population étudiée	78
2. Etude préliminaire, <i>in vitro</i> , de l'expression de HSP27 et de Menin dans les lignées cellulaires	79
3. Expression de HSP27 et de Menin dans le sérum des patients CaP	81
4. Expression de HSP27 et de Menin dans les tissus des patients CaP	84
5. Corrélation entre l'expression de HSP27 et de Menin dans le sérum et les tissus	86
6. Corrélation entre HSP27 et Menine	88
7. ACP des paramètres biologiques chez les patients CaP	91
8. AFC des paramètres biologiques et cliniques de la population étudiée	92
9. Analyse des données par la courbe ROC	94
10. Evaluation de la survie par Kaplan Meier	96

CHAPITRE II : Association CaP, HLA et HSP27/Menine

1. Distribution des molécules HLA dans la population étudiées	99
2. Association molécules HLA et CaP	101
3. Association molécules HLA et HSP27.....	102
4. Association molécules HLA et Menine	103
5. Association molécules HLA et statut hormonal.....	105
6. Association molécules HLA et agressivité du CaP.....	106
7. Association molécules HLA et âge.....	107
8. Distribution des molécules HLA en fonction des caractéristiques clinico-pathologiques	108
9. Distribution des différents haplotypes des molécules HLA dans la population étudiées	110

DISCUSSION	115
CONCLUSION	122
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	124

Liste des Figures

Figure 1. Localisation de la prostate au niveau de l'appareil urogénital male	6
Figure 2. Structure de la prostate	7
Figure 3. Anatomie zonale de la prostate : la zone périphérique (1, PZ), la zone centrale (2, CZ), et la zone de transition (3, TZ). La face antérieure de la prostate étant recouverte de tissu fibro-musculaire (AFS)	8
Figure 4. Mécanisme moléculaire de l'interaction androgène-RA	10
Figure 5. Nombre des nouveaux cas de cancer chez l'homme en Algérie	11
Figure 6. Estimation des taux d'incidence et de mortalité en Algérie	12
Figure 7. Les étapes de la cancérogénèse	14
Figure 8. Stades évolutifs du cancer de la prostate	16
Figure 9. Grades histologiques de Gleason	19
Figure 10. Fonctions de HSP dans des conditions physiologiques et de stress	27
Figure 11. Mécanisme d'activation des HSPs et de réparation des protéines dénaturées (PD)	28
Figure 12. Localisation et structure du Gene <i>HSPB1</i>	30
Figure 13. (a) Structure et sites de phosphorylation de HSP27. (b) Structure 3D de HSP27.....	31
Figure 14. Phosphorylisation et Oligomérisation de HSP27.....	33
Figure 15. Fonctions de HSP27	34
Figure 16. Fonction chaperon de HSP27	35
Figure 17. Effets différentiels de HSP27 sur les différentes voies apoptotiques	36
Figure 18. Résumé de certains des principaux mécanismes de HSP27 dans les états pathologiques	38
Figure 19. Divers mécanismes dépendants de la transcription par lesquels HSF1 favorise l'oncogénèse ..	42
Figure 20. Modèle proposé pour la présentation des peptides de classe I dérivés de la protéine de choc thermique (HSP)	43
Figure 21. Complexes HSP-peptides-CMH lors de la réponse immunitaire innée et adaptative	44
Figure 22. Double rôle des HSPs dans l'activation de l'immunité innée, avec l'induction de monokines et la maturation des cellules dendritiques (DC), et de l'immunité acquise, avec la fourniture de peptide pour le chargement du CMH et les réponses spécifiques aux antigènes	45
Figure 23. Mécanismes possibles du rôle des HSPs dans l'immunisation antitumorale	47
Figure 24. Structure du gène MEN 1 a) Localisation du gène sur le chromosome 11. b) Séquenc génomique	49
Figure 25. Structure de Menin :(a) structure primaire. (b) Structure tridimensionnelle	50
Figure 26. Contrôle des cellules tumorales par le système immunitaire	56

Figure 27. Gènes du CMH situés sur le bras court du chromosome 6	57
Figure 28. Structure des molécules HLA de classe I	58
Figure 29. Structure des molécules HLA classe II	59
Figure 30. Apprêtement des antigènes endogènes et exogènes par les molécules HLA de classe I et classe II	61
Figure 31. Évasion immunitaire par perte de molécules HLA. (a) Les cellules tumorales exprimant les molécules HLA I sont reconnues par les lymphocytes T et éliminées. (b) La perte des molécules HLA permet aux cellules tumorales d'échapper à la réponse immunitaire	63
Figure 32. Mécanismes d'altération des molécules HLA I	64
Figure 33. Les différents états des cellules en réponse à un stimuli	66
Figure 34. Principe de la SSP. Les allèles HLA sont amplifiés par PCR à l'aide de SSP. Les produits de la PCR sont ensuite détectés par électrophorèse sur gel d'agarose. Un contrôle d'amplification est inclus avec chaque réaction pour détecter les résultats faussement négatifs dus à un défaut d'amplification	73
Figure 35. Interprétation des résultats de la PCR-SSP	76
Figure 36. Contrôle de la PCR-SSP sur gel d'agarose a) classe I (HLA-A), b) classe II (HLA-DR)	76
Figure 37. Expression de HSP27 dans les lignées cellulaires prostatiques. (a) Par Western blot. (b) Par ELISA.	79
Figure 38. Expression de Menin dans les lignées cellulaires. (a) Par Western blot. (b) Par ELISA	80
Figure 39. Concentration de HSP27 dans le sérum par Elisa assay. (a) expression de HSP27 chez les patients CaP et les témoins; (b) expression de HSP27 selon GS ; (c) expression de HSP27 selon l'agressivité de la tumeur.	82
Figure 40. Concentration de Menin dans le sérum mesurée par Elisa assay. (a) expression de Menin chez les patients CaP et les témoins ; (b) expression de Menin selon GS ; (c) expression de Menin selon l'agressivité de la tumeur	84
Figure 41. Observation microscopique de sections de tumeurs provenant de biopsies colorées par IHC spécifique pour HSP27. (a,a') HBP, (b,b') faiblement positif (CaP non-agressif), (c,c'), modérément positif (CaP intermédiaire). (d,d') fortement positive (CaP agressif). (a – d) x 200 et (a'- d') x 400 grossissement	85
Figure 42. Observation microscopique de sections de tumeurs provenant de biopsies colorées par IHC spécifique pour Menin. (a,a') HBP, (b,b') faiblement positif (CaP non-agressif), (c,c'), modérément positif (CaP intermédiaire). (d,d') fortement positive (CaP agressif). (a – d) x 200 and (a'- d') x 400 grossissement	85
Figure 43. Corrélation entre l'expression sérique et tissulaire de HSP27.(a) Score de Gleason 6 ; (b) Score de Gleason 7 ; (c) Score de Gleason 8-10	87
Figure 44. Corrélation entre l'expression sérique et tissulaire de Menin. (a) Score de Gleason 6 ; (b) Score de Gleason 7 ; (c) Score de Gleason 8-10	88

Figure 45. Corrélation entre l'expression de HSP27 et de Menin dans le sérum et les tissus des témoins sains. (a) HSP27 et Menin dans le sérum de témoins sains ; (b) HSP27 et Menin dans les tissus de témoins sains	88
Figure 46. Corrélation entre l'expression sérique de HSP27 et de Menin chez les patients atteints de CaP. (a) Score de Gleason 6 ; (b) Score de Gleason 7 ; (c) Score de Gleason 8-10	89
Figure 47. Corrélation entre l'expression sérique de HSP27 et de Menin chez les patients atteints de CaP. (a) Score de Gleason 6 ; (b) Score de Gleason 7 ; (c) Score de Gleason 8-10	90
Figure 48. ACP des paramètres biologiques (HSP27_QSM, MENIN_QSM : expression d'HSP27 et de la Menin dans les tissus ; HSP27_ELISA, MENIN_ELISA : expression de HSP27 et de Menin dans le sérum)	92
Figure 49. AFC des paramètres cliniques. M* : Métastase, M- : Pas de métastase, M** : Guérison, D*mort, D- : Survie, HSP27** : surexpression de HSP27 dans le sérum, HSP27qsm** : surexpression de HSP27 dans le tissu, Menin** : surexpression de Menin dans le sérum, Menin qsm** : surexpression de Menin dans le tissu, HR* : Hormono-Résistance, HR- : Pas de Hormono-Resistance, HS* : Hormono-Sensibilité, HS- : Pas de Hormono-Sensibilité	93
Figure 50. Analyse ROC. (a,b) HSP27, Menin, PSA par rapport au décès ; (c,d) HSP27, Menin, PSA par rapport à l'agressivité. HSP27 : protéine de choc thermique, PSA : antigène spécifique de la prostate, ROC : receiver operating characteristic, AUC : area under curve	96
Figure 51. Survie globale en fonction du décès : impact de (a) HSP27, (b) Menin et (c) PSA en concentrations (ng/mL) sur la survie spécifique au PCa. Survie globale en fonction des métastases : impact des concentrations (d) de HSP27, (e) de Menin et (f) de PSA (ng/mL) sur la survie spécifique au CaP. Les valeurs optimales de HSP27, Menin et PSA étaient respectivement de 9,310, 0,304 et 21,655 ng/mL. Les valeurs p ont été calculées à l'aide de test Log Rank	98
Figure 52. Répartition des molécules HLA A, B, C, DR, DQ chez les patients et les Témoins	99
Figure 53. Distribution des Allèles HLA chez les patients et les témoins. (a) HLA-A, (b) HLA-B, (c) HLA-C , (d) HLA-DR, (d) HLA-DQ	100
Figure 54. Distribution heatmap des molécules HLA selon les caractéristiques clinicopathologiques ...	108
Figure 55. Distribution heatmap des molécules HLA en fonction des concentrations seuils de HSP27 et Menin	109

Liste des Tableaux

Tableau 1. Risque du CaP selon le PSA	17
Tableau 2. Groupes pronostiques de la classification ISUP	19
Tableau 3. Evaluation de l'agressivité du cancer de la prostate selon la classification de Amico	20
Tableau 4. situation et pathologie associées à une augmentation du principal biomarqueur tumorale conventionnel	26
Tableau 5. Résumé des membres, des emplacements cellulaires et des fonctions des familles de protéines de choc thermique.....	29
Tableau 6. Programme d'amplification de la PCR-SSP.....	74
Tableau 7. Caractéristiques clinicopathologiques des patients avec et sans CaP	78
Tableau 8. Association des molécules HLA et du CaP	101
Tableau 9. Association entre les molécules HLA-A-B-C et HLA-DRB1 et HLA-DQB1 et HSP27	102
Tableau 10 : Association entre les molécules HLA-A-B-C et HLA-DRB1 et HLA-DQB1 et Menin.....	104
Tableau 11 : Association entre les molécules HLA-A-B-C et HLA-DRB1 et HLA-DQB1 et le statut hormonal	105
Tableau 12. Association entre les molécules HLA-A-B-C et HLA-DRB1 et HLA-DQB1 et l'agressivité du CaP	106
Tableau 13. Association entre les molécules HLA-A-B-C et HLA-DRB1 et HLA-DQB1 et l'âge des patients CaP	107
Tableau 14. Répartition des haplotypes des molécules HLA-A-B-C et HLA-DRB1 et HLA-DQB1 au sein de la population étudiée	110
Tableau 15. Haplotypes les plus fréquents dans la population malade	113

Liste des Abréviations

A

ACD	Domaine α -Crystallin
AD	Androgéno-Dépendant
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADT	Traitement Anti-Androgénique
ARNm	Acide Ribonucléique messenger
AI	Androgéno-Indépendant
Apaf-1	Protéase Apoptotique-1
AS	Androgéno-Sensible
ASK	Activateur de la Kinase de la phase S
ATP	Adénosine Triphosphate

B

BMP	Bone Morphogenetic Proteins
β-caténine	Transcriptinal coactivator

C

CaP	Cancer de la Prostate
CDC123	Cell Division Cycle 123
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
COA	Co-Activateurs
CRPC	Cancer de la Prostate Résistant à la Castration
CT scan	Computed Tomography scan

D

DAMP	Damaged Associated Molecular Patern
DHT	Dihydrotestostérone

E

EGF	Epidermal Grow Factor
EIF4E	Eukaryotic Translational Initiation Factor 4 E
eIF4G	Elongation Initiation Factor 4G

F

FADD Fas-Associated protein with Death Domain

G

GAS1 Growth Arrest Specific 1

GLI1 Zinc finger protein

GS Gleason Score

H

H3K4me3 Triméthylation de la lysine4 de l'histone H3

HBP Hypertrophie Bénigne de la Prostate

Hh Hedgehog

HR Hormono-Résistance

HRF Histamine Releasing Factor

HS Hormono-Sensibilité

HSF1 Heat shock factor1

HSP27 Heat Shock Protein 27

HSPs Heat Shock Proteins

sHSP Small Heat Shock Proteins

HT Hormonothérapie

I

IAP Inhibiteur des Protéines de l'Apoptose

IGFs Insulin-like Growth Factor

IRM Imagerie par Résonance Magnétique

K

KGF Keratinocyte Growth Factor

L

LH-RH Luteinizing Hormone Releasing Hormone

LNP Lipid Nanoparticle

LOH Loss of Heterozygoty

M

MAGEA2B MAGE Family Member A2B

mCRPC	Cancer de la Prostate Résistant à la Castration métastatique
MLL	Mixed-Lineage Leukemia
Myc	Proto-oncogene

N

NEM1	Néoplasie Endocrinienne Multiple de type 1
NES	Séquences de Sortie Nucléaire
NF- κB	Nuclear Factor KB
NK	Naturel Killer
NLS	Séquences de Localisation Nucléaire
NTD	Domaine N-terminal

P

PAP	Phosphatase Acide Prostatique
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor
PI3K	Phosphatidylinositol3-kinase
PSA	Antigène Prostatique Spécifique
PRMT5	Protein Arginine Methyltransferase 5
PSP-94	Protéine de Sécrétion Prostatique-94
PTEN	Phosphatase and tensin homolog

R

RA	Récepteur aux Androgènes
RE	Réticulum endoplasmique
ROS	Reactive Oxygen Species
RPA2	Protéine de Réplication A2
RPSA	Ribosomal Protein SA
RT	Radiothérapie

S

SDS-PAGE	Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis
Ser	Serine
SSP	Specific Single Primer
STAT3	Transducteur de Signal et Activateur de la Transcription 3

T

T	Testosterone
Taq	Taq Polymérase

TBE	Tampoun Tris-Borate-EDTA
TCTP	Translationally Controlled Tumor Protein
TGF-β	Transforming Growth Factor- β
Thyr	Thyrosine
TLR	Toll Like Receptor
TNF-α	Tumor Necrosis Facteur- α
TPR	Répétition Tétratricopeptide
TSAP6	Tumor-Suppressor-Activated Pathway-6

W

Wnt	Glycoprotéine riche en cystéine
------------	---------------------------------

Y

Yap1	Protéine associée à Yap
-------------	-------------------------

Résumé

Le dépistage du cancer de la prostate repose sur deux tests, le PSA et le toucher rectal. Toutefois, le PSA n'est pas spécifique pour confirmer le stade du CaP, ce qui conduit à des résultats faussement positifs et implique un surdiagnostic et un surtraitement du CaP. Il a été démontré que la protéine HSP27 et Menin étaient surexprimées dans un large éventail de cancers humains. Des études récentes ont montré comment HSP27 interagit avec Menin et la stabilise pour conduire à la progression du CaP et à la résistance au traitement. Le but de notre étude était d'évaluer la corrélation entre l'expression moléculaire de HSP27 et de Menin dans le cas du CaP avancé ainsi que leur valeur diagnostic et pronostique. L'Elisa et l'immunohistochimie (IHC) ont été utilisées pour mettre en évidence l'intérêt de HSP27 et de Menin en tant que biomarqueurs tumoraux. L'expression sérique de HSP27 est en corrélation avec son expression tissulaire chez tous les patients CaP, tandis que l'expression sérique de Menin est en corrélation avec son expression tissulaire uniquement dans le cas du CaP agressif. De plus, il existe une corrélation positive entre HSP27 et Menin aussi bien dans le sérum ($p = 0,021$) que dans les tissus ($p < 0,0001$). Dans les CaP agressifs, l'expression sérique de HSP27 et de Menin était positivement corrélée ($p = 0,001$). L'augmentation de l'expression de HSP27 et de Menin est significativement corrélée à une survie plus courte des patients présentant un CaP. L'exactitude de la prédiction de l'agressivité a été quantifiée par l'AUC. La combinaison HSP27/Ménine a montré un meilleur résultat que la combinaison HSP27/Ménine/PSA (AUC=0,824 versus AUC=0,569 ; $p < 0,0001$). D'autre part, nous avons démontré que les allèles HLA influencent l'évolution et la progression du CaP, bien que les mécanismes sous-jacents restent peu clairs. Les allèles HLA-C et HLA-DQB1 ont montré plus particulièrement une association significative avec l'Age, l'hormonoresistance et Menin. Nos travaux suggèrent le rôle potentiel de HSP27/Ménine et éventuelle des molécules HLA en tant que biomarqueurs potentiels de diagnostics et de pronostiques.

Mots clés : CaP, HSP27, Ménine, HLA, Elisa, IHC, PCR-SSP, Biomarqueurs, Pronostique.

Abstract

Screening for prostate cancer is based on two tests, the PSA and the digital rectal examination (DRE). However, PSA is not specific for confirming the stage of CaP, leading to false-positive results and over-diagnosis and over-treatment of CaP. HSP27 and Menin have been shown to be over-expressed in a wide range of human cancers. Recent studies have shown how HSP27 interacts with and stabilises Menin to lead to CaP progression and resistance to treatment. The aim of our study was to assess the correlation between the molecular expression of HSP27 and Menin in advanced CaP and their diagnostic and prognostic value. Elisa and immunohistochemistry (IHC) were used to demonstrate the value of HSP27 and Menin as tumour biomarkers. Serum expression of HSP27 correlated with tissue expression in all CaP patients, while serum expression of Menin correlated with tissue expression only in aggressive CaP. Furthermore, there was a positive correlation between HSP27 and Menin in both serum ($p = 0.021$) and tissue ($p < 0.0001$). In aggressive CaP, serum HSP27 and Menin expression were positively correlated ($p = 0.001$). Increased expression of HSP27 and Menin was significantly correlated with shorter survival in patients with CaP. The accuracy of prediction of aggressiveness was quantified by AUC. The HSP27/Menin combination performed better than the HSP27/Menin/PSA combination (AUC=0.824 versus AUC=0.569; $p < 0.0001$). We also demonstrated that HLA alleles influence the development and progression of CaP, although the underlying mechanisms remain unclear. In particular, the HLA-C and HLA-DQB1 alleles showed a significant association with Age, hormone resistance and Menin. Our work suggests a potential role for HSP27/Menin and possibly HLA molecules as potential diagnostic and prognostic biomarkers.

Keywords: PCa, HSP27, Menin, HLA, Elisa, IHC, PCR-SSP, Biomarkers, Prognostic.

ملخص

يعتمد فحص سرطان البروستاتا على اختبارين ، PSA وفحص المستقيم الرقمي. ومع ذلك ، فإن PSA ليس محددًا لتأكيد مرحلة CaP ، مما يؤدي إلى نتائج إيجابية كاذبة وينطوي على تشخيص مفرط ومعالجة مفرطة لـ CaP. لقد ثبت أن بروتين HSP27 والمينين يظهران بشكل مفرط في مجموعة واسعة من السرطانات البشرية. أظهرت الدراسات الحديثة كيف يتفاعل HSP27 مع Menin ويثبتته ليؤدي إلى تقدم CaP ومقاومة العلاج. كان الهدف من دراستنا هو تقييم العلاقة بين التعبير الجزيئي لـ HSP27 و Menin في حالة CaP المتقدمة بالإضافة إلى قيمتها التشخيصية والإنذارية. تم استخدام إليسا والكيمياء المناعية (IHC) لتسليط الضوء على اهتمام HSP27 و Menin كمؤشرات حيوية للورم. يرتبط تعبير المصل HSP27 بتعبير الأنسجة في جميع مرضى CaP ، بينما يرتبط تعبير Menin في المصل بتعبير الأنسجة فقط في CaP العدوانية. علاوة على ذلك ، هناك علاقة إيجابية بين HSP27 و Menin في كل من المصل ($p = 0.021$) وفي الأنسجة ($p < 0.0001$). في CaP العدوانية ، ارتبط تعبير المصل عن HSP27 و Menin بشكل إيجابي ($p = 0.001$). ترتبط زيادة تعبير HSP27 و Menin بشكل كبير مع بقاء أقصر من المرضى الذين يعانون من CaP. تم تحديد دقة التنبؤ بالعدوان من قبل الجامعة الأمريكية بالقاهرة. أظهرت تركيبة HSP27 / Menin نتائج أفضل من تركيبة HSP27 / Menin / PSA ($AUC = 0.824$) مقابل $AUC = 0.569$ ؛ $p < 0.0001$ من ناحية أخرى ، أظهرنا أن أليلات HLA تؤثر على تطور وتطور CaP ، على الرغم من أن الأليلات الأساسية لا تزال غير واضحة. أظهرت أليلات HLA-C و HLA-DQB1 على وجه الخصوص ارتباطًا كبيرًا بالعمر ومقاومة الهرمونات ومينين.

يقترح عملنا الدور المحتمل لـ HSP27 / Menin وربما جزيئات HLA كمؤشرات حيوية تشخيصية وإنذارية محتملة.

الكلمات المفتاحية: سرطان البروستاتا ، HSP27 ، مينين ، HLA ، Elisa ، IHC ، PCR-SSP ، المؤشرات الحيوية.

Production Scientifique

1/ PUBLICATIONS INTERNATIONALES

1- Bourefis, A., Berredjem, H., Djefal, O., Khanh Le Thi., Giusiano, S., Rocchi, P. (2022). HSP27/Menin Expression as New Prognostic Serum Biomarkers of Prostate Cancer Aggressiveness Independent of PSA. *Cancers*; 14 (19): 4773.

2- Bourefis, A., Benabdlekrim M., Rocchi, P., Bardi, R., Berredjem, H. The Prognostic significance of HLA Alleles on Prostate Cancer Outcome and association with HSP27 and Menin (en cours de rédaction).

2/ LISTE DES COMMUNICATIONS

❖ *Communications internationales*

Communications affichées :

- 1) Bourefis Asma, Berredjem Hajira, Benabdkrim Maroua, Djefal Omar, Palma Rocchi . *Expression of Human Serum Hsp27 in Prostate Cancer is Correlated with the Gleason Score*. 10th FAIS-AFRICAN CONGRESS OF IMMUNOLOGY-2017, Tunisie
- 2) Asma Bourefis, Hajira Berredjem, Omar Djefal , Palma Rocchi. *Tissue Expression OF HSP27 in Prostate Cancer is Correlated With the Aggressivity of Cancer in the Algerien Population*. International Congress on Health Sciences and Medical Technologies (ICHSMT'19).2019. Tlemcen. (*publié Juin 2020 dans la revue des technologie médicales*)

Communication orale :

- 1) Asma Bourefis, Hajira Berredjem, Omar Djefal , Palma Rocchi. *Expression of Human Serum Menin in Prostate Cancer is Correlated with the Agressivity of Cancer*. Biosciences 2019 – Biotechnology and Cancer (ICBC)-2017, Oran.

❖ *Communications nationales*

Communication affichée :

Asma Bourefis, Hajira Berredjem, Omar Djefal , Palma Rocchi . Seminaire National de Biodiversite, Biologie Medicale et Ecotoxicologie Environnementale (SNBBMEE 2019), Skikda. *HSP27 Serique est Surexprimé chez Les Patients Atteints du Cancer de la Prostate. 2019.*

INTRODUCTION

Le cancer est un problème de santé publique majeur en Algérie et dans le monde, avec plusieurs millions de nouveaux cas rapportés chaque année. En 2020, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le cancer de la prostate (CaP) était la troisième tumeur maligne la plus fréquemment diagnostiquée, précédée par le cancer du poumon et le cancer colorectal. Il s'agit du cancer le plus fréquent dans plus de 50 % des pays du monde (Hugosson et al., 2019). L'incidence du CaP ne cesse d'augmenter avec 3 597 nouveaux cas diagnostiqués dont 1 635 décès en 2020 (Globocan, 2022).

La détection du CaP repose sur la mesure de l'antigène prostatique spécifique (PSA) sérique, le toucher rectal, le stade clinique et/ou le volume de la prostate (Moyer, 2012). Cependant, le PSA, qui est utilisé comme marqueur tumoral pour le dépistage, le diagnostic, le suivi et le pronostic du CaP, est un marqueur spécifique de l'activité de la prostate, mais non du CaP (Saini, 2016). Cette procédure conduit à un taux élevé de biopsies inutiles et à une surdétention de CaP indolent (Hugosson et al., 2019). Souvent, le diagnostic doit être suivi de biopsies guidées par échographie transrectale (Descotes, 2019). Il n'existe donc pas de prédictors fiables du pronostic en dehors du score de Gleason et du stade TNM. C'est pourquoi la recherche se concentre sur le développement de tests qui sont plus spécifiques pour discriminer les stades du CaP et qui peuvent améliorer le choix du diagnostic, du traitement, de l'évaluation du pronostic et du suivi de la maladie. Seul un petit nombre de marqueurs moléculaires candidats sont actuellement utilisés dans la pratique clinique ; de nombreux autres marqueurs ont été signalés au fil du temps et sont en cours d'évaluation (Ross et al., 2002 ; Glaessgen et al., 2008).

Les protéines de choc thermique (HSPs) sont une grande famille de protéines chaperonnes homologues hautement conservées qui sont induites en réponse à des stress environnementaux, physiques et chimiques ; elles limitent les conséquences des dommages et facilitent la récupération cellulaire (Beere, 2004). Certaines sont exprimées de manière constitutive et associées à des organites intracellulaires spécifiques, tandis que d'autres sont rapidement induites en réponse à un stress environnemental, physique ou chimique (Beere, 2001). Les HSPs sont exprimées de manière constitutive à de faibles concentrations dans le cytosol de la plupart des cellules humaines (Lindquist et Craig, 1988), mais dans certaines conditions de stress, elles sont redistribuées dans le noyau ou dans le cytosquelette (Mc Claren et Isseroff, 1994 ; Arts et al., 1999). Les HSPs jouent, dans leur grande majorité, un rôle cytoprotecteur. Dans des conditions physiologiques normales, elles protègent les cellules

contre les lésions liées au stress et permettent de ce fait, à l'organisme, de survivre dans des conditions défavorables. Dans le cas d'une cellule cancéreuse, la présence des HSPs, en protégeant la cellule, favoriserait l'échappement tumoral en permettant sa survie, par leur activité antiapoptotique, malgré les différents traitements utilisés. Ainsi, les HSPs sont souvent surexprimées et associées à une tumorigénicité accrue, à un potentiel métastatique, à une résistance à la chimiothérapie et à un mauvais pronostic dans de nombreux cancers (Lebret et al., 2003). Sur le plan clinique, la HSP27 est fortement exprimée dans de nombreux cancers, notamment le cancer du sein (Wei et al., 2011), le cancer de l'ovaire (Arts et al., 1999), l'adénocarcinome gastrique (Huang et al., 2010), le cancer du poumon (Mizutan et al., 2010), le cancer colorectal (Tweedle et al., 2010), le cancer de la prostate (Rocchi et al., 2004 ; Shiota et al., 2013) et le carcinome hépatocellulaire (Zhang et al., 2016). Dans le cancer du sein, il a été démontré qu'une expression accrue de HSP27 est un facteur pronostique utile qui est en corrélation avec une survie significativement plus courte, une prolifération cellulaire accrue, des métastases et une résistance à la chimiothérapie (Vargas-Roig et al., 1997). Dans les néoplasies cervicales, une association a été signalée entre la surexpression de HSP27 et le grade de la tumeur (Ono et al., 2009).

Dans le CaP, il a été démontré que HSP27 est fortement surexprimée dans le phénotype résistant à la castration (CRPC) et agit comme un chaperon cytoprotecteur activé par le stress, favorisant la survie et la plasticité des cellules tumorales par le biais de diverses voies (Rocchi et al., 2004 ; Rocchi et al., 2006 ; Cherif et al., 2022). Par conséquent, HSP27 a une importance clinique en tant que cibles thérapeutiques potentielles chez les patients atteints de CaP. D'autre part, ces mêmes auteurs ont utilisé une approche protéomique à grande échelle qui leur a permis d'identifier une autre molécule, la Menin, comme une nouvelle protéine hautement régulée par HSP27 dans le CaP.

Menin est une protéine codée par le gène de la néoplasie endocrinienne multiple de type 1 (*MEN1*) qui est classé comme un gène suppresseur de tumeur "gatekeeper" et qui contrôle directement la croissance ou la mort des cellules dans certains tissus (Chandrasekharappa, 1997 ; Balogh et al., 2006). Il est intéressant de noter que, contrairement à son rôle de suppresseur de tumeurs, *MEN1* fonctionne également comme un partenaire oncogène dans la leucémie aiguë humaine agressive et dans la carcinogenèse hépatocellulaire (Yokoyama et al., 2005 ; Xu et al., 2013). Les patients porteurs du locus *MEN1* muté développent des tumeurs, le plus souvent dans les glandes parathyroïdes, l'hypophyse, la corticosurrénale et les cellules

des îlots de Langerhans du pancréas. Un certains nombres de tumeurs non endocrines peuvent également survenir (Balogh et al., 2006 ; Busygina et Bale, 2006).

La protéine Menin se trouve principalement dans le noyau, mais aussi dans le cytoplasme et la membrane cellulaire lors de la division cellulaire (Keo et al., 2000). La surexpression de Menin est souvent associée à l'ablation de la tumeur, ce qui confirme son rôle de suppresseur de tumeur (Kim et al., 1999). Dans le cas contraire, c'est un oncogène avec un mauvais pronostic, par exemple, dans le carcinome hépatocellulaire (Xu et al., 2013), le cancer du sein (Brennan, 2014) et du poumon (Paris et al., 2009).

En se basant sur les données citées précédemment, on pourrait émettre l'hypothèse qu'une combinaison de biomarqueurs tels que HSP27 et Menin pourrai contribuer à l'amélioration du diagnostic, le pronostic et l'approche thérapeutique globale.

Bien que le CaP soit décrit comme une maladie immunogène, son immunogénicité est entravée par un microenvironnement largement immunosuppresseur constitué d'interactions complexes entre les cellules immunosuppressives locales, y compris les cellules T régulatrices, les macrophages associés à la tumeur et les cellules suppressives dérivées de la myéloïde, ainsi que les cellules cancéreuses qui interagissent en collaboration pour réguler négativement les réponses immunitaires antitumorales, favorisant ainsi la progression de la maladie (De Velasco et Uemura, 2018 ; Baxevanis et al., 2019). Les régulateurs principaux de ces processus complexes sont les allèles de l'antigène leucocytaire humain (HLA), qui limitent génétiquement l'amorçage et la phase effectrice des cellules T dans le processus de développement de la réponse immunitaire antitumorale (Parham et Ohta, 1996 ; Rivoltini et al., 2002). Par conséquent, les allèles HLA ont été liés à la prévalence ou à l'issue de plusieurs maladies telles que l'auto-immunité et le cancer (Dendrou et al., 2018). Ainsi, étant donné le rôle central attribué aux produits des gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) en tant qu'orchestrateurs des réponses immunitaires, il n'est pas surprenant que ces gènes aient une influence importante sur le développement du cancer (Campoli et Ferrone, 2008).

Les éventuels impacts positifs ou négatifs des allèles HLA ont été étudiés dans certains cas de cancers. Il a été démontré, par exemple, que HLA-A*02 est surexprimé chez les patients atteints de cancer de l'ovaire et de cancer du poumon et qu'il est associé à des taux de mortalité plus élevés (De Petris et al., 2004) tandis que son expression dans l'adénocarcinome du poumon et le cancer épithélial des ovaires est associée à un pronostic défavorable. Ainsi, il devient évident qu'en dehors de leur rôle crucial dans la machinerie globale de présentation

des antigènes, les allèles HLA individuels influencent l'évolution et la progression des cancers, bien que les mécanismes sous-jacents restent peu clairs.

Il a été démontré que les HSPs jouaient un rôle crucial au cours des réponses immunitaires anti-tumorales *in vivo* et *in vitro* (Blachere et al., 1997 ; Singh-Jasuja et al., 2001 ; Li et al., 2002 ; Srivastava, 2002). Les HSPs forment des complexes Peptides-HSPs hautement immunogènes. Des auteurs ont montré que l'immunisation avec HSP70 purifiée à partir de cellules tumorales contenant des peptides spécifiques de la tumeur induit une forte réponse des lymphocytes T cytotoxiques (CTLs) contre les cellules tumorales après une vaccination autologue (Blachere et al., 1997 ; Udono et al., 2001 ; Enomoto et al., 2006). Des peptides synthétiques fusionnés à HSP70 induisent *in vitro* des réponses CTL restreintes au CMH de classe I (Udono et al., 2001). D'autre part, Okochi et al. (2008) ont montré chez les souris transgéniques HLA-A24 après la vaccination avec HSP70, que ces peptides se sont effectivement liés à HLA-A24 dans un essai de stabilisation induisant une forte réponse des CTLs réactifs. La compilation des résultats expérimentaux montre que les molécules chaperonnes, protéines ubiquitaires, s'avèrent être des acteurs importants de la réponse anti-tumorale. En tant que porteurs de peptides, elles peuvent, participer à la présentation antigénique à des lymphocytes régulateurs ou effecteurs.

A l'instar de HSP70, il a été démontré que certaines cellules tumorales peuvent convertir des cellules CD14+HLA-DR+ normaux en un phénotype CD14+HLA-DR^{low/neg} de manière spécifique à la tumeur. Ces monocytes CD14+HLA-DR^{low/neg}, à leur tour, protègent les tumeurs contre les effets cytotoxiques de la chimiothérapie. Ici, les auteurs rapportent la régulation de HSP27 comme l'un des mécanismes de médiation de cet effet. Les molécules chaperons représenteraient, un outil remarquable pour caractériser de nouveaux antigènes tumoraux (Zhang et al., 2014).

L'identification de nouveaux biomarqueurs permettra d'étudier de nouvelles cibles thérapeutiques afin de développer des outils diagnostiques dans le contexte d'une médecine personnalisée, ainsi que des agents pharmacologiques efficaces pouvant re-sensibiliser les cellules à l'hormonothérapie ou à la chimiothérapie.

OBJECTIFS DE LA THESE

OBJECTIF PRINCIPAL:

◇ Evaluer la valeur diagnostique et pronostique de l'expression moléculaire de HSP27/Menin dans le CaP en relation avec les caractéristiques clinico-pathologiques. Leur potentiel pronostique pourrait contribuer à une prise de décision thérapeutique judicieuse en évitant d'éventuels sous-traitements ou sur-traitements.

OBJECTIFS SECONDAIRES:

◇ Vérifier si une corrélation serait observée entre HSP27 et Menin en utilisant l'analyse en composantes principales (ACP), l'analyse factorielle des correspondances (AFC) et la courbe opérationnelle du récepteur (ROC) afin d'évaluer, pour la première fois, leur valeur potentielle en tant que biomarqueurs circulants.

◇ analyser la répartition des gènes HLA de classes I et II dans une population Algérienne dans le cas du CaP, ce qui permet d'apporter une description fine du polymorphisme de ce système génétique, notamment à une échelle régionale.

◇ Evaluer l'association des allèles HLA-A*, HLA-B*, HLA-C*, HLA-DRB1* et HLA-DQB1* les plus fréquents dans notre population avec le CaP, ainsi que leur association avec les biomarqueurs HSP27/Menin.

Revue de la Bibliographie

Chapitre I

Le cancer de la Prostate

1. LA PROSTATE

1.1. Morphologie et anatomie de la prostate

La prostate est une glande qui fait partie des appareils reproducteur et urinaire de l'homme (McNeal, 1988). Elle est en forme de cône arrondi et renversé, située au croisement de l'urètre et des canaux éjaculateurs, sous la vessie et en avant du rectum (**Figure 1**) (Seisen, 2012 ; Richard, 2018). Très petite chez l'enfant, elle se développe à l'âge de la puberté pour atteindre un poids d'environ 20 grammes, puis connaît une seconde période de croissance après 60 ans (Talschaller, 2015). Elle est formée de 2 lobes qui entourent l'urètre et comprend trois zones principales : la zone périphérique, la zone centrale et la zone de transition (McNeal, 1988). C'est au niveau de la prostate que se rejoignent l'urètre, le canal déférent et les vésicules séminales.

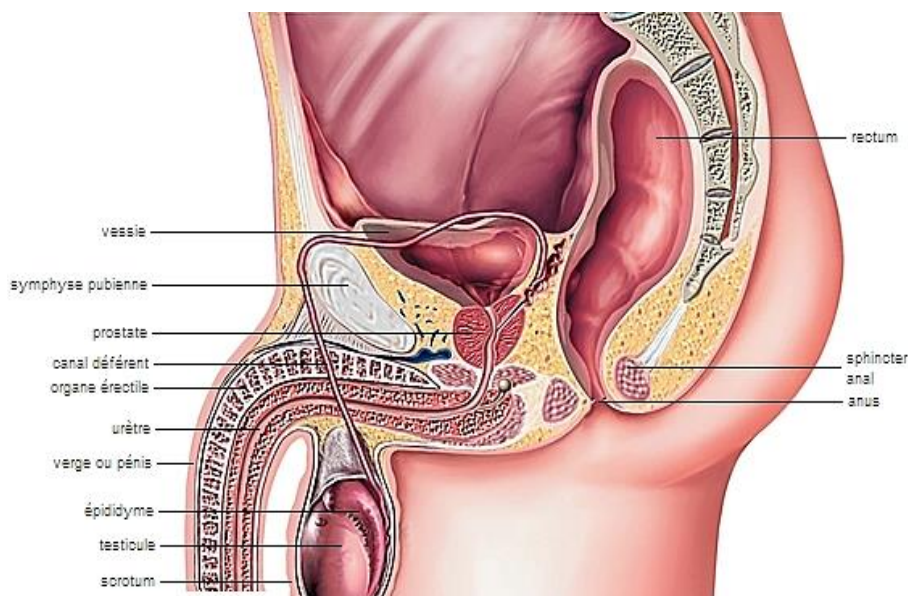


Figure 1. Localisation de la prostate au niveau de l'appareil urogénital male (Larousse Médical, 2023).

1.1.1. Structure de la prostate

La prostate est recouverte d'une couche de tissu conjonctif appelée capsule prostatique et elle est constituée de 3 types de cellules différentes :

- ❖ *Les cellules de la glande* qui produisent la partie liquide du sperme ;
- ❖ *Les cellules musculaires* qui contrôlent le flux d'urine et l'éjaculation ;
- ❖ *Les cellules fibreuses* qui fournissent la structure de soutien de la glande ;

Il existe différentes structures autour de la prostate :

- ❖ **Vésicules séminales** : glandes qui produisent le sperme et qui se retrouvent dans les deux côtés de la prostate ;
- ❖ **Canal défèrent (*vasa deferentia*)** : ces tubes transportent les spermatozoïdes des testicules aux vésicules séminales ;
- ❖ **Testicules** : ayant deux fonctions principales (production du spermatozoïde et du testostérone) ;
- ❖ **Epididyme** : collecte les spermatozoïdes ;
- ❖ **L'urètre** remplit 2 fonctions : la miction et l'éjaculation ;
- ❖ **Sphincter** : muscles, pour contrôler la miction (**Figure 2**) ;

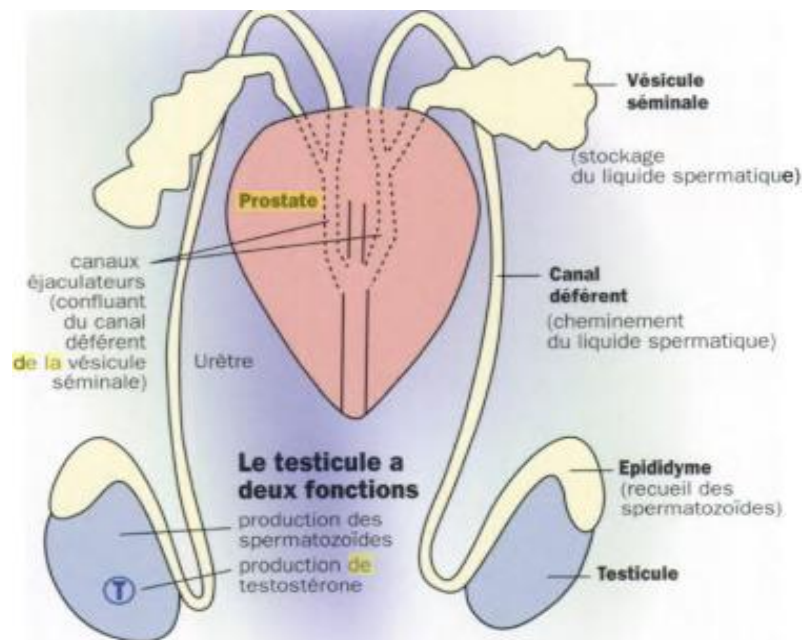


Figure 2. Structure de la prostate (Pfleifer, 2006).

1.1.2. Zones de la prostate

Selon McNeal, (1972), la prostate se divise en 3 zones principales dans lesquelles le CaP apparaît avec des prévalences différentes (**Figure 3**).

- ✓ **La zone périphérique (ZP)** : c'est la région de la prostate la plus proche du rectum (postérolatérale et inférieure) donc accessible au toucher rectal. Elle constitue la plus grande zone de la prostate (70% du tissu glandulaire et l'apex est entièrement formé de ZP). C'est la zone de prédilection du cancer (75%) et de la prostatite (**Figure 2**).
- ✓ **La zone centrale (ZC)** : c'est la partie de la prostate située à la base (postéro-basale) formant une masse conique médiane et postérieure dont la base correspond à la totalité de

la base prostatique et entourant les canaux éjaculateurs. Elle constitue 25% du tissu glandulaire et rarement intéressée par la pathologie (5% des cancers).

- ✓ **La zone de transition (ZT)** : c'est la zone située au milieu de la prostate en avant des zones périphérique et centrale (antéro-médiane). Elle entoure l'urètre et représente environ 5% du tissu glandulaire jusqu'à l'âge de 40 ans. Avec le vieillissement, cette zone augmente en taille pour devenir la plus grosse partie de la prostate (adénome ou hypertrophie bénigne de la prostate). L'augmentation de taille de la zone de transition a pour effet de pousser la zone périphérique vers le rectum. Environ 20% des cancers surviennent dans cette zone.

L'ensemble des zones décrites ci-dessus constitue le tissu glandulaire qui représente les deux tiers de la prostate. Le tiers restant est constitué d'un tissu fibro-musculaire dépourvu de glandes qui tapisse la face antérieure de la prostate (Fourcade, 1997; Hammerich et al., 2009).

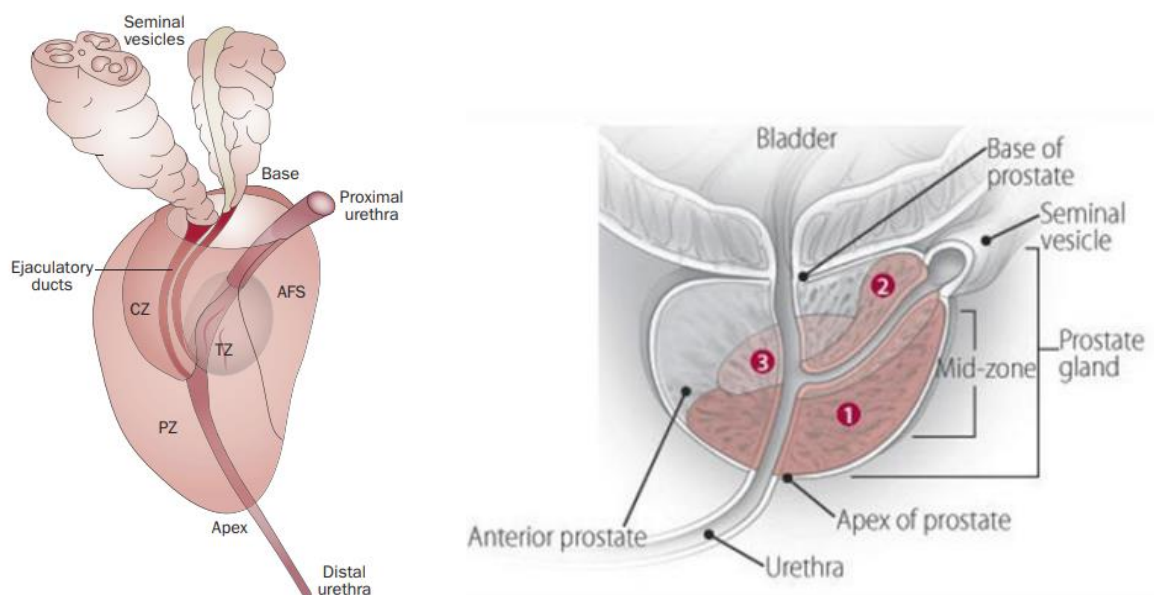


Figure 3. Anatomie zonale de la prostate : la zone périphérique (1, PZ), la zone centrale (2, CZ), et la zone de transition (3, TZ). La face antérieure de la prostate étant recouverte de tissu fibro-musculaire (AFS) (Wadhera, 2013).

1.2. Rôle physiologique de la prostate

Sa principale fonction est de sécréter du liquide séminal riche en fructose et vitamine C par les vésicules séminales, essentiel à la bonne santé des spermatozoïdes et à la fertilité de l'homme (Abbou et Dubernard, 2006). La prostate est impliquée dans la miction, la fertilité et

l'éjaculation. Elle sécrète un liquide laiteux et légèrement acide (pH 6,5) (Pfleifer, 2006) qui contient plusieurs substances : i) l'acide citrique assurant la survie des spermatozoïdes à travers la production d'adénosine triphosphate (ATP) ; ii) Les enzymes protéolytiques qui dégradent les protéines de coagulation provenant des vésicules séminales ; iii) la phosphatase acide ; iv) la plasmine séminale qui agit comme antibiotique afin d'éviter toute infection du tractus urinaire male. Ses autres constituants majoritairement des protéines (principalement l'antigène spécifique prostatique (PSA), la phosphatase acide prostatique (PAP), la protéine de sécrétion prostatique (PSP-94) accompagnées de lipides et d'électrolytes (le zinc) et des facteurs de croissance (EGF). Les sécrétions prostatiques qui participent à la formation du sperme constituent 30% du volume de l'éjaculat final et contribuent à la vitalité et à la mobilité des spermatozoïdes (Talschaller, 2015 ; Tortora et Derrickson, 2018).

2. PATHOLOGIES DE LA PROSTATE

Les trois maladies les plus fréquentes de la prostate sont :

- **l'infection de la prostate ou prostatite**, qui est une inflammation d'origine bactérienne qui peut être aiguë ou chronique (Stern et Schaeffer, 2000).
- **l'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP)**, qui est l'affection la plus fréquente chez l'homme âgé. Il s'agit d'une hypertrophie de la partie centrale de la prostate (autour de l'urètre) qui engendre l'apparition progressive de symptômes urinaires (Lee et Peehl, 2004). La cause de l'HBP est encore mal connue mais les androgènes seraient impliqués dans ce phénomène (Nandeesh, 2008).
- **le cancer de la prostate (CaP) ou adénocarcinome prostatique**, qui a fait l'objet de mon travail de thèse décrit ci-après, est une tumeur maligne de la partie périphérique de la prostate.

3. DEVELOPPEMENT DE LA PROSTATE

Le développement, la différenciation et le maintien de la fonction de la prostate dépendent des hormones, notamment des androgènes et leurs récepteurs ainsi des facteurs de croissance. Les androgènes sont des hormones sexuelles males qui appartiennent à la famille des hormones stéroïdiennes (Marcelli et al., 2000 ; Handelsman, 2011). Les androgènes dont la testostérone et la dihydrotestostérone sont nécessaires pour initier le développement, poursuivre la croissance de la prostate pendant les stades embryonnaires et néonataux et commencer l'activité de sécrétion à la puberté (Arnold et al., 2002).

3.1. Les androgènes et leurs récepteurs

Le principal androgène circulant chez les mammifères est la testostérone synthétisée dans les testicules. La testostérone libre parvient jusqu'à la prostate par les vaisseaux sanguins puis elle est captée par les cellules prostatiques. Elle est alors convertie en dihydrotestostérone (DHT) par la 5 α -réductase, androgène deux fois plus puissant que la testostérone, et active les voies de signalisation du récepteur des androgènes (RA) (Brown, 2003 ; Vickman et al., 2020). Le récepteur des androgènes est un facteur de transcription dépendant des androgènes. Lors de la liaison avec l'androgène (DHT) dans le cytoplasme, le RA subit des changements de conformation et passe au noyau, où il se fixe à l'ADN, induisant la transcription de gènes cibles à l'aide de co-activateurs (CoA) et induit la prolifération, la différenciation et la survie des cellules (**Figure 4**). Ce mode d'action est la voie classique ou génomique de signalisation des RA (Shafi et al., 2013 ; Li et al., 2018). La DHT participe au maintien de l'équilibre entre la prolifération et l'apoptose cellulaire puisqu'elle contrôle l'expression et la sécrétion des facteurs de croissance des cellules stromales. L'EGF (*Epidermal grow factor*), le KGF (*Keratinocyte growth factor*), l'IGFs (*Insulin-like growth factor*) modulent la prolifération cellulaire; le TGF- β (*Transforming grow factor beta*) module l'apoptose (Carson et al., 2003), mais stimule également la prolifération et la croissance des cellules cancéreuses de la prostate androgéno-dépendante (Bok et Small, 2002).

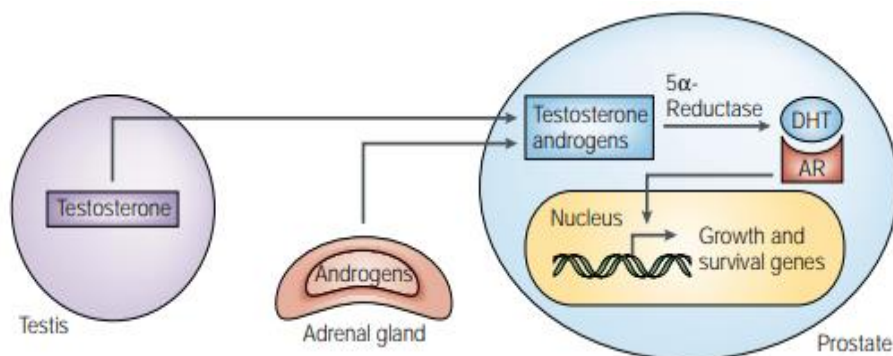


Figure 4. Mécanisme moléculaire de l'interaction androgène-RA (Bok et Small., 2002).

Les androgènes jouent aussi un rôle important dans la progression et le développement du CaP qui est un cancer hormono-dépend (Richter et al., 2007). La grande majorité des patients répondent à la première ligne d'HT car elle permet d'inhiber la production de Testostérone et donc la prolifération cellulaire. Ceci entraîne une régression de la tumeur par apoptose des cellules, mais malheureusement, la réponse n'est que transitoire et la plupart des patients développent une résistance à l'ADT et progressent vers un CRPC après 18 à 36 mois (Yap et

al., 2016 ; Sumanasuriya et al., 2018). Pour survivre et reprendre la croissance dans un environnement dépourvu d'androgènes, les cellules du CaP doivent soit adapter la voie du récepteur aux androgènes (RA) aux conditions dépourvues d'androgènes, soit mettre en place des voies alternatives de survie et de croissance (Jenster et al., 1999). La résistance à la castration et l'échappement hormonal sont souvent liée à des mécanismes qui sont dépendent du RA tels que la production locale d'androgènes, l'amplification ou les mutations du récepteur (RA).

4. CANCER DE LA PROSTATE (CaP)

4.1. Epidémiologie et facteurs de risques

Le CaP est le 4^{ème} cancer le plus répandu en Algérie ; son incidence ne cesse d'augmenter avec 3 597 nouveaux cas diagnostiqués dont 1 635 décès en 2022 (Globocon, 2022) (**Figure 5 et 6**). Les hommes Algériens sont 5.6 fois susceptibles de mourir d'un CaP en comparaison aux Etats-Unis. 12% des Hommes Algériens appartiennent à la tranche d'âge à risque de développer un cancer (55 ans et plus) (Cancer de la prostate en Algérie, 2018). Dans les autres pays développés, le CaP est aussi le cancer plus fréquent chez l'homme et la troisième cause de décès par cancer (AhmedinJemal et al., 2011 ; Globocon, 2022).

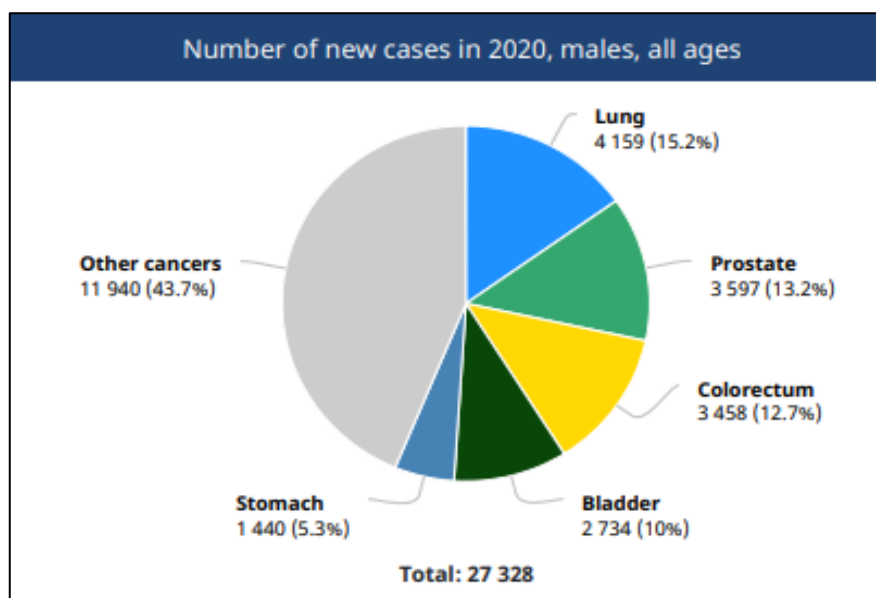


Figure 5. Nombre des nouveaux cas de cancer chez l'homme en Algérie (Globocan, 2022).

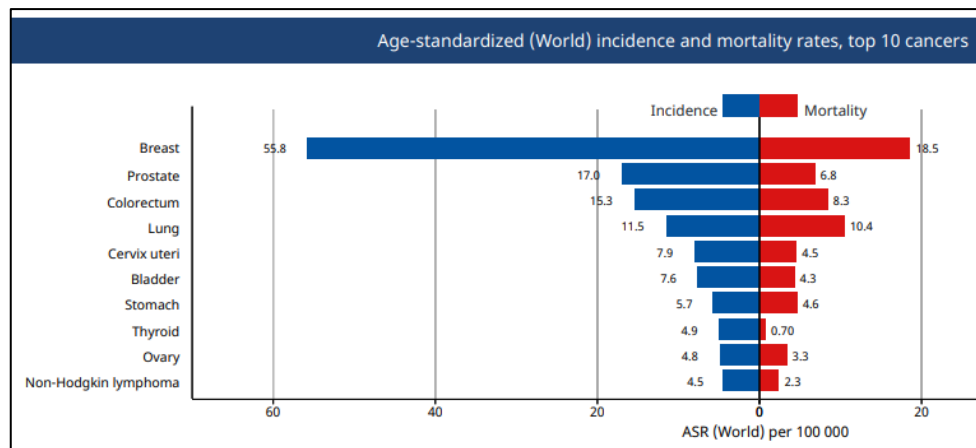


Figure 6. Estimation des taux d'incidence et de mortalité en Algérie (Globocan, 2022).

Ce cancer touche essentiellement l'homme à partir de 50 ans et son incidence augmente avec l'âge. Il existe des facteurs environnementaux et alimentaires qui peuvent favoriser l'apparition de ce cancer. Par exemple, le risque de cancer est plus élevé dans les régions industrialisées comme l'Amérique ou l'Europe, en comparaison avec l'Asie (Blumenfeld et al., 2000 ; Hori et al., 2011). Le facteur ethnique intervient également car il est observé que les hommes noirs présentent un risque élevé d'avoir un CaP (Kheirandish et Chinegwundoh, 2011). Il existe aussi un facteur génétique, même si dans la majorité des cas, le cancer survient hors de tout contexte génétique (forme sporadique) (Richard, 1994 ; Clinton et Giovannucci, 1998 ; Fournier et al., 2004). Des études ont révélé des mutations dans certains gènes comme *BRCA1*, *BRCA2*, *MSR1* et *ELAC2* qui sont associées à un risque de CaP (Kral et al., 2011). La transmission héréditaire se fait par l'un des deux modes suivants : soit sous forme de syndrome autosomique dominant, transmission par le père affecté, soit sous forme de syndrome lié au sexe, transmission par la mère à ses fils. Plusieurs gènes de prédisposition sur divers loci ont été découverts dans les formes familiales de CaP. La cartographie des gènes sur le chromosome 1 a permis de localiser le gène *HPC1* comme un gène de susceptibilité au cancer héréditaire de la prostate (Alberti, 2010). Un autre gène prédisposant au CaP a également été découvert, appelé *PCaP*, situé sur le chromosome 1 (Berthon et al., 1998). Plusieurs études épidémiologiques montrent dans certaines familles, une association possible, synchrone ou métachronique, d'autres tumeurs (sein, cerveau, tumeurs gastro-intestinales, lymphomes) avec le CaP, suggérant ainsi un fond génétique commun où l'association est basée sur des gènes de prédisposition partagés par ces différents cancers. Les hommes qui ont un parent au premier degré atteint d'un cancer du sein semblent avoir un risque 1.4 fois plus élevé de développer un CaP (Alberti, 2010).

4.2. Carcinogénèse Prostatique

Dans la tumorigénèse prostatique, l'inflammation chronique de la prostate suite à des épisodes de prostatites ou de stress chimique et physique, ainsi que la présence de gènes de prédisposition, jouent un rôle dans l'initiation du CaP (De Marzo et al., 2007).

Le cancer est une prolifération rapide et anarchique de cellules anormales qui ont la capacité d'envahir et de détruire les tissus sains et de se disséminer dans l'organisme formant des métastases qui sont la principale cause de décès par cancer. La prolifération cellulaire nécessite l'intervention des androgènes comme un inducteur de prolifération cellulaire, aussi il faut qu'intervienne la transformation par mutation des proto-oncogènes en oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs (Fourcade, 1997). Les gènes suppresseurs de tumeurs codent des protéines qui restreignent la croissance cellulaire et empêchent les cellules de devenir malignes. Ces gènes fonctionnent à l'état récessif puisque les deux copies doivent être perdues par délétion ou mutées pour que leur rôle protecteur disparaisse ; au contraire, les oncogènes codent des protéines qui favorisent la perte du contrôle de la croissance et la malignité. Ces oncogènes proviennent de proto-oncogènes des gènes codant des protéines qui jouent un rôle dans les activités normales de la cellule et dans la transmission des signaux de croissance de l'environnement extracellulaire vers l'intérieur de la cellule, principalement dans le noyau. Plusieurs oncogènes codent soit des facteurs de croissance ou leurs récepteurs, soit des protéines impliquées dans l'apoptose. Les oncogènes codent également des protéines kinase cytoplasmiques, et des facteurs de transcription nucléaires. Les modifications qui altèrent soit la protéine soit son expression provoquent un fonctionnement anormal du proto-oncogène et favorisent la formation d'une tumeur. Les oncogènes fonctionnent à l'état dominant, c'est-à-dire, qu'avec une seule copie, la cellule exprime le phénotype altéré. La plupart des tumeurs possèdent des altérations dans les gènes suppresseurs de tumeurs comme dans les oncogènes (Gerald Karp, 2004).

On peut résumer le développement tumoral comme suit :

- ✓ Les premières étapes concernant la cancérogénèse à savoir action directe des carcinogènes sur l'homéostasie cellulaire ceci concerne :
 - ***L'initiation de la cancérogène*** : processus selon lequel une cellule acquiert une anomalie génétique décisive transmissible à sa descendance provoquée par un agent initiateur tel que : un agent chimique, un agent biologique (virus) et physique (UV, radiation ionisante).

- **La promotion de la cancérogène** : processus selon lequel cette cellule potentiellement maligne va proliférer, en particulier grâce à la coopération des cellules et tissus normaux de son environnement. Ce qui provoque la perte de l'homéostasie associée à une instabilité génomique qui se traduit par une perte de facteur de protection (gène suppresseur de tumeur) et augmentation de facteurs favorisant la progression (oncogène entre autre).
- **La progression** : c'est une phase complexe qui consiste en la vascularisation de la tumeur (angiogénèse) et en l'acquisition de la capacité d'invasion (métastases) (**Figure 7**) (Hoerni, 2001 ; Tubiana-Mathieu, 2002 ; Liu et al., 2015).

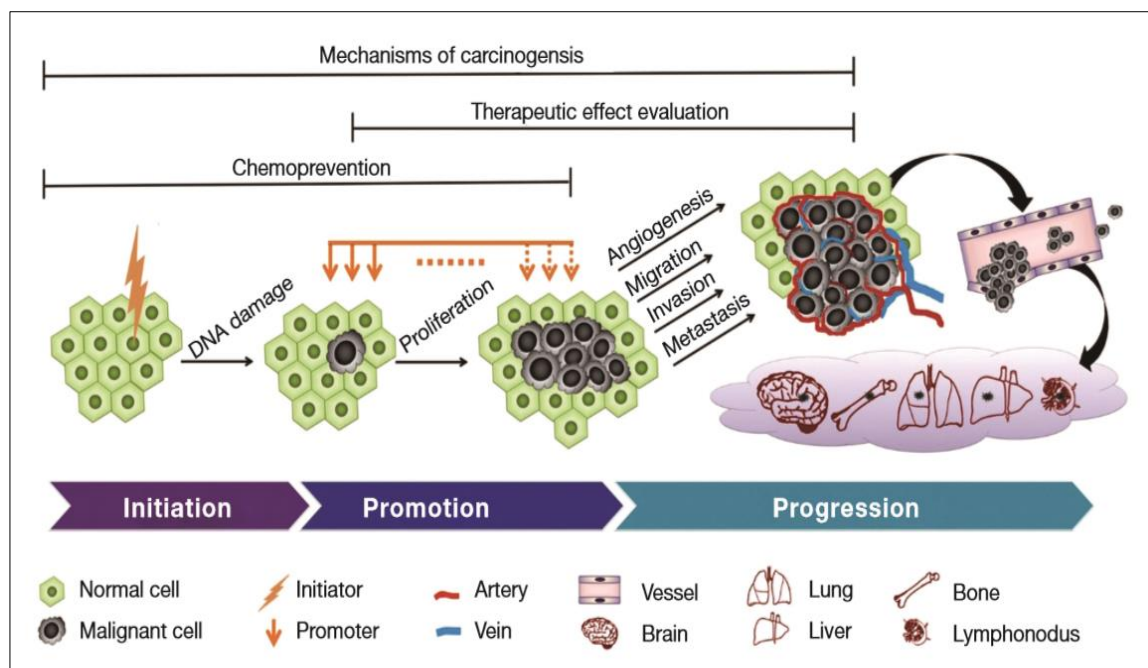


Figure 7. Les étapes de la cancérogénèse (Liu et al., 2015).

Durant ces stades s'établissent une prolifération cellulaire incontrôlé, angiogénèse tumorale et une invasivité locale avec dissémination hématogène et lymphatique (Tubiana-Mathieu, 2002).

✓ **Angiogénèse**

Quand une tumeur s'accroît, elle stimule la formation de nouveaux vaisseaux sanguins, nécessaires pour apporter les nutriments et l'oxygène aux cellules tumorales en croissance rapide. Les vaisseaux sanguins sont aussi des conduits permettant aux cellules cancéreuses de se répandre vers d'autres régions de l'organisme (Karp, 2004).

✓ **Invasion tumorale**

Exprime la capacité des cellules à envahir les tissus avoisinant la prolifération cellulaire initiale. Après l'intravasation, les cellules tumorales peuvent être détectées comme cellules tumorales circulantes (CTC) dans la circulation sanguine ou lymphatique (Michael et al., 2017).

✓ **La métastase**

Traduit la capacité des cellules cancéreuses à migrer, à s'implanter dans un site distinct du site original et à proliférer dans cette nouvelle localisation (Hoerni, 2001). Il est à noter que les cellules cancéreuses circulantes sont accompagnées de plaquettes, de polynucléaires, ce qui entraîne des réactions inflammatoires et d'éventuelles hypoplaquettes sévères (Tubiana-Mathieu, 2002).

- ✓ Les dernières étapes du développement tumoral, correspondent à une maladie disséminée métastatique avec développement progressif plus ou moins rapide d'une résistance aux traitements.

La plupart des patients cancéreux (60 à 70 %) présentent des métastases manifestes ou occultes lors du diagnostic, et le pronostic pour la majorité de ces patients est sombre. Il est absolument nécessaire d'identifier des indicateurs fiables du potentiel métastatique, étant donné que la détection clinique de la dissémination métastatique est souvent synonyme d'un mauvais pronostic (Karp, 2004). Les méthodes actuelles de détection de nouvelles tumeurs, comprenant la tomodensitométrie (CT scan) ou l'imagerie par résonance magnétique (IRM), les ultrasons ou la mesure des marqueurs circulants comme le PSA, ne sont pas suffisamment sensibles pour détecter des micrométastases. Une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires des métastases est nécessaire. Il est évident que la croissance métastatique reflète à la fois une perte et un gain de fonction et, en effet, la recherche de gènes suppresseurs des métastases s'est avérée plus fructueuse que l'identification de gènes dont on est sûr qu'ils stimulent spécifiquement le processus métastatique (Yoshida et al., 2000).

4.3. Évolution et classification du CaP

Le cancer débute par l'altération de cellules due à de multiples processus tumorigènes encore peu connus à ce jour (tumeur initier). Ces cellules prolifèrent ensuite de manière incontrôlable dans la partie périphérique de la prostate (**Figure 8, stade 2**). La division et la prolifération de ces foyers de cellules sont lentes au début de la maladie. Bien que certains

foyers ne deviendront jamais cancéreux, dans la majorité des cas, ils vont croître jusqu'à former une tumeur. Le cancer se propage ensuite localement vers les espaces périprostatiques et vers les vésicules séminales (**Figure 8, stade 3**), où il va rencontrer les vaisseaux sanguins et les canaux lymphatiques. Ceci va être le point de départ de la phase métastatique (**Figure 8, stade 4**). Les cellules cancéreuses migrent alors vers les ganglions lymphatiques, les os et les autres organes (Zerbib et Perez, 1998).

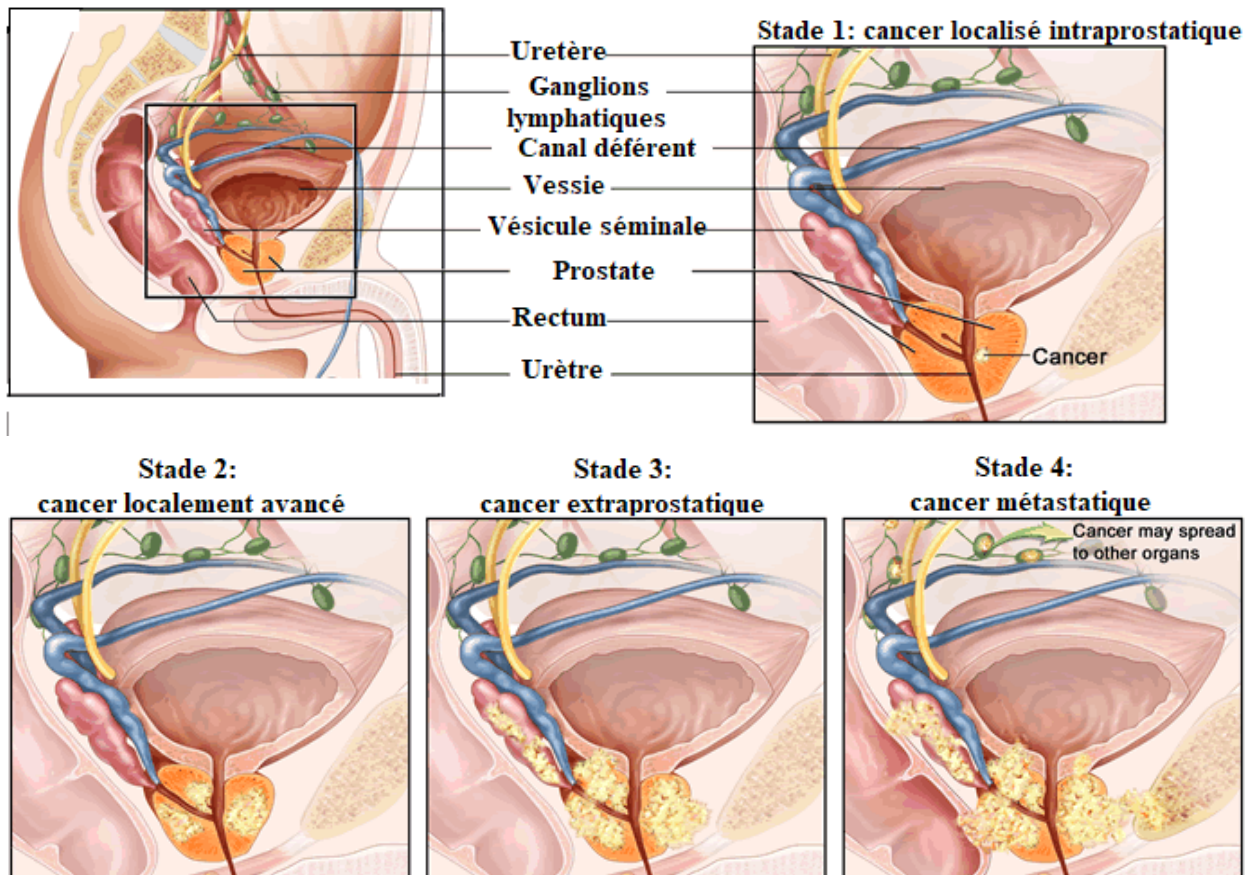


Figure 8. Stades évolutifs du cancer de la prostate.

http://www.cryotherapy.com.au/prostate_cancer.html (Consulté Janvier 2023).

Le cancer est d'abord localisé dans la partie périphérique de la prostate (stade 2) puis il s'étend et atteint les tissus voisins tels que les vésicules séminales (stade 3). Enfin le cancer arrive jusqu'aux ganglions lymphatiques et à la circulation sanguine (stade 4), favorisant l'apparition de métastases.

4.4. Diagnostic clinique et anatomopathologique du CaP

Le diagnostic du CaP est le plus souvent porté sur :

4.4.1. Le toucher rectal

Permet au clinicien d'examiner la prostate et de palper sa morphologie, sa taille et sa texture à travers la paroi rectale. Une prostate tumorale a une consistance plus dure que la prostate normale et peut être nodulaire.

4.4.2. Le marqueur prostatique

A ce jour, le marqueur biochimique principal utilisé dans la détection de CaP est le PSA. Il a été découvert par Wang en 1979. Depuis les années 1980, le PSA est devenu le marqueur sérique le plus utilisé pour le dépistage, le diagnostic et le suivi du CaP (Bok et Small, 2002). La maladie est souvent découverte à la faveur d'une élévation de la valeur du PSA sérique total réalisé dans le cadre du dépistage individuel, même si cette hausse n'est pas spécifique.

La faible spécificité du diagnostic par le PSA conduit à de nombreux faux-positifs et à un nombre élevé d'indications de biopsies de la prostate. Ce manque de spécificité conduit à la réalisation de biopsies prostatiques « systématisées » par voie transrectale avec guidage échographique. Cette stratégie classique entraîne un risque de sur-diagnostic de cancers cliniquement non significatifs (microfoyers), ainsi qu'une non-détection de certains cancers cliniquement significatifs situés en dehors des zones prélevées (Haffner et al., 2011). Les limites du PSA doivent impérativement favoriser la recherche de nouveaux biomarqueurs afin de réduire le nombre de biopsies inutiles. Selon les directives de l'Association européenne d'urologie (EAU) sur le dépistage, le diagnostic et le traitement du CaP cliniquement localisé, dépendent du niveau seuil de PSA indiquant le risque le plus élevé de CaP (**Tableau 1**).

Tableau 1. Risque du CaP selon le PSA (Mottet et al., 2020).

Cancer non agressif	Risque intermédiaire	Cancer agressif	
PSA < 10 ng/mL et GS < 7	PSA 10-20 ng/mL ou GS = 7	PSA > 20 ng/mL ou GS > 7	Tout PSA Tout GS
Cancer localisé			Localement avancé

PSA = antigène spécifique de la prostate ; GS = Gleason score

4.4.3. Biopsies prostatiques

Seules les biopsies avec examen anatomopathologique permettent de confirmer le diagnostic. Elles permettent, notamment, de préciser le caractère unilatéral ou bilatéral du cancer, le Score de Gleason, le pourcentage de cancer sur chaque biopsie et éventuellement de détecter une extension extra-prostatique. La majorité des CaP sont des adénocarcinomes, c'est-à-dire des cancers de l'épithélium glandulaire et plus particulièrement, des cellules sécrétrices. Ils se développent le plus souvent dans la zone périphérique de la prostate, sous la dépendance des androgènes. Après avoir franchi la capsule prostatique, la tumeur s'étend dans la graisse péri-prostatique, puis vers les vésicules séminales par contiguïté. Les sites métastatiques les plus fréquents sont ganglionnaires (région pelvienne et rétropéritonéale) et osseux (bassin, rachis, côtes et sternum) (Berthélémy, 2016).

❖ *Score de Gleason*

Le système de grading défini par Gleason en 1966 comporte 5 grades architecturaux allant de 1 à 5, dont la somme définit 9 scores de 2 à 10. Ce système de grading a été revu lors des conférences de consensus de l'ISUP (International Society of Urological Pathology), en 2005 puis en 2014 (Epstein et al., 2016). Le Score de Gleason permet de constater le degré d'agressivité du CaP. Il s'agit de l'échelle la plus couramment utilisée dans le cas de l'adénocarcinome qui se développe préférentiellement dans la partie périphérique de la prostate par opposition à la zone de transition où se développe l'hyperplasie bénigne qui est le type de CaP le plus courant.

La classification de Gleason repose sur le degré de différenciation des cellules cancéreuses et sur leur modèle de croissance (disposition) dans la prostate (**Figure 9**). La détermination du score de Gleason est faite à partir de l'analyse de biopsies. La glande prostatique contient plusieurs foyers tumoraux d'évolution différente et à des stades de différenciations pouvant être différents (HIFU Prostate, 2023). Ce score est la somme des deux grades le plus fréquemment représentés dans la tumeur analysée ; plus il est élevé, plus la tumeur est agressive (**Tableau 2**).

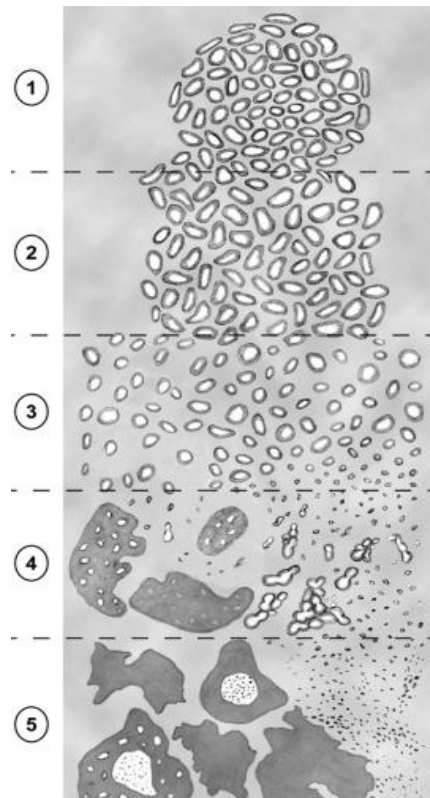


Figure 9. Grades histologiques de Gleason (Epstein, 2010).

Tableau 2. Groupes pronostiques de la classification ISUP (Rozet, 2020 ; Mottet et al., 2020).

Groupe 1	Anciennement score de Gleason 6 (3 + 3)	Cancers très bien différenciés (non agressifs)
Groupe 2	Score de Gleason 7 (3 majoritaire)	Cancers moyennement différenciés (modérément agressifs)
Groupe 3	Score de Gleason 7 (4 majoritaire)	
Groupe 4 et 5	Score de Gleason 8 -10	Cancers peu différenciés (agressifs)

❖ *Classification de D'Amico*

La classification de D'Amico permet d'évaluer le potentiel d'agressivité des tumeurs localisées et de mettre en place le traitement le plus approprié (D'Amico et al., 1998), Elle est divisée en 3 niveaux de risque de progression du CaP (**Tableau 3**) : un risque faible, un risque intermédiaire et un risque élevé. Toutefois, cette classification présente des limitations, et en particulier pour les patients avec un score de Gleason 7.

Tableau 3. Evaluation de l'agressivité du cancer de la prostate selon la classification de D'Amico

Groupe	Définitions	Pronostic de rechute à 5 ans
Faible risque	PSA \leq 10ng/ml + Gleason \leq + Stade clinique T1c ou T2a	< 25%
Risque intermédiaire	PSA entre 11 et 20 ng/ml ou Score de Gleason = 7 ou Stade clinique T2b	25-50%
Risque élevé	PSA > 20ng/ml ou Score de Gleason > 7 ou Stade clinique T2c	> 50%

4.4.4. L'IRM prostatique

Elle a, depuis 10 ans, changé la prise en charge du CaP localisé. Sa performance, couplée aux biopsies ciblées, guidées par l'imagerie a permis de mieux identifier les cancers significatifs dans la prostate, de préciser leurs contours, leur localisation et leurs rapports avec la surface de la glande. L'IRM est devenue un examen indispensable pour le praticien à tous les stades de la maladie, du diagnostic au suivi post-thérapeutique en passant par le guidage du traitement ce qui permet de savoir si la tumeur est localisée uniquement dans la prostate ou si elle est plus étendue (Barrier et al., 2016).

4.5. Traitement du CaP

○ Surveillance

Le principe est basé sur le fait que beaucoup de CaP de Gleason score 6 ou de faible risque de progression selon D'Amico ne vont pas progresser ou évoluer lentement sans avoir un impact sur la survie du patient. L'indication de la surveillance active est donc un CaP cliniquement localisé et à faible risque de progression pour des patients dont l'espérance de vie est supérieure à 10 ans.

Bien que les définitions ne soient pas consensuelles dans la littérature, il semble que le meilleur candidat à cette approche soit une surveillance active pour :

- les patients du groupe à faible risque D'Amico (PSA < 10 ng/mL, score de Gleason \leq 6).
- 1 à 2 carottes biopsiques positives sur au moins 10 prélèvements.
- Longueur tumorale < 3 mm au total sur le prélèvement.

Il s'agit d'une surveillance active nécessitant un suivi par PSA tous les 6 mois et des re-biopsies régulières. Le critère d'arrêt de la surveillance est un temps rapide de doublement du PSA ou l'apparition de cancer de grade de Gleason 4 ou 5 sur les biopsies répétées. Il peut

être souhaité par le patient à tout moment, ce qui représente 20 % d'arrêt, dans la première année, de la surveillance active.

Le choix du traitement prend en compte le bilan d'extension associé aux taux de PSA dans le sang, le score de Gleason, l'âge, l'espérance de vie du patient et les effets secondaires des différentes thérapies (Berthélémy, 2016).

4.5.1. Traitement des cancers localisés

○ *la Prostatectomie totale*

La prostatectomie totale est le traitement de référence chez l'homme de moins de 70 ans, avec une espérance de vie supérieure à 10 ans. Elle consiste à supprimer toute la prostate, ainsi que les vésicules séminales et parfois les ganglions lymphatiques (Jewett et al., 2003 ; Simmons et al., 2011). Elle assure en plus le contrôle local de la maladie (Holmberg et al., 2002). Il s'agit d'une prostatectomie totale associée à l'exérèse bilatérale des vésicules séminales (Guillonnet et al., 2003 ; Stolzenburg et al., 2004). Elle peut être associée à une radiothérapie et/ou une hormonothérapie.

○ *Radiothérapie (RT)*

RT Externe : elle utilise des radiations pour détruire les cellules cancéreuses en les empêchant de se multiplier tout en laissant la prostate en place (Xylinas et Ppeyromaure, 2012). Cette technique permet de préserver les tissus sains grâce aux images tridimensionnelles qui permettent de localiser la zone à traiter.

Curiethérapie : consiste à placer des sources radioactives à l'intérieur de la prostate. Ces éléments radioactifs émettent des rayonnements qui détruisent les cellules cancéreuses.

Il existe deux formes de curiethérapie : par l'Iode 125 des grains radioactifs ou par implants temporaires de sources d'iridium 192 (Salomon et al., 2010).

Elle est habituellement réalisée seule, mais peut être associée à une hormonothérapie ou une radiothérapie.

Cryothérapie : La cryothérapie, appelée aussi cryochirurgie, détruit la tumeur grâce au froid intense délivré par une sonde appelée cryosonde. Cette technique, peu invasive, utilise de la neige carbonique ou de l'azote liquide pour congeler la zone traitée (Matillon et al., 2012).

Elle peut être proposée à certains patients pour qui la radiothérapie ou la curiethérapie n'ont pas donné de résultats. Elle peut également être utilisée chez des hommes âgés de plus de 70 ans atteints de cancers localisés.

4.5.2. Traitement des cancers métastatiques

○ *Hormonothérapie*

Le traitement hormonal du CaP a pour objectif de diminuer la testostérone circulante en deçà d'un seuil empiriquement fixé à 50 ng/dL, ainsi de bloquer la prolifération des cellules cancéreuses (Rozet et al., 2019), elle peut être établie par deux méthodes :

- La chirurgie

Le chirurgien procède à l'ablation des testicules donc la production de testostérone est définitivement arrêtée.

- Des médicaments pour inhiber l'action de la testostérone (castration chimique)

Actuellement, les hormonothérapies disponibles dans le traitement des CaP sont :

❖ Les hormonothérapies de première génération

- **la pulpectomie** : qui consiste en une exérèse chirurgicale de la pulpe du testicule produisant la testostérone.
- **les agonistes et antagonistes de la LH-RH** : qui agissent au niveau de l'hypothalamus pour inhiber la production de testostérone par les testicules. L'avantage des antagonistes de la LH-RH est donc d'obtenir une baisse rapide et profonde de la testostéronémie sans inflammation, associée à une baisse rapide de la valeur du PSA ; l'action est comparable à celle de la castration chirurgicale, de plus elle est réversible (Boccon-Gibod et al., 2010).
- **le bicalutamide** : qui va bloquer de manière compétitive la liaison entre la dihydrotestostérone (DHT) et le récepteur aux androgènes au niveau des cellules tumorales.

❖ Les hormonothérapies de seconde génération

- **l'acétate d'abiratéron** : qui supprime la production de testostérone par les surrénales,
- **l'enzalutamide, l'apalutamide et le darolutamide** : qui inhibent, au niveau de la cellule tumorale, la liaison DHT et récepteur aux androgènes (RA), la translocation nucléaire du RA et la transcription médiée par le RA (Kaulanjan et al., 2020).

○ *La chimiothérapie*

La chimiothérapie est un traitement général, également appelé traitement systémique, car il circule et agit dans l'ensemble du corps. Cela permet d'atteindre les cellules cancéreuses quelle que soit leur localisation, même si elles sont isolées et ne sont pas repérables par les examens. Les médicaments de chimiothérapie agissent sur les mécanismes de la division cellulaire, ils empêchent la multiplication rapide des cellules cancéreuses et freinent leur prolifération (Berthold et al., 2008). Elle peut être indiquée pour traiter des cancers

métastatiques hormonorésistants (c'est-à-dire qui ne sont pas sensibles à l'effet d'une hormonothérapie), lors de l'apparition de douleurs osseuses métastatiques ou d'altération de l'état général ou encore en cas de progression rapide de la maladie.

Les molécules les plus fréquemment employées dans les médicaments sont le docétaxel et le mitoxantrone (Medioni, 2008).

5. LES BIOMARQUEURS BIOLOGIQUES

De multiples biomarqueurs sériques ou sanguins ont une importance significative dans le pronostic et la progression des états cliniques du CaP, notamment le PSA (Saad et Eisenberger, 2014). Les biomarqueurs du cancer sont soit des biomolécules synthétisées par la cellule tumorale (ADN, ARN) et jouent un rôle dans la détection précoce du cancer et la détermination de son stade et de sa progression, soit des substances (protéines, hormones) présentes naturellement dans la cellule qui, en cas de stress, vont être surexprimées. Ils sont mesurés à partir d'une biopsie tissulaire ou d'une biopsie liquide (sang, urine, salive...); le dosage élevé de biomarqueurs peut indiquer la présence d'un cancer. Ils peuvent être spécifiques à certains cancers, ou communs à différents cancers. Les biomarqueurs en oncologie ouvrent la voie de la personnalisation thérapeutique.

Le dosage sérique de ces biomarqueurs pourrait être utile dans le dépistage du cancer, son diagnostic précoce, la détermination de son stade (propagation) ou de son pronostic (agressivité de la tumeur). Il est également utile pour choisir et surveiller le traitement, évaluer son efficacité (réponse) ou encore estimer le risque de récurrence (marqueur prédictif). (Merlin, 2014).

5.1. Classifications des biomarqueurs

5.1.1. Selon leur nature biochimique

En fonction de la nature biochimique du biomarqueur recherché, peuvent être appliquées des techniques d'analyses de biologie moléculaire afin de détecter la présence du marqueur cible ainsi de déterminer sa valeur quantitative ou qualitative, de ce fait il existe quatre types de biomarqueur différents :

➤ Biomarqueurs génomiques et biomarqueurs transcriptomiques

Les biomarqueurs génomiques (ADN) et les biomarqueurs transcriptomiques (ARNm) sont communément regroupés sous le terme de pharmacogénomique. La génomique consiste en l'étude et l'analyse des séquences d'acides nucléiques (ADN et ARNm) du point de vue

qualitatif et/ou quantitatif. Dans le domaine de la génétique, l'étude des variations génétiques à deux principaux domaines d'application : établir une corrélation entre une variation génétique et une pathologie et une corrélation entre une variation génétique et des niveaux de réponse à un traitement (Marrer, 2007).

➤ **Biomarqueur protéomique**

Des groupes de protéines différents sont produits en fonction de la lignée cellulaire et du stade de développement de la cellule. La protéomique étudie alors les variations des taux d'expressions des différentes protéines en fonction du temps, de leur environnement, de leur état de développement, de leur état physiologique et pathologique, de l'espèce d'origine, etc ... Elle étudie aussi les interactions des protéines avec leurs partenaires et avec leur environnement (Scaros et Fisler, 2005).

➤ **Biomarqueur métabolomique**

La métabolomique consiste à établir le profil d'expression des métabolites endogènes issus des processus biologiques dans les liquides biologiques ou les tissus (Scaros et Fisler, 2005 ; Marrer, 2007).

5.1.2. Selon leurs fonctions

L'utilisation d'un biomarqueur au cours d'un essai clinique répondant à un objectif préalablement défini ; il est possible de classer les biomarqueurs selon les différents types d'objectifs suivants :

- ❖ **Biomarqueurs physiopathologiques et biomarqueurs de diagnostic** : ont pour objectif d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques permettant l'approfondissement de la connaissance des mécanismes physiopathologiques et permettant de diagnostiquer les patients atteints de la pathologie étudiée.
- ❖ **Biomarqueurs pronostiques** : ont pour objectif de déterminer l'évolution prévisible de la maladie et le niveau de risque qui y est associé pour le patient.
- ❖ **Biomarqueurs prédictifs de la pharmacodynamie** : ils s'intéressent à l'activité biologique du traitement.
- ❖ **Biomarqueurs prédictifs de l'effet thérapeutique** : reflétant l'activité thérapeutique du traitement (Fraser et Meyer, 2007 ; McShane et al., 2009).

5.1.3. Selon la nature de la variable mesurée par la méthode de dosage du biomarqueur

Il est possible de classer les biomarqueurs selon la nature de la variable mesurée par la méthode de dosage du biomarqueur : biomarqueur quantitatif, biomarqueur quantitatif relatif, biomarqueur quasi-quantitatif, biomarqueur qualitatif (Cummins et al., 2008).

5.2. Les Critères d'un biomarqueur tumorale idéal

Le terme d'un marqueur tumoral (MT) a été précisé en 1975 par Heberman à la conférence du *NCI Advances in Cancer Management* en définissant les critères d'un MT idéal :

- **Application facile** : dosage simple doit être standardisé, de faible coût et reproductible avec des valeurs de référence clairement établies par rapport à des étalons internationaux.
- **Délectabilité** : existence de méthode de dosage permettant la mesure de différence quantitativement significative entre le taux des sujets normaux et ceux des patients atteints par le cancer.
- **Sensibilité** : permette de reconnaître seulement le taux des vrais positifs (vrais malades)
- **Spécificité** : permette de reconnaître le taux des faux positifs (non malades) ; il existe de nombreuses situations pouvant conduire à des valeurs augmentées de marqueurs et donc à des faux positifs, soit de manière artéfactuelle, soit en conséquence à des circonstances physiologiques, des pathologies bénignes ou non tumorales, pouvant conduire à des investigations complexes et coûteuses (**Tableau 4**).
- **Corrélation avec la masse des cellules tumorales** : permettant le suivi thérapeutique par dosage répétitifs en fonction du mauvais ou du bon pronostic et la détection précoce de la récurrence ou de la métastase (Lacave et al., 2005 ; Perrier et al., 2022).

Tableau 4. situation et pathologie associées à une augmentation du principale biomarqueur tumorale conventionnel (PSA) (Perrier et al., 2022).

Situations et pathologies associées à une augmentation		
Nom du biomarqueur tumoral	Pathologies tumorales	Circonstances non tumorales
PSA	Cancer de la prostate	Hypertrophie bénigne de la prostate Prostatite Infection urinaire Intervention ou examen médical récemment pratiqué sur la prostate (échographie transrectale, biopsie) Sonde urinaire Rétention aiguë d'urine Examen de la vessie Hépatite A Décompensation cardiaque et rénale Activité sexuelle avec éjaculation récente (48 h) Longue promenade récente en vélo Chimiothérapie incluant du cyclophosphamide et méthotrexate NB. : Les personnes afro-américaines ainsi que les personnes âgées ont des taux moyens plus élevés de PSA ; les populations asiatiques des taux plus faibles en moyenne.

5.3. Évaluation de pronostique et utilité clinique d'un biomarqueur tumorale

Un biomarqueur pronostique est utilisé pour identifier la probabilité d'un événement clinique, d'une récurrence ou d'une progression de la maladie chez les patients atteints par cette pathologie. Certains MT peuvent être utilisés dans le cadre pronostic car ils sont le reflet de l'extension tumorale. Ainsi, plus le marqueur est en concentration élevée, plus la masse tumorale est importante et plus le pronostic est réservé. L'élévation du taux d'un MT peut refléter :

- La présence d'un cancer ;
- La reprise évolutive de la maladie cancéreuse ;
- La présence d'une pathologie bénigne ;
- La réponse ou la non-réponse à un traitement ; certaines circonstances physiologiques.

Les performances des marqueurs sont donc très dépendantes du cadre nosologique de leur prescription (Perrier, 2016).

Chapitre II

La protéine de choc thermique (HSP27)

1. GENERALITES SUR LES HSPS

Les protéines de choc thermique (HSPs) constituent une grande famille de protéines chaperonnes homologues hautement conservées qui sont induites en réponse à des stress environnementaux (exposition à un choc thermique, à des métaux lourds ou à des oxydants), physiques (infections virales et microbiennes, inflammation, ischémie) et chimiques (administration de certains médicaments antinéoplasiques, quercétine, thiols, cisplatine...) (Schlesinger, 1990). Les HSPs sont synthétisées au cours du développement et de la croissance cellulaire, et leur expression s'avère étroitement corrélée au degré de différenciation de la cellule (Arrigo, 1994 ; Arrigo, 1998).

Certaines HSPs sont exprimées, dans des conditions physiologiques normales (de manière constitutive), et sont associées à des organelles intracellulaires spécifiques; d'autres sont rapidement induites en réponse à un stress cellulaire (**Figure 10**) (Beere, 2001). Elles jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie cellulaire normale et agissent comme des chaperons moléculaires, protégeant les cellules contre les lésions liées au stress, limitent les conséquences des dommages et facilitent la récupération cellulaire (Whitley et al., 1999 ; Beere, 2004).

Il a été démontré que diverses HSPs agissent comme des molécules de signalisation intercellulaire, ce qui justifie leur inclusion parmi les hormones, les cytokines et les facteurs de croissance. Ces protéines ont très certainement un rôle central dans la progression du cycle cellulaire et dans la mort cellulaire programmée (apoptose) et sont impliquées dans de nombreux processus pathologiques (Khalil et al., 2011).

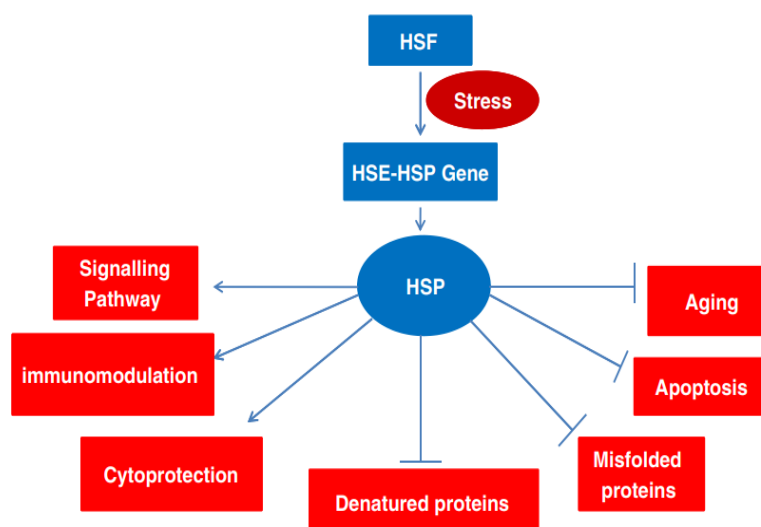


Figure 10. Fonctions de HSP dans des conditions physiologiques et de stress (Khalil et al., 2011).

Les HSPs confèrent une résistance au stress en empêchant l'accumulation de protéines mal repliées ou dénaturées dans la cellule facilitant ainsi la protéostase et la survie cellulaire (Ehrensperger et al., 1997 ; Haslbeck, 2002). Ainsi, ces protéines sont rapidement induites par des mécanismes de transcription et de traduction. Le mécanisme de production des HSPs et leur activation sont illustrés dans la **Figure 11**. La réponse inductible au choc thermique implique une voie de signalisation conduisant à l'activation de facteurs de transcription. La transcription des gènes *HSP* est sous le contrôle d'une famille de facteurs de transcription du choc thermique (HSF) (Khalil et al., 2011).

Les HSPs sont souvent surexprimées et associées à une augmentation de la tumorigénicité, du potentiel métastatique et de la résistance à la chimiothérapie (Accunzo et al., 2012).

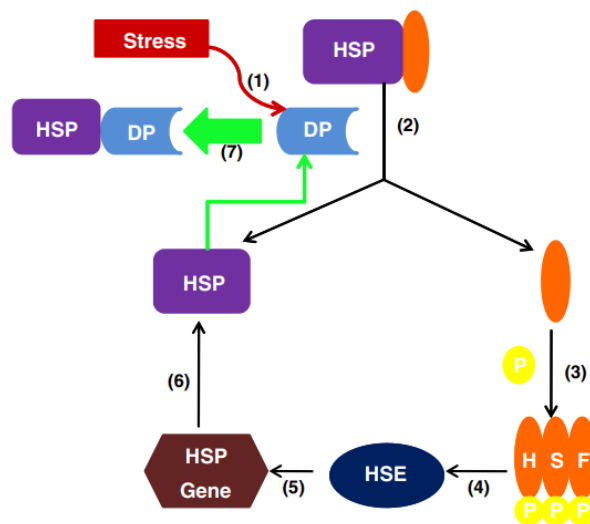


Figure 11. Mécanisme d'activation des HSPs et de réparation des protéines dénaturées (PD).

(1) Les conditions de stress entraînent une dénaturation des protéines. (2) La présence de PD stimule la dissociation du complexe HSP-HSF. Ce complexe limite le processus de transcription en l'absence de PD. (3) Tandis que la HSP est libre de se lier à la PD, la HSF est activée par phosphorylation et trimérisation afin de produire plus de HSPs. (4) Le HSF activé peut alors se lier à l'élément de choc thermique (HSE). (5) L'HSE fait partie de la région promotrice du gène HSP. (6) Une grande quantité de HSP est produite. (7) Les HSPs nouvellement formées sont capables de se lier à davantage de PD (Khalil et al., 2011).

Malgré son rôle protecteur dans la physiologie cellulaire normale, la surexpression d'HSP27 dans diverses lignées cellulaires cancéreuses est impliquée dans l'initiation, la progression et la métastase de la tumeur par divers mécanismes (Lampros et al., 2022). C'est une molécule chaperonne indépendante de l'adénosine triphosphate qui est fortement induite lors des réponses au stress et forme des oligomères pour interagir avec une grande variété de protéines clientes, empêchant ainsi leur agrégation (Miller et al., 2005) **Tableau 5**.

Tableau 5. Résumé des membres, des emplacements cellulaires et des fonctions des familles de protéines de choc thermique (Chen et al., 2022).

Familles	Principaux membres et emplacement		Caractéristiques	fonctions
Petits HSP	HSPB1- HSPB10	Cytosol Mitochondries Noyau	Grands oligomères hétérogènes indépendants de l'ATP	* Fonctionne comme support pour empêcher l'agrégation ; * séquestrer les protéines mal repliées ;
HSP40/ ADNJ	ADNJA ADNJB DNAJC	Cytosol Mitochondries Noyau	Interagissent avec HSP70	* Servir de cochaperon de HSP70, régulant l'activité ATPase de HSP70 ; * Tenir les substrats mal pliés et recruter HSP70 ;
HSP60	HSP60	Mitochondries	La structure à double anneau contient deux anneaux heptamères de HSP60, coopère avec HSP10 ; Dépendant de l'ATP	* Empêche l'agrégation des protéines.
HSP70	HSPA1A/1B HSPA1L HSPA2 HSPA6 HSPA7 HSPA8 HSPA12A/12B HSPA13 HSPA14	Cytosol Noyau	Structure conservée contenant les domaines NTD-SBD ; Fonction chaperon basée sur le cycle de changement de conformation allostérique de manière dépendante de l'ATP	* Agissent comme des fixateurs, des plieurs, empêchent l'agrégation et assurent le triage des protéines.
HSP90	HSP90AA HSP90AB GRP9 TRAP1	Cytosol Noyau	Forme un homodimère et subit un changement de conformation allostérique ouvert-fermé au cours du processus de repliement ; Dépendant de l'ATP	* Foldase pour les protéines synthétisées de nouveau et les protéines mal repliées ; les principaux substrats sont les kinases et les récepteurs stéroïdiens.

2. LOCALISATION ET STRUCTURE DE HSP27

La protéine humaine HSP27 est une protéine qui fait partie de la famille des petites protéines de choc thermique ou *small Heat shock proteins* (sHSP), elle a été découverte au début des années 1980 lorsque l'on s'est aperçu que l'incubation de cellules HeLa à de hautes températures était associée à la synthèse d'une protéine inconnue de 27 kDa (Hickey and Weber., 1982). HSP27 est également connue sous le nom de protéine de choc thermique b-1 (HSPB1). Chez l'humain, HSPB1 fait partie d'une famille de dix protéines différentes (dénommées HSPB1 à HSPB10) (Kappe et al., 2003, Stock et al., 2003).

HSP27 est une phosphoprotéine cellulaire majeure (Kim et al., 1984) codée par le gène *HSPB1* localisé sur le chromosome 7 dont le locus est 7q11.23 (**Figure 12a**) (Hickey et al., 1986 ; Shahin., 2019). Son gène contient 500 pb avec trois exons et deux introns (**Figure**

12b) (Ojima et al., 2008), une séquence Sp1 et un élément palindromique lui permettant d'être régulée par la progestérone et les œstrogènes (Porter et al., 1996 ; Ciocca et al., 1983).

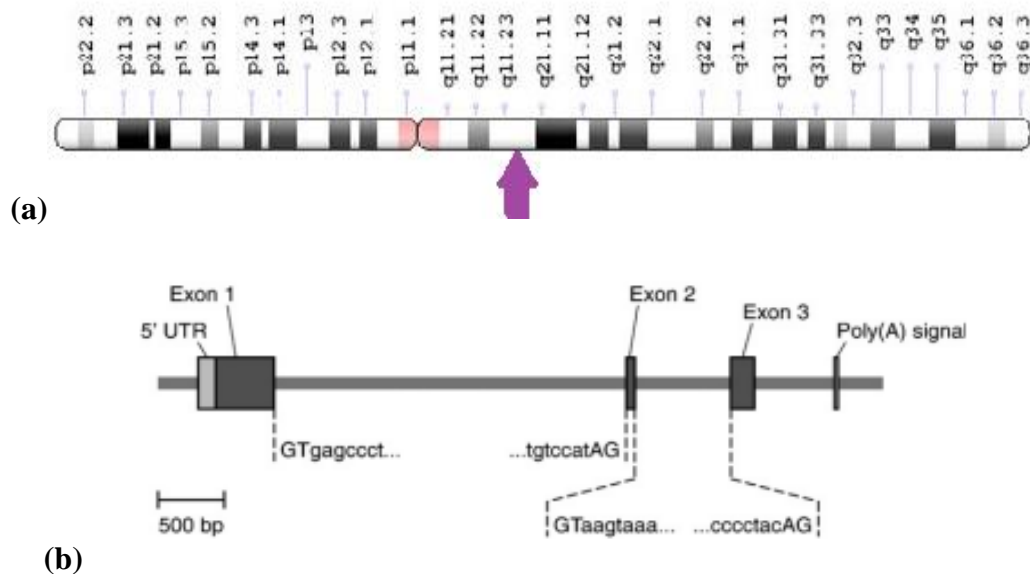


Figure 12. Localisation et structure du Gene *HSPB1* (Ojima et al., 2008).

(a) Vue schématique du chromosome 7, dont le gène *HSPB1* est situé dans le bras long 7q11.23 (Shahin, 2019). (b) structure du gène *HSPB1*: Les cases gris foncé représentent le cadre de lecture ouvert. Les extrémités 5' et 3' des séquences d'intron sont indiquées en minuscules et la séquence consensus GT/AG pour les sites donneurs/accepteurs d'épissage en majuscules (Ojima et al., 2008).

HSP27 est une protéine oligomérique caractérisée par des tailles natives dynamiques et hétérogènes comprises entre 50 et 700 kDa (Arrigo, 2011). Elle est constituée de 205 résidus (acides aminés) constituant trois parties. La partie N-terminale contient deux régions partiellement conservées: le domaine hydrophobe WDPF (W: tryptophane, D: acide aspartique, P: proline, et F: phenylalanine) essentiel à son oligomérisation et permet la formation de grands oligomères (McDonald et al., 2012), et la séquence : PSRLFDQXFGELL (dont X est un acide aminé quelconque). On trouve ensuite le domaine α -crystallin (ACD), composé de 90 résidus qui est responsable de la structure native de toutes les petites protéines de choc thermique (Plesofsky-Vig et al., 1992 ; Kim et al., 1998 ; Bova et al., 2000 ; van Montfort et al., 2001), enfin, la partie C-terminale qui supporte la fonction d'oligomérisation. Les autres régions remarquables de sa structure secondaire sont la queue flexible C-terminale de 22 résidus qui est hautement conservée parmi les HSPs composé de 80-100 résidus et contient habituellement un motif IXI/V conservé dans lequel X est typiquement un résidu de proline (I=Isoleucin-X-I=Isoleucin/V=Valin) (**Figure 13**) (de Jong et al., 1998 ; Gusev et al., 2002 ; Kappe et al., 2003 ; Lelj-Garolla and Mauk, 2005 ; Kappe et al., 2010). Cette région

IXI/V interagit avec le sillon β 4- β 8 dans l'ACD d'autres sous-unités HSP27 afin de former des oligomères (Rauch et al., 2017).

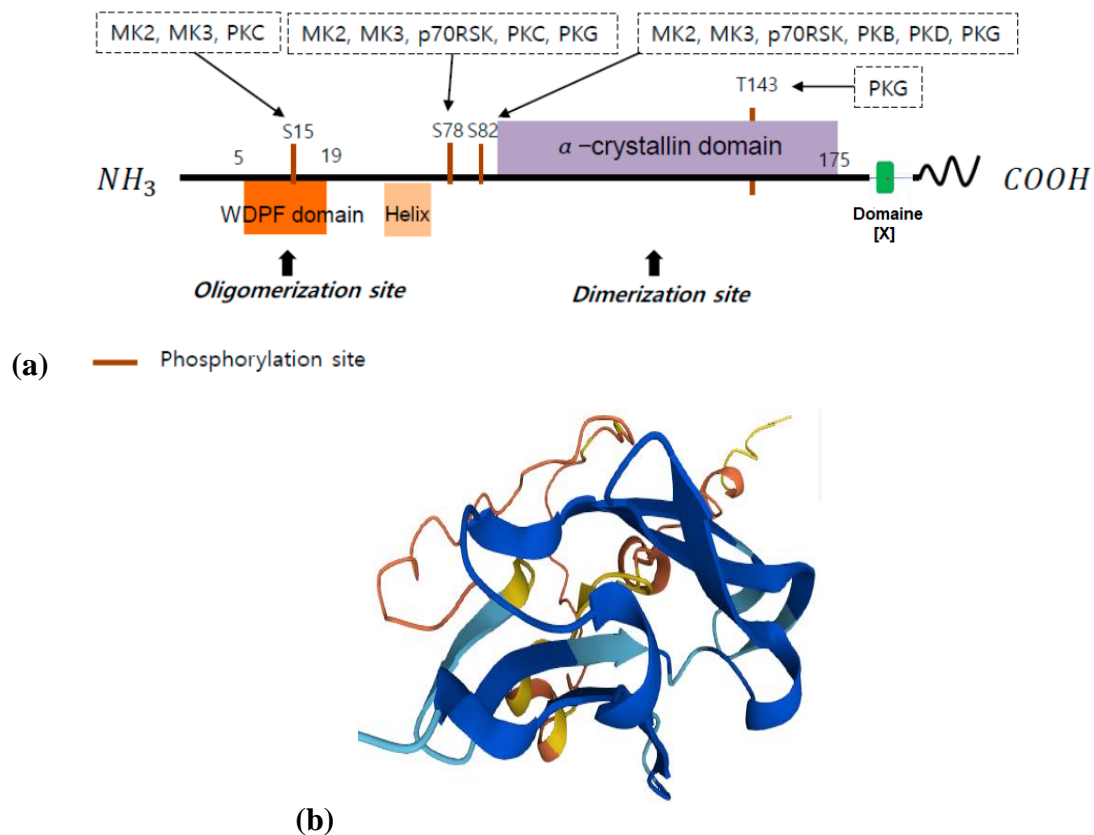


Figure 13. (a) Structure et sites de phosphorylation de HSP27 (Choi et al., 2019). (b) Structure 3D d'HSP27 (<https://www.uniprot.org/uniprotkb/P02518/entry#structure> (consulté Décembre, 2022)).

La structure de la HSP27 humaine comprend le domaine N-terminal, le domaine α -rystalline et le domaine C-terminal. Le domaine N-terminal contient un motif WDPF qui est essentiel pour une oligomérisation importante. Le domaine C-terminal comprend un motif α -crystalline hautement conservé entre les espèces et impliqué dans la formation de petites oligomérisations. Les sites de phosphorylation S15, S78, S82 et T143 de HSP27 sont indiqués. S15 peut être phosphorylée par p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK)-activated protein kinase 2 (MK2) et 3 (MK3), et protein kinase C (PKC). S78 peut être phosphorylé par MK2, MK3, kinase ribosomale S6 (p70RSK), PKC, et la protéine kinase G G (PKG). La protéine S82 peut être phosphorylée par MK2, MK3, p70RSK, la protéine kinase B (PKB), la protéine kinase D (PKD) et la PKG. T143 peut être phosphorylé.

La structure secondaire de HSP27 révèle une prédominance de structures de type feuillettes β , tandis que les enroulements de type hélices α ne représentent que 5 % de la conformation protéique totale. Des hélices α , présentant un caractère hautement hydrophobe, ont cependant été identifiées au niveau des extrémités amino et carboxy-terminales de certaines HSPs (dont

l'HSP27). Elles pourraient favoriser certaines interactions de ces protéines, entre elles avec les membranes ou encore avec d'autres protéines (Arrigo et al., 1994).

L'acquisition de la structure tridimensionnelle et quaternaire oligomérique nécessaire aux fonctions de HSP27 dépend de ces différentes régions. A l'instar des autres membres de la famille des HSPs, HSP27 est active sous la forme de complexes dont la taille varie de 50 à 800 kDa (Arrigo et Ahmad-Zadeh, 1981 ; Arrigo et al., 1985). Il arrive que HSP27 forme des hétérooligomères plus ou moins stables avec d'autres HSPs, telles que l' α B-cristallin et HSP22. Le domaine α -cristallin comprend notamment une région située entre les résidus 133 et 144 essentielle au contact entre monomères, au sein de laquelle le résidu Cys¹³⁷ contribue à la stabilité des dimères par formation de ponts disulfures (Zavialov et al., 1998). L'extrémité N-terminale, en particulier le motif WDPF, intervient dans la stabilisation des oligomères (Lambert et al., 1999 ; Liu et Welsh, 1999). La queue C-terminale permettrait elle aussi de stabiliser les complexes par des interactions polaires dues à ses charges négatives (Boelens et al., 1998). En cas de stress cellulaire, la protéine humaine HSP27 peut être phosphorylée principalement au niveau de trois résidus sérine en position 15, 78 et 82 et en la thréonine Thr143 par de nombreuses kinases dont MAPKAP kinases 2 et 3, p90Rsk, PKC, PKD et PKG (**Figure 13**) (Kostenko and Moens, 2009). La phosphorylation est un processus qui conduit à la dissociation de grands oligomères en dimères actifs (Kho et al., 2021). C'est un phénomène réversible qui module l'oligomérisation de HSP27. La déphosphorylation de HSP27 entraîne la formation d'oligomères de haut poids moléculaire qui peuvent atteindre 1000 KDa (**Figure 14**) (Cairns et al., 1994 ; Shin et al., 2005 ; Gobbo et al., 2011).

L'oligomérisation de HSP27 est un processus très dynamique dépendant de plusieurs paramètres physico-chimiques ainsi que biologiques qui semble jouer un rôle central dans la régulation de l'activité chaperonne de HSP27. La phosphorylation de HSP27 est le plus connu. Les oligomères de HSP27 ont une apparence globulaire et sphérique en microscopie électronique, qui refléterait la formation d'un complexe composé de 24 monomères associés entre eux, le multimère étant l'état compétent pour l'affinité avec les protéines clientes (Arrigo et al., 1988a ; Rogalla et al., 1999 ; Shashidharamurthy et al., 2005). Les oligomères de HSP27 sont probablement constituées de dimères stables formés de deux domaines α -cristallin. Les dimères stables s'agrègent en tétramères et forment finalement des oligomères instables (Gusev et al., 2002). Le choc thermique induit une redistribution dynamique des structures oligomériques de HSPB1 dépendante de la phosphorylation, caractérisée par un déplacement transitoire et rapide vers de petits oligomères. Le phénomène est transitoire et suivi par le rétablissement de la grande population d'oligomères HSPB1 (Arrigo, 2011).

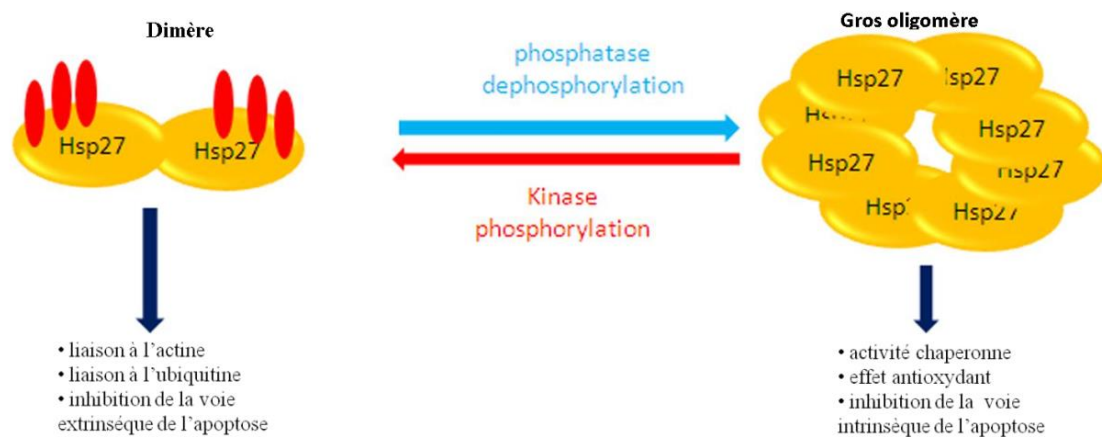


Figure 14. Phosphorylisation et oligomérisation de HSP27 (Katsogiannou et al., 2014).

3. EXPRESSION ET FONCTION DE HSP27

HSP27 est exprimée dans tous les tissus de l'organisme humain de manière ubiquitaire, et de manière plus forte dans les muscles squelettiques, les muscles lisses, et les muscles cardiaques (Kato et al., 1992). Sa synthèse est stimulée lorsque les cellules sont exposées à des conditions de stress sublétales qui altèrent le repliement des protéines (Arrigo and Landry, 1994). Cela conduit à une résistance accrue des cellules aux chocs thermiques et aux lésions oxydatives (Kappe et al., 2003). Elle est exprimée de manière constitutive à des faibles concentrations dans le cytosol de la plupart des cellules humaines notamment dans des conditions pathologiques (Lindquist et Craig, 1988), mais dans certaines conditions de stress, elle est redistribuée dans le noyau ou dans le cytosquelette (McClaren et Isseroff, 1994 ; Sakamoto, 1998 ; Van de Klundert et al., 1998 ; Arts et al., 1999). L'expression de HSP27 est régulée au niveau transcriptionnel (Frohli et al., 1993).

La protéine HSP27 est impliquée dans les processus de développement et de différenciation cellulaire. Elle assure par ailleurs un panel d'autres fonctions essentielles au maintien de l'intégrité et de la survie cellulaires, telles que l'activité chaperonne, la cytoprotection, l'activité anti-apoptotique, la migration cellulaire, l'invasivité et également dans la transduction du signal (**Figure 15**).

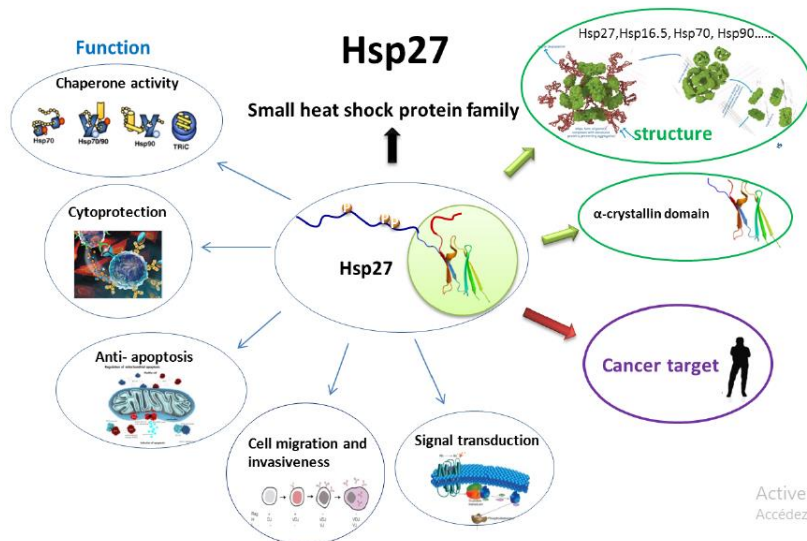


Figure 15. Fonctions de HSP27 (Zhang, 2014).

3.1. Activité chaperonne

HSP27, en agissant de façon coordonnée avec les autres HSPs, facilite indirectement la réparation des protéines endommagées suite à un stress. Son efficacité en tant que chaperon moléculaire réside dans sa faculté de s'oligomériser, ce qui lui permet de lier un grand nombre de protéines dénaturées, et de conduire leur dégradation par le système ubiquitine/protéasome, et donc de prévenir la toxicité due à la formation d'agrégats protéiques (Jakob et al., 1993 ; Rogalla et al., 1999).

La protéine HSP27 est un chaperon moléculaire indépendant de l'ATP. Elle agit en aidant d'autres HSPs, telles que HSP70 et HSP40, qui sont dépendantes de l'ATP. Dans les conditions normales, les protéines sont dans leur état plié natif. À la suite d'un stress, l'intégrité des protéines disparaît ; ceux-ci se transforment en une forme mal repliée, qui participe à la formation de complexes agrégés dans le cytosol. Le rôle principal de HSP27 est de protéger les protéines mal repliées en empêchant leur agrégation, ce qui entraînerait leur dépliage ou leur dégradation. Dans les conditions normales, HSF1 se lie à HSP90 et, à la suite de la dénaturation des protéines en cas de stress cellulaire, elle se libère et se lie à HSE, puis régule alors l'expression de HSP27, HSP70 et HSP40. L'accumulation de protéines non repliées entraîne la séparation de HSF1 et de HSP90 qui se lie à HSE nucléaire dans la région promotrice des HSPs, ce qui induit la transcription des protéines HSP70, HSP40 et HSP90 et HSP27 (Landis et al., 2012 ; Behdarvandy, 2019). Après la traduction, HSP27 sous forme de grandes structures oligomériques, subissent une phosphorylation et une réorganisation en dimères ou tétramères de faible poids moléculaire qui se lient aux protéines

mal repliées et empêchent la formation de complexes d'agrégation. La HSP27 peut alors replier les protéines mal repliées, soit en les transférant à des chaperons dépendants de l'adénosine triphosphate (ATP), telles que HSP70-HSP40, soit en les envoyant au protéasome pour qu'elles soient dégradées (Laskowska 2007 ; Stetler et al., 2009 ; Laskowska et al., 2010). Les protéines mal repliées qui n'ont pas été modifiées par les chaperons, sont ciblées pour dégradation dans la voie de l'ubiquitine (Ubq)-protéasome ou par l'autophagie médiée par les lysosomes (**Figure 16**) (Jiang et al., 2011 ; Behdarvandy, 2019).

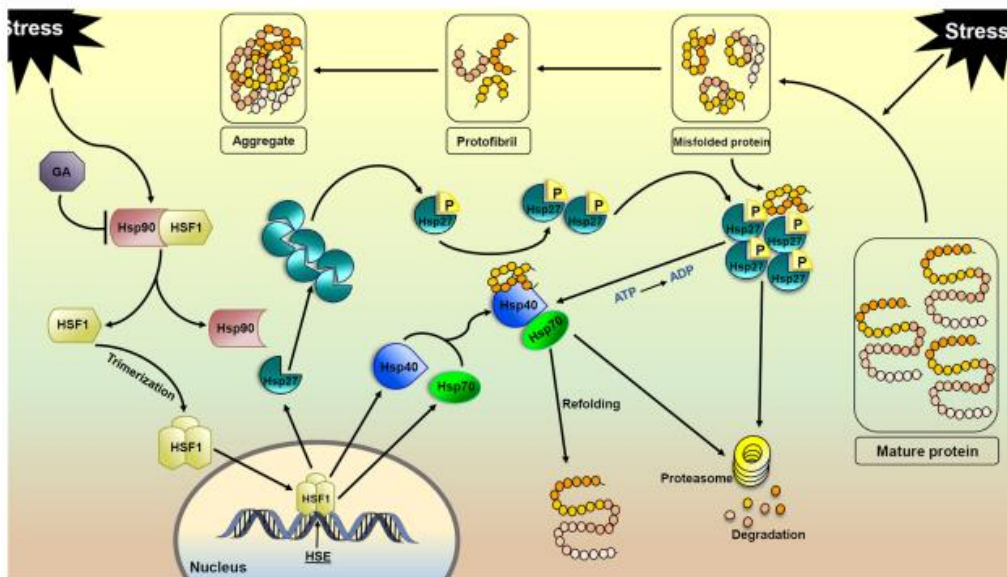


Figure 16. Fonction chaperon de HSP27 (Behdarvandy, 2019).

3.2. Inhibition de l'apoptose

Le terme apoptose désigne une mort cellulaire programmée. L'apoptose est un processus fondamental tant au cours du développement que pour l'homéostasie générale d'un organisme (Kerr et al., 1972). L'apoptose induit de nombreux changements morphologiques de la cellule comme la condensation nucléaire, le clivage de l'ADN et de protéines nécessaires au maintien de l'intégrité cellulaire ainsi que le remodelage de la membrane plasmique avec la présence de corps apoptotiques. Deux voies de signalisation majeures conduisent à l'apoptose: la voie mitochondriale ou intrinsèque et la voie des récepteurs de mort dite extrinsèque (**Figure 17**).

HSP27 est capable de bloquer l'apoptose à différents stades, en raison de son interaction avec un certain nombre de partenaires impliqués dans le processus d'apoptose (Wang et al., 2014). La voie intrinsèque est basée sur l'activation des caspases par le cytochrome-c. Les caspases sont des protéases qui induisent le clivage des protéines et engendrent l'apoptose (Fischer et al., 2003). Le cytochrome-c est libéré par la mitochondrie à la suite de signaux tels

que le stress oxydatif ou irradiation γ dans le cytosole ; le cytochrome c peut alors interagir avec le facteur 1 activant la protéase apoptotique Apaf-1, la procaspase-9 et le dATP formant ce qu'on appelle l'apoptosome (complexe d'activation de la caspase-3) (Li et al., 1997 ; Hu et al., 1999 ; Mymrikov, 2011). Des études ont montrées que HSP27 peut se lier au cytochrome c en quittant la mitochondrie et ainsi bloquer la formation de l'apoptosome, et l'activation subséquente de la caspase 9 qui clive à son tour la procaspase-3, le principal effecteur de la caspase au cours de l'apoptose (Garrido et al., 1999 ; Bruey et al., 2000a ; Concannon et al., 2001 ; Mymrikov, 2011). Rocchi et al. (2006) ont montré que la déplétion de HSP27 dans des cellules de CaP induit l'apoptose *via* l'activation de la caspase 3. D'autre études ont montrées que HSP27 peut bloquer la voie intrinsèque de l'apoptose en amont de l'activation mitochondriale, c'est-à-dire en prévenant le relargage du cytochrome c dans le cytosol (Samali et al., 2001 ; Paul et al., 2010). HSP27 agit aussi au niveau de la voie extrinsèque de l'apoptose, c'est-à-dire celle qui est activée par la liaison des récepteurs de mort Fas ou DR4/DR5 avec leurs agonistes Fas Ligand (FasL) ou TRAIL. Dans ce mode de déclenchement de l'apoptose qui requiert une stimulation externe, le module de transmission du signal associé à Fas aboutit à l'activation de la caspase 8, qui à son tour active les caspases effectrices (caspases 3, 6 et 7). HSP27 inhibe l'apoptose induite par la liaison de FasL à son récepteur (Mehlen et al., 1996). HSP27 peut également s'associer à la protéine Daxx, un médiateur de l'apoptose induite par l'interaction Fas/FasL (Charrette et Landry, 2000).

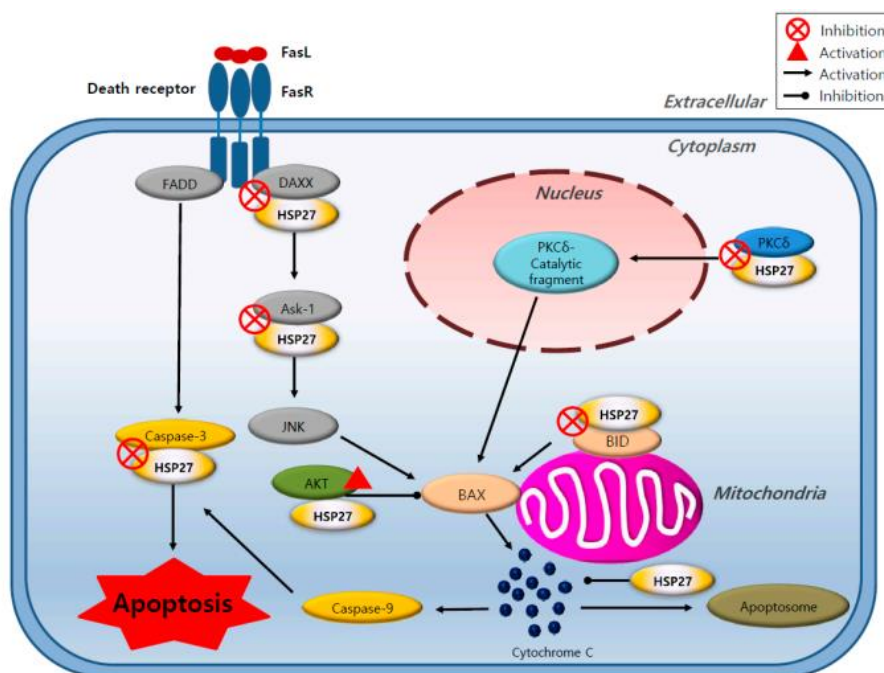


Figure 17. Effets différentiels de HSP27 sur les différentes voies apoptotiques (Choi et al., 2019).

HSP27 inhibe l'apoptose en s'intégrant à différentes voies de signalisation, y compris les voies d'apoptose extrinsèque et intrinsèque. HSP27 inhibe la protéine X associée à Bcl-2 (BAX) en se liant directement à la protéine associée au domaine de la mort (DAXX) ou à la protéine régulant le signal de l'apoptose, la kinase-1 (Ask-1) pour inhiber sa fonction, ce qui renforce l'activité de l'AKT en inhibant l'agoniste de la mort à domaine d'interaction BH3 (BAD) ou la fonction de la protéine kinase C de type delta (PKC δ). HSP27 inhibe la caspase 3, qui intervient directement dans l'apoptose cellulaire. HSP27 contribue à la survie cellulaire (Choi et al., 2019).

L'apoptose induite par Daxx est indépendante des caspases. HSP27 agit en empêchant l'interaction de Daxx avec Fas (Charette et al., 2000). Enfin HSP27 prévient l'activation de Bax, un facteur cytosolique proapoptotique, par interaction avec la voie de la phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) et activation de la kinase Akt (Havasi et al., 2008). HSP27, interfère avec le processus de mort cellulaire déclenché par certains inducteurs de stress oxydatif, tels que le récepteur de la mort TNF α et conduit à l'activation directe des caspases (caspase 8 et 10) (Arrigo, 1998 ; Luo et al., 1998).

3.3. Activité anti-oxydante

L'oxygène est indispensable à la production d'énergie par nos cellules. 3 à 10% de l'oxygène apporté aux cellules aérobies est converti en espèces réactives oxygénées (ROS). Les ROS sont des molécules très instables et destructrices pour les cellules car elles sont capables de réagir avec l'ADN, les protéines, les lipides et les glucides. La régulation de leur production est assurée par les enzymes antioxydantes (glutathion transférase, reductase, peroxidase) et permet de maintenir un équilibre. Le stress oxydatif est dû à un déséquilibre entre ROS et antioxydants qui aboutit à une augmentation néfaste de la concentration de ROS. Le stress oxydatif est engendré par différents facteurs (facteurs de stress, hyperperoxyde, etc...) et peut favoriser le développement de plusieurs pathologies (alzheimer, sclérose latérale amyotrophique, vieillissement accéléré, cancers, etc...) Dans des conditions de stress oxydatif, HSP27 ainsi que d'autres HSPs sont surexprimées et diminuent le niveau de production des ROS (Mehlen et al., 1996 ; Garrido et al., 1997 ; Mehlen et al., 1997 ; Preville et al., 1999 ; Arrigo, 2007).

Sous sa forme de gros oligomères déphosphorylés, HSP27 favorise l'action des antioxydants en induisant l'activité de certaines enzymes (glutathion transférase, reductase, peroxidase). Ces enzymes sont vitales pour détoxifier et maintenir le potentiel rédox intracellulaire (Preville et al., 1999 ; Escobedo et al., 2004 ; Arrigo et al., 2005). Pendant le stress oxydatif, HSP27 est surexprimé et agit comme un antioxydant, en réduisant le niveau

d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et en augmentant le niveau de glutathion (un antioxydant) intracellulaire qui joue lui-même un rôle dans la thermo-tolérance et l'induction des HSPs. HSP27 diminue également le niveau de fer intracellulaire ce qui a pour conséquence de réduire le stress oxydatif (Arrigo et al., 2005 ; Arrigo, 2007) et présente les protéines oxydées au protéasome pour les dégrader (**Figure 18**) (Arrigo, 2001).

Ainsi, HSP27 fonctionne comme un agent anti-apoptotique dans des conditions de stress chimique en interagissant avec les voies mitochondriales dépendantes et indépendantes de l'apoptose. Elle se lie à DAXX pendant l'apoptose médiée par Fas-FasL et empêche la liaison ultérieure d'Ask1 par DAXX (**Figure 18**). La HSP27 interagit également avec Bax et le cytochrome c, empêchant ainsi l'apoptose dépendante des mitochondries (Vidyasagar et al., 2012).

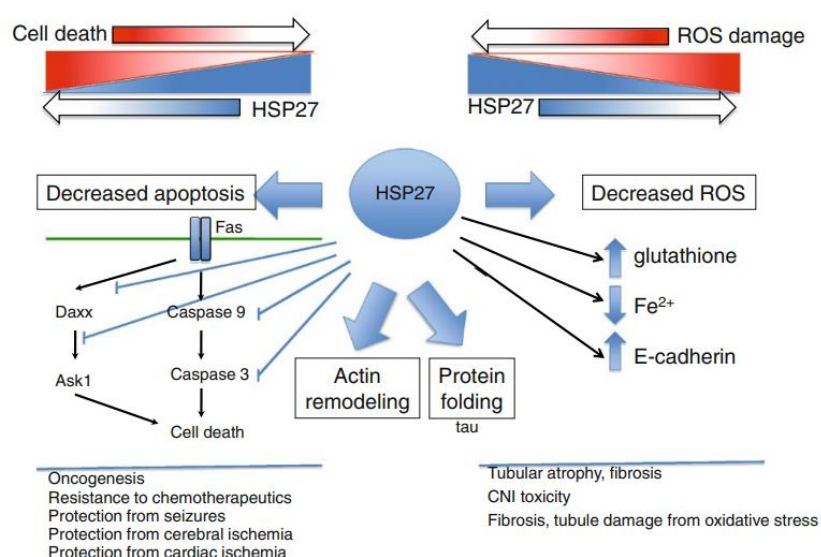


Figure 18. Résumé de certains des principaux mécanismes de HSP27 dans les états pathologiques (Vidyasagar et al., 2012).

Les principaux mécanismes d'action de HSP27 sont: le repliement des protéines, les effets sur le cytosquelette d'actine, la réduction du stress oxydatif et la suppression de divers modes d'apoptose ou d'autres types de mort cellulaire. La forte régulation qui est un biomarqueur de certains états pathologiques est probablement une tentative de sauvetage de la cellule par l'utilisation de HSP27 pour empêcher la mort cellulaire ou pour réduire le stress oxydatif local (Vidyasagar et al., 2012).

3.4. La régulation du cytosquelette

Le cytosquelette est un réseau de filaments cytosoliques constamment en mouvement. Il est constitué de trois types de filaments: les microtubules, les filaments intermédiaires et les microfilaments d'actine. Ces trois types se différencient par leur diamètre et leur localisation

dans la cellule. Lorsque les cellules sont soumises à un stress, HSP27 est alors surexprimée et se dirige vers le cytosquelette pour le protéger (Koh and Escobedo, 2004). Il a été montré que HSP27 stabilise, interagit directement avec l'actine et prévient la désagrégation des microfilaments en fonction de son état de phosphorylation et d'oligomérisation (Mounier and Arrigo, 2002 ; Ferns et al., 2006) et donc conduit à la protection de l'architecture cellulaire. HSP27 intervient également sous forme non phosphorylée et monomérique au niveau de l'actine libre en la coiffant pour inhiber sa polymérisation (Mounier and Arrigo, 2002). Elle joue un autre rôle important dans la régulation de la conformation du cytosquelette en impliquant tous les processus qui lui sont rattachés tels que la migration, la division cellulaire et la différenciation (Ibitayo et al., 1999 ; Somara and Bitar, 2004). De plus, il a été décrit que HSP27 peut se lier également avec d'autres types de protéines du cytosquelette tels que la tubuline (Hino et al., 2000), la vimentine, la nestine et les protéines de filaments intermédiaires (Lee et al., 2005 ; Jia et al., 2010). Une surexpression de HSP27 phosphorylable s'accompagne d'une augmentation de la concentration d'actine sous forme de microfilaments

3.5. Initiation de la traduction

L'inhibition de la synthèse des protéines pendant le choc thermique limite l'accumulation de protéines dépliées (non repliées) susceptibles d'endommager les cellules eucaryotes. HSP27 est un inhibiteur de la synthèse des protéines pendant le choc thermique (Cuesta et al., 2000), elle stabilise les ARNm en favorisant la dégradation du facteur AUF1 par le protéasome. AUF1 est une protéine qui induit la destruction d'ARNm *via* le recrutement de l'exosome (Sinsimer et al., 2008 ; Knapinska et al., 2011). D'autre part, HSP27 augmente la viabilité des facteurs d'initiation de la traduction, eIF4E et eIF4G, pour restaurer la traduction après un choc thermique (Doerwald et al., 2006). Andrieu et al. (2010) et Baylot et al. (2011) ont montré que HSP27 interagissait directement avec eIF4E pour protéger son ubiquitination et sa dégradation par le protéasome. Ainsi, HSP27 par chaperonnage d'eIF4E favorise l'initiation de la synthèse des protéines. Ces travaux ont été complétés en mettant en évidence six nouveaux inter-acteurs d'HSP27 : MAGEA2B, eIF3S1, eIF4A2, CDC123, eIF5 et RPSA qui sont des facteurs cruciaux dans l'initiation de la traduction (Katsogiannou et al., 2014).

3.6. La prolifération cellulaire

Dans le cas de stress, HSP27 peut agir sur la voie du NF- κ B (*Nuclear Factor KB*). Ce facteur de transcription régule la survie cellulaire, la prolifération et la différenciation.

L'action de HSP27 sur le NF- κ B provoque une augmentation de l'ubiquitination et de la dégradation protéasomique de son inhibiteur phosphorylé I-KB α . HSP27 a donc une action sur la prolifération cellulaire en libérant le facteur de transcription NF- κ B et en augmentant son activité (Parcellier et al., 2003). De même, HSP27 favorise l'ubiquitination et la dégradation protéasomale de la protéine p27^{Kip1}. Cette dernière étant un inhibiteur du cycle cellulaire, sa dégradation permet la progression de la phase G0/G1 à la phase S et la croissance des cellules après un stress (Parcellier et al., 2006). HSP27 possède la faculté d'interagir et de stabiliser le facteur de transcription STAT3 (*Signal Transducers and Activators of Transcription 3*) en favorisant la prolifération cellulaire. STAT3 est un oncogène impliqué dans la prolifération cellulaire et la survie ; c'est un activateur transcriptionnel des gènes codant deux anti-apoptotiques majeurs que sont BCL-XL et la survivine (Rocchi et al., 2005 ; Huang , 2007).

3.7. Fonction cytoprotectrice en thérapie anticancéreuse

Lors d'un traitement chimio-thérapeutique, les cellules cancéreuses subissent un stress important engendré par l'agent utilisé. Ainsi, il a été montré que les protéines de stress protègent les cellules contre l'action de nombreux inducteurs d'apoptose et de drogues anticancéreuses. Il est cependant remarquable de constater que le stress engendré par des traitements comme le cisplatine et l'adryamicine provoque l'accumulation des HSPs dans les cellules cancéreuses. La protection engendrée par les HSPs est donc amplifiée lors de la tumorigénèse (Ciocca et Calderwood, 2005). Les HSPs protègent la cellule tumorale contre différentes drogues utilisées en chimiothérapie en bloquant la mort cellulaire. HSP27 inhibe ainsi la mort induite par des agents comme l'etoposide, un inhibiteur de la topoisomérase 2, qui lui-même inhibe la synthèse de HSP27 lors du traitement de cancers ovariens et utérins (Tanaka et al., 2004). L'inactivation du protéasome par le bortezomib conduit à l'accumulation de protéines mal conformées ; HSP27 inhibe cette accumulation et favorise la survie de cellules tumorales traitées par cet inhibiteur (Chauhan et al., 2004 ; Voorhees et al., 2007). Un niveau élevé de HSP27 est ainsi associé à la résistance aux médicaments de chimiothérapie dans les cellules cancéreuses (Hansen, 1999).

L'expression des HSPs est également fortement accrue en réponse à l'action de rayonnements ionisants comme ceux utilisés en radiothérapie. La présence des HSPs semble inversement corrélée à l'efficacité de la réponse aux traitements et semble être à l'origine d'une forte radiorésistance (Miyazaki et al., 2005). La surexpression d'HSP27 a montré *in*

vitro et *in vivo* une exacerbation de la prolifération et une résistance à l'apoptose induite par l'hormonothérapie et la chimiothérapie (Paclitaxel) (Rocchi et al., 2005). L'inhibition de HSP27 dans les cellules CaP supprime la croissance tumorale, augmente l'apoptose des cellules et sensibilise les cellules tumorales aux traitements tels que l'hormonothérapie, la radiothérapie et la chimiothérapie (Rocchi et al., 2004 ; Rocchi et al., 2005).

4. HSP27 ET CANCER

Il a été démontré que les cellules tumorales exprimaient des taux plus élevés de HSP27 comparés à ceux des cellules normales. Cette surexpression est observée dans de nombreux cancers, dont celui du sein (Conroy et al., 1998 ; Wei et al., 2011), des ovaires (Arts et al., 1999), gliale (Zhang et al., 2003), de l'adénocarcinome gastrique (Huang et al., 2010), du mélanome (Aldrian et al., 2003), du poumon (Mizutani et al., 2010), colorectal (Jin et al., 2010 ; Tweedle et al., 2010), de la prostate (Bubendorf et al., 1999 ; Cornford et al., 2000 ; Rocchi et al., 2004 ; Shiota et al., 2013), l'ostéosarcome (Uozaki et al., 2000), et le cancer hépatocellulaire (Zhang et al., 2016). HSP27 influence également divers processus cellulaires (apoptose, réparation de l'ADN, épissage de l'ARN, progression des tumeurs, métastase, la différenciation et la réponse immunitaire) (Garrido et al., 1997 ; Miller-Graziano et al., 2008 ; Guo et al., 2009 ; Pavan et al., 2013 ; Katsogiannou, 2014)

Plusieurs études ont montré que l'augmentation du taux de HSP27 dans le sérum humain corrèle avec l'évolution du cancer, suggérant son utilisation comme marqueur de diagnostic (De and Roach, 2004 ; Ciocca and Calderwood, 2005 ; Feng et al., 2005). D'autres études ont montré que son niveau d'expression est plus élevé dans les lignées cellulaires prostatiques (AI) PC-3 et DU145 que dans la lignée androgéno-sensible (AS) LNCaP (Cornford et al., 2000). L'inhibition de HSP27 dans la thérapie du cancer dans divers modèles animaux induit la régression des tumeurs (Solary et al., 2000).

On considère que HSF1 (*Heat shock factors 1*) favorise l'oncogénèse principalement par le biais de sa transcription (**Figure 19**). Par l'induction de HSPs dans les cellules cancéreuses, HSF1 maintient la signalisation oncogénique, renforce la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT) et l'angiogénèse, favorise l'instabilité génomique et préserve la stabilité protéomique. En outre, l'activation de HSF1 dans les cellules stromales associées à la tumeur peut favoriser la progression de la tumeur de manière non autonome (Dai, 2017).

Garrido et al. (1993) ont montré pour la première fois l'implication de HSP27 dans la tumorigénèse de cellules provenant d'un carcinome du colon de rat. Ces cellules évoluent

sous une forme plus agressive lorsqu'elle y est surexprimée. Lors des processus tumoraux, l'expression de HSP27 est associée à la tumorigenèse (Ciocca et al., 1993), la métastase (Xu et al., 2006 ; Nagaraja et al., 2012 ; Pavan et al., 2014 ; Cho et al., 2018) et l'invasion (Lee et al., 2005 ; Xu et al., 2006). La surexpression de HSP27 est associée au mauvais pronostic dans divers cancers tels que le cancer du sein, de l'ovaire, de l'estomac, du foie, de la prostate, de l'ostéosarcome, colorectal et du carcinome hépatocellulaire. Par contre, une faible expression de HSP27 est associée à un mauvais pronostic dans le carcinome squameux oral (Muzio et al., 2006 ; Wang et al., 2009) et dans l'adénocarcinome du canal pancréatique (Drexler et al., 2020). En revanche, HSP27 a un bon pronostic dans le cancer œsophagien (Langer et al., 2008) et l'adénocarcinome de l'endomètre (Geisler et al., 1999) D'autres études montrent que HSP27 n'a pas de valeur pronostique dans le cancer squameux de la tête et du cou (Gandour-Edwards et al., 1998), de la vessie (Lee et al., 2018) et du carcinome épidermoïde de la langue (Ito et al., 2007).

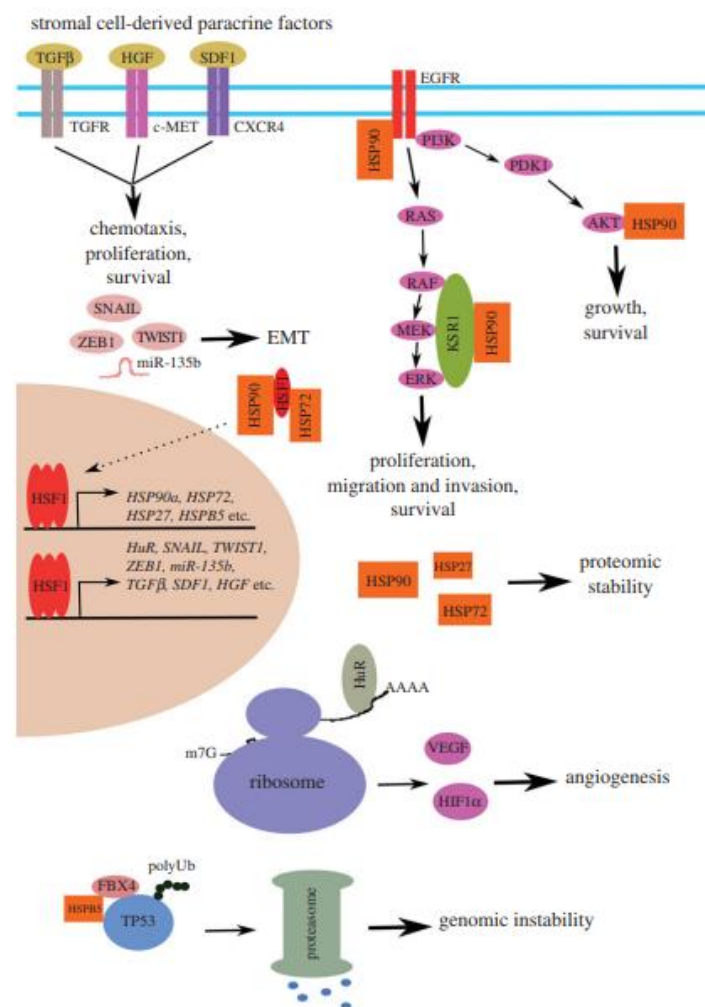


Figure 19. Divers mécanismes dépendant de la transcription par lesquels HSF1 favorise l'oncogénèse (Dai, 2017).

5. HSP27 ET IMMUNITÉ

Les protéines du choc thermique sont traditionnellement localisées à l'intérieur de la cellule, au niveau du cytoplasme, de l'appareil de Golgi, du réticulum endoplasmique, du noyau ou du nucléole. Cependant, les HSPs à caractère antigénique ont été identifiées à la surface de la cellule tumorale. Ainsi, il semble que les HSPs possèdent des fonctions immunologiques, qui nécessitent leur présence à la surface des cellules tumorales (Srivastava et al. 1991).

Une question se pose alors, à savoir la nature du mécanisme permettant à ces protéines d'être dirigées vers la surface de la cellule. Ce transport des HSPs semble en fait clairement distinct de la voie de sécrétion des molécules du CMH de classe I qui lient et présentent des peptides chargés de manière endogène aux cellules effectrices du système immunitaire (**Figure 20**). Ainsi, le stress subi par la cellule entraîne une augmentation des niveaux de transcription et de traduction des HSPs qui seront dégradées par le protéasome puis chargées dans le sillon de liaison des peptides des molécules du CMH de classe I. Des complexes HSP-peptide-CMH nouveaux ou plus nombreux sont présents à la surface des cellules pour interagir avec les effecteurs immunitaires innés: les cellules NK et adaptatives et les lymphocytes T cytotoxiques (CTLs). La reconnaissance individuelle ou synergique par divers effecteurs entraîne la destruction des cellules stressées (Heather et al., 2004).

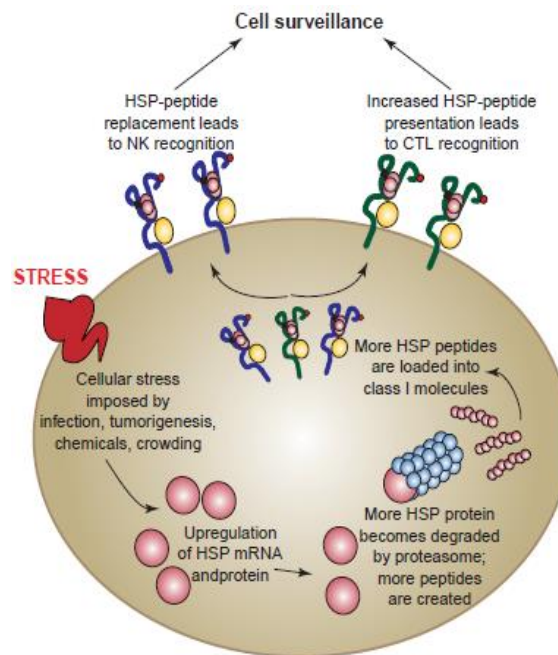


Figure 20. Modèle proposé pour la présentation des peptides de classe I dérivés de la protéine de choc thermique (HSP) (Heather et al., 2004).

Le stress subi par la cellule entraîne une augmentation des niveaux de transcription et de traduction des HSPs qui sont dégradées par le protéasome, puis chargées dans le sillon de liaison des peptides du CMH de classe I. Des complexes HSP-peptide-MHC sont présents à la surface des cellules pour interagir avec les cellules de l'immunité innées et adaptative (Heather et al., 2004).

De nombreuses molécules du CMH de classe I présentent une large gamme de peptides dérivés de HSPs humains. Comme les HSPs elles-mêmes, les peptides dérivés des HSPs augmentent en réponse à des stimuli de stress généraux ou à des événements plus spécifiques, tels que l'invasion de pathogènes et la néoplasie. Une fois que les complexes HSP-peptides-CMH atteignent une densité suffisante à la surface des cellules, les effecteurs immunitaires innés et adaptatifs peuvent reconnaître et éliminer les cellules stressées (**Figure 21a**) (Srivastava et al. 1991 ; Li et al., 2002). Les HSPs pourraient chaperonner d'autres protéines, au sein de vésicules intracellulaires d'exocytose, et donc être incorporées, à cette occasion, à l'intérieur des exosomes. De la même manière, elles pourraient être transportées jusqu'à la membrane plasmique, au sein de vésicules lysosomales, indépendamment de la voie du RE/Golgi (Multhoff et al., 1997). Les HSPs jouent alors le rôle de molécules présentatrices de l'antigène (**Figure 21b**) et facilitent l'assemblage ou le réassemblage des molécules du CMH avec leurs peptides antigéniques, issus d'antigènes tumoraux, au sein du compartiment intracellulaire ou à la surface de la cellule (**Figure 21c**) (Srivastava, 2002).

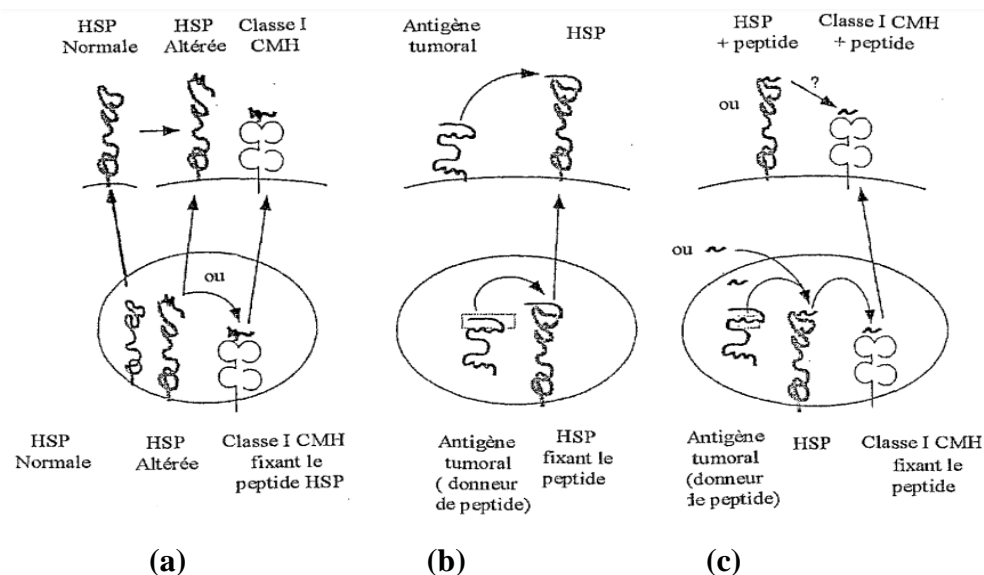


Figure 21. Complexes HSP-peptides-CMH lors de la réponse immunitaire innée et adaptative (Srivastava et al. 1991).

L'immunité antitumorale protectrice passe par une reconnaissance des molécules antigéniques par des lymphocytes T qui présentent un récepteur (TCR) de type $\alpha\beta$, reconnaissent le peptide antigénique lorsqu'il est présenté par une molécule du CMH, ou par une HSP.

Les lymphocytes T, qui présentent un TCR de type $\gamma\delta$, ont plutôt tendance à reconnaître directement la molécule antigénique, lorsqu'elle s'exprime seule à la surface de la cellule. Il semble cependant exister des cas où les lymphocytes T $\gamma\delta$ sont également capables de reconnaître des complexes antigènes-CMH (Kaufmann et al., 1994).

Plusieurs études ont montré que les HSPs agissent à la fois comme des adjuvants en déclenchant des TLRs sur les cellules du système immunitaire inné, en particulier les macrophages et les cellules dendritiques, et également comme transporteurs d'antigènes en fournissant un mécanisme de chaperonner les polypeptides pour le chargement des molécules du CMH et la facilitation subséquente de l'induction de l'immunité acquise (Colaco et al., 2013). Une proposition de mécanisme pour une réponse immunitaire antitumorale induite par les HSP est schématisée dans la **Figure 22**.

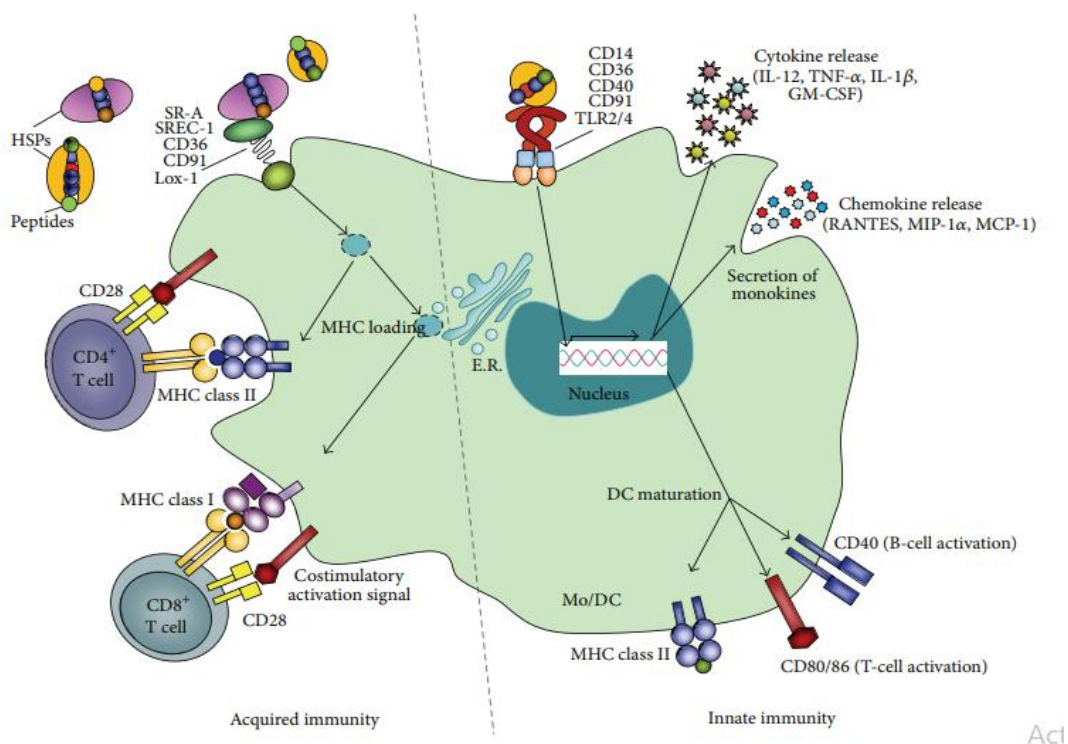


Figure 22. Double rôle des HSPs dans l'activation de l'immunité innée, avec l'induction de monokines et la maturation des cellules dendritiques (DC), et de l'immunité acquise, avec la fourniture de peptides pour le chargement du CMH et les réponses spécifiques aux antigènes (Colaco et al., 2013).

5.1. Mécanismes possibles de la réponse antitumorale relayée par les HSPs

Le mécanisme immunitaire de la réponse anti-tumorale engendrée par l'immunisation avec une HSP tumorale fait probablement intervenir plusieurs types cellulaires dépendant d'une régulation complexe (**Figure 23**). Les complexes HSP-peptides seraient alors internalisés et présentés par le CMH de classe II à des lymphocytes CD4+. Les peptides présentés seraient de trois types possibles: (i) des fragments d'HSP induisant une réponse de type anti-HSP, réprimée par un réseau de lymphocytes auto-immuns, (ii) des fragments de peptides, provenant de protéines du soi et n'induisant pas de réponse immune ; (iii) des fragments d'autres peptides, initialement associés à l'HSP, provenant de protéines anormales, induisant une réponse antitumorale spécifique. Il est généralement admis que des molécules solubles exogènes induisent une réponse des cellules CD4+ dépendant d'une présentation de peptides par les molécules du CMH de classe II, alors que des protéines endogènes sont présentées dans le contexte des molécules du CMH de classe I et induisent une réponse des cellules CD8+ (Menoret et Le Pendu, 1994 ; Enomoto et al., 2006 ; Okochi et al., 2008).

Les similitudes entre HSP et antigènes du CMH laissent supposer que les HSPs, éventuellement présentes à la membrane des cellules tumorales en situation de stress, pourraient agir comme molécules présentatrices d'antigènes. Par ailleurs, le relargage de complexes peptides-HSP potentialiserait la présentation du peptide antigénique au système immunitaire. Pour cela plusieurs mécanismes peuvent être envisagés (**Figure 23a**). Le complexe pourrait être internalisé par des macrophages, *via* un mécanisme encore inconnu, après quoi le peptide serait transféré sur des molécules du CMH I ou CMH II. Ce même complexe pourrait aussi être reconnu par une immunoglobuline auto-immune anti-HSP, puis fixé par le récepteur de la fraction Fc des immunoglobulines exprimé à la surface du macrophage, enfin internalisé vers une voie de présentation par le CMH I (**Figure 23b**). Les lymphocytes B auto-immuns anti-HSP capturant le complexe HSP-antigène tumoral par leurs immunoglobulines de surface pourraient internaliser l'antigène tumoral et le présenter sous la forme de peptides par leur CMH II. La présentation dans le contexte du CMH II stimulerait des lymphocytes CD4+ alors que les lymphocytes CD8+ antitumeurs seront activés après présentation de peptides dans le contexte du CMH I (**Figure 23c**) (Menoret et Le Pendu, 1994 ; Okochi et al., 2008).

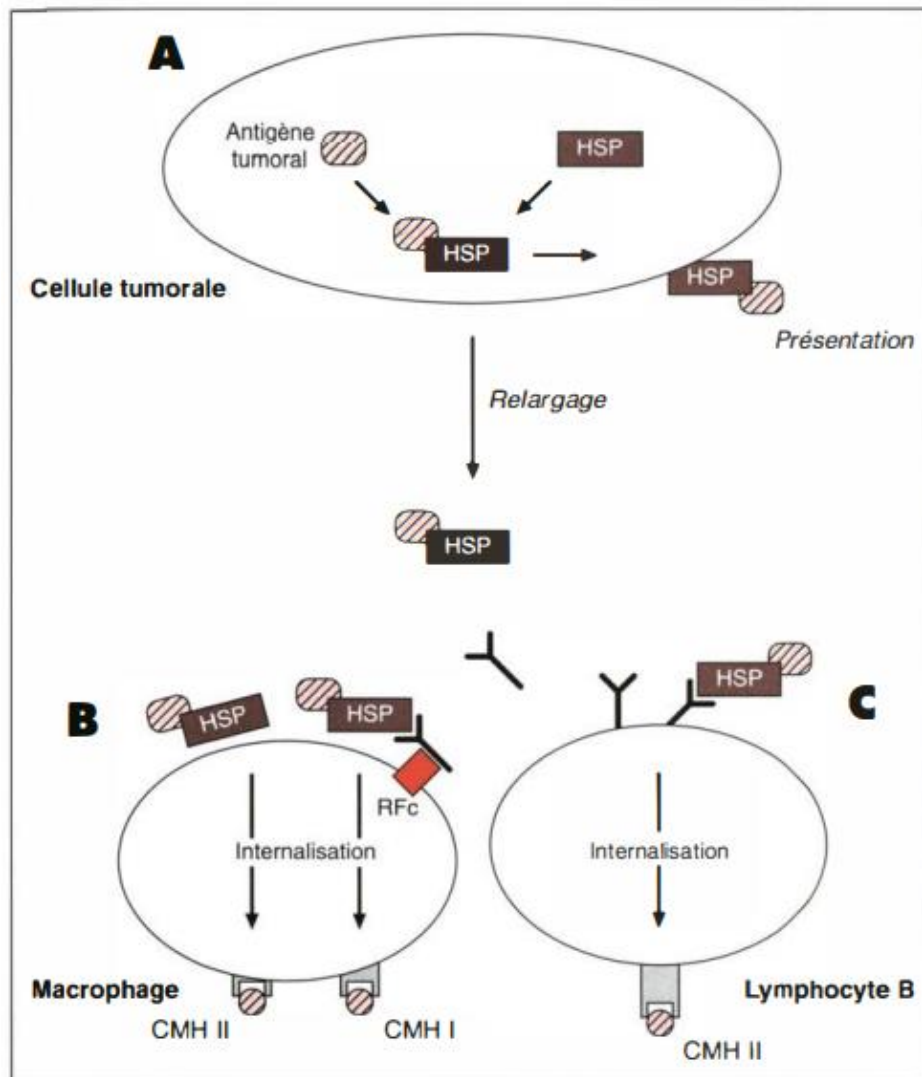


Figure 23. Mécanismes possibles du rôle des HSPs dans l'immunisation antitumorale (Menoret et Le Pendu, 1994).

5.2. Caractéristiques des peptides antigéniques associés aux HSPs

Les séquences des peptides associés aux HSPs sont encore inconnues ; cependant, dans le cas des tumeurs, on connaît plusieurs mécanismes susceptibles d'entraîner la formation de complexes HSP-peptides tumoraux potentiellement antigéniques, comme la surexpression et l'altération de la conformation de certaines protéines. Ces modifications peuvent être causées par des mutations, comme dans le cas de produits d'oncogène ou d'anti-oncogène dont l'association avec HSP70 a été décrite (Bensaude, 1992). A titre d'exemple, dans le cancer du sein, la réponse anti-p53 dépend de la formation de complexes particulièrement stables entre la p53 mutée et HSP70 (Davidof et al., 1992). Par ailleurs, une réponse proliférative spécifique de la p53 peut être obtenue avec les lymphocytes de certaines patientes mais les peptides responsables ne sont pas encore identifiés. On sait qu'il existe des CTLs, spécifiques

d'antigènes du soi, tolérants dans la mesure où l'antigène est présenté en faible densité par le CMH de classe I, mais activés lorsqu'il est présenté de manière non physiologique, en forte densité (Schild et al., 1990). Une association entre HSPs et peptides du soi en quantité anormalement élevée entraînerait une présentation accrue de ces peptides par les molécules du CMH. De nombreuses protéines sont surexprimées et constituent de ce fait des marqueurs tumoraux. Une fraction de ces protéines pourrait donc s'associer aux HSPs et engendrer des peptides antigéniques qui n'étaient normalement présents qu'à un niveau relativement bas. Des protéases endogènes, synthétisées en quantité anormale par la cellule tumorale, pourraient produire des fragments protéiques anormaux, donc " non-soi" (DAMP), qui s'associeraient avec des HSPs. En outre, des défauts de maturation des protéines, en particulier de glycosylation, ont été décrits dans les tumeurs (Itzkowitz, 1992). Ceux-ci peuvent entraîner un repliement incorrect des protéines concernées qui seront alors chaperonnées par des HSPs. Enfin, les cellules tumorales se développent souvent dans des conditions de stress métabolique lié à une faible concentration en oxygène ou en glucose, et à un pH acide. Ces conditions ont pour conséquence une dénaturation des protéines qui seront alors fixées par les HSPs.

La compilation des résultats expérimentaux montre que les molécules chaperonnes, protéines ubiquitaires, s'avèrent être des acteurs importants de la réponse antitumorale. En tant que porteurs de peptides, elles peuvent, participer à la présentation antigénique à des lymphocytes régulateurs ou effecteurs. L'autoimmunité anti-HSP amplifierait la réponse immune spécifique dirigée contre les peptides tumoraux fixés par les HSPs. Aussi l'utilisation des HSPs pourrait permettre de stimuler efficacement l'immunité antitumorale. Les molécules chaperons représentent, en outre un outil remarquable pour caractériser de nouveaux antigènes tumoraux (Menoret et Le Pendu, 1994).

Chapitre III
La Menin (NEM1)

1. STRUCTURE, LOCALISATION ET EXPRESSION DE LA MENIN

La Néoplasie Endocrinienne Multiple de type 1 (*NEM1*) ou le syndrome de Wermer (OMIM*131100) est une maladie héréditaire rare à transmission autosomale dominante, (Calender et Genem, 2000). Elle est liée à la mutation du gène *NEM1* situé sur le chromosome 11q13 (**Figure 24**) (Anguezomo et al., 2019). Le gène *NEM1* a une taille génomique de 9.3 kb et comprend 10 exons. Son ARNm est de 2,8 kb code pour la protéine Menin de 610 acides aminés dont la séquence est conservée de la drosophile à l'homme. Une forme non familiale ou sporadique peut être rencontrée chez 8 à 14% des cas avec *NEM1* (Chanson, 2009). Ce gène ne présente aucune homologie avec d'autres gènes connus, et son expression n'est pas limitée aux organes endocriniens (Ikeo, 1999).



Figure 24. Structure du gène *NEM1* : a) Localisation du gène sur le chromosome 11.
b) Séquence génomique.

La séquence génomique de 9330 pb est représentée par une ligne horizontale épaisse, la répétition tétranucléotidique (AAAG)₁₀ dans la région flanquante, le codon d'initiation ATG dans l'exon 2, et le codon de terminaison (TGA) dans l'exon 10. Les numéros d'exon sont indiqués ci-dessous (Guru, 1999 ; Sydney and Mark, 2001).

NEM 1 est classé comme un gène suppresseur de tumeur ce qui signifie qu'il empêche les cellules de se développer et de se diviser trop rapidement ou de manière incontrôlée ; il contrôle directement la croissance ou la mort cellulaire dans certains tissus (Chandrasekharappa, 1997 ; Balogh et al., 2006). Il est caractérisé par des tumeurs au niveau des parathyroïdes, des tissus endocriniens pancréatiques, tissu endocrine hypophysaire et entéropancréatique (Marx et al., 1998 ; Yamaguchi et al., 1980).

La protéine Menin est exprimée de façon ubiquitaire dans la plupart des tissus et lignées cellulaires, aussi bien endocrines que non endocrines, au cours du développement embryonnaire et de la vie adulte, chez l'homme (Wautot et al., 2000). La localisation de Menin est majoritairement nucléaire, même si plusieurs études ont rapporté que cette protéine peut aussi être localisée dans le cytoplasme ainsi qu'à la membrane cytoplasmique des cellules. Menin agit comme une protéine chaperonne en interagissant avec de multiples

partenaires pour réguler l'homéostasie cellulaire de divers organes endocriniens (Guru et al., 1999 ; Agarwal et al., 2005 ; Feng et al., 2017). Même si elle ne présente aucune homologie de séquence avec une autre protéine connue, elle possède néanmoins des motifs protéiques que l'on peut qualifier de communs (La et al. 2006).

Le gène *NEMI* est considéré depuis longtemps comme un suppresseur de tumeur dans les organes endocrines. Néanmoins, depuis plus d'une dizaine d'année le rôle de ce gène s'est révélé beaucoup plus complexe en dehors du champ des organes endocrines. En effet, il est clairement établi que celui-ci va jouer un rôle oncogénique dans la leucémie aiguë humaine agressive et dans la carcinogenèse hépatocellulaire (Yokoyama et al., 2005 ; Xu et al., 2013). De plus son rôle dans la tumorigénèse d'autres organes, tel que la glande mammaire et la prostate a été décrit dans la littérature.

La structure tridimensionnelle (3D) de Menin (**Figure 25**) ressemble à une "main gauche courbée", avec une poche profonde formée par le « pouce /thumb » et la « paume/Palm ». Menin est composée de quatre domaines associés: un domaine N-terminal (NTD) caractérisé par une longue épingle à cheveux β , deux domaines médians: un domaine analogue à la transglutaminase qui forme le pouce, un domaine palmaire hélicoïdal contenant trois motifs de répétition tétratricopeptide (TPR) et un domaine « doigts » C-terminal. Il a été démontré que la poche ou la cavité formée par le "pouce" et la "paume" facilite les interactions protéine-protéine (Huang et al., 2012 ; Murai et al 2011). Trois séquences de localisation nucléaire (NLS1, NLS2, NLS3) (Gourou et al., 1998 ; La et al., 2004 et 2006) et deux séquences de sortie nucléaire (NES1, NES2) ont été identifiées (Cao et al., 2009) qui montrent que Menin entre et sort du noyau.

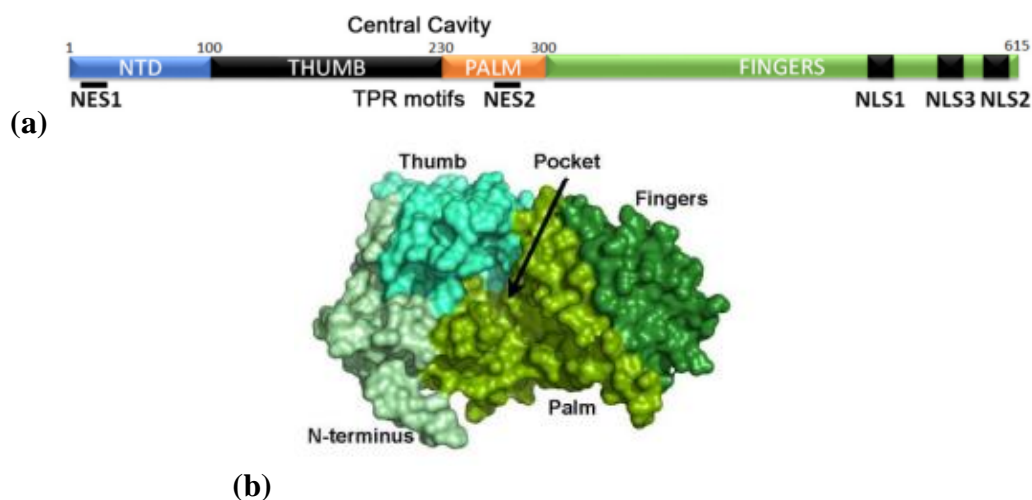


Figure 25. Structure de la Menin : (a) structure primaire. (b) Structure tridimensionnelle (Nelakurti et al., 2020 ; Brandi et al., 2020).

2. EXPRESSION ET FONCTION

Selon les données de la littérature, Menin se localise majoritairement dans le noyau. Ceci a été confirmé par des techniques telles que l'immunofluorescence, le Western-blot et le fractionnement cellulaire. Les résultats montrent une forte fluorescence au niveau du noyau avec une faible quantité au niveau du cytoplasme et des membranes cellulaires (Keo et al., 2000). Par contre, Egido et al. (2002) ont montré que Menin est localisé dans le cytoplasme pendant la phase S et le début de la phase G2 du cycle cellulaire.

Les fonctions attribuées à Menin (régulation de la transcription, réplication et/ou réparation de l'ADN et contrôle de la progression du cycle cellulaire) sont cohérentes avec sa localisation majoritairement nucléaire, bien qu'il semble que Menin puisse migrer entre le noyau et le cytoplasme (Cao et al., 2009).

Les modifications post-traductionnelles de Menin comprennent la phosphorylation aux niveaux Ser394, Thr397, Thr399, Ser487, Ser543 et Ser583, la SUMOylation et la palmitoylation, qui peuvent supprimer l'action de Menin en tant que suppresseur de tumeur dans le noyau ou son association potentielle avec la membrane cellulaire (Francis et al., 2011 ; Feng et al., 2013 ; He et al., 2016). Ainsi, plusieurs interactions potentiellement importantes entre Menin et d'autres protéines nucléaires et cytosoliques ont été observées (Agarwal et al., 2005).

Menin est vraisemblablement un gardien du génome, comme l'indiquent les fonctions, qui sont suggérées par les interactions qu'elle entretient avec d'autres protéines: contrôle de la croissance cellulaire, régulation du cycle cellulaire, régulation de la transcription génique, régulation de l'apoptose, stabilité génomique et réparation d'ADN.

2.1. Régulation de la transcription et de la prolifération

Plusieurs études suggèrent un rôle critique de Menin dans la régulation de la transcription (Balogh et al., 2006 ; Yang et al., 2013 ; Brzezinka et al., 2020), en tant que co-activateur ou co-répresseur. Les interactions de Menin avec les protéines de modification de la chromatine, divers facteurs de transcription, des protéines d'initiation ou d'élongation de la transcription ont montré une contribution fonctionnelle significative dans les voies de signalisation cellulaire médiées par Wnt/ β caténine, Hedgehog (Hh), TGF- β /BMP et les récepteurs nucléaires (Matkar, 2013 ; Dreijerink et al., 2017 ; Feng et al., 2017). Menin interagit avec la β -caténine et ses facteurs de transcription associés TCF3 et TCF4 pour supprimer leur activité, et la perte de Menin favorise la signalisation Wnt/ β -caténine qui est connue pour

augmenter la prolifération des cellules β des îlots de Langerhans. Menin interagit avec PRMT5 pour antagoniser la signalisation Hh en induisant une modification d'histone répressive dépendante de PRMT5 (H4R3me2s) pour supprimer l'expression des gènes de la voie de signalisation Hh, GAS1 et GLI1. La perte des caractéristiques répressives induites par Menin-PRMT5 dans ces gènes favoriserait la signalisation Hh qui peut hautement réguler la prolifération cellulaire (Brandi et al., 2020). À l'inverse, les voies de signalisation stimulent le recrutement des facteurs de transcription tels que JunD (Agarwal et al., 2007), NF-KB (Heppner et al., 2001) et SMAD3 (Kaji et al., 2001) vers leurs sites de liaison à l'ADN afin de réguler l'expression des gènes. Menin interagit avec le domaine MH2 de Smad3 ou SMAD1/SMAD5 de la voie TGF- β et autres comme les Smads responsables de la signalisation BMP pour promouvoir leur activité transcriptionnelle, et la perte de Menin dans ces interactions inhibe les voies de signalisation TGF- β et BMP respectivement, antagonisant ainsi leurs effets inhibiteurs de la prolifération (Balogh et al., 2006b; Agarwal et al., 1999a ; Brandi et al., 2020). Les récepteurs nucléaires sont des facteurs de transcription qui sont activés par la liaison à des ligands tels que les hormones stéroïdiennes. Il a été démontré que Menin agit en tant que co-activateur de l'expression génique médiée par certains récepteurs nucléaires (AR, ER α , LXR α , PPAR α , PPAR γ , RXR, et VDR) en les liant aux méthyltransférases MLL1 et MLL2 (Dreijerink et al., 2006 ; Imachi et al., 2010). La perte de Menin dans ces interactions permet la suppression de la signalisation spécifique des récepteurs nucléaires affectant la croissance et la fonction cellulaires. Des études récentes ont décrit des rôles importants de l'interaction de Menin avec MLL. Dans le CaP, Menin joue le rôle d'un cofacteur important pour la signalisation du RA par une interaction directe avec le domaine N-terminal du RA et le recrutement de l'activité histone méthyltransférase MLL. L'inhibition de l'interaction Menin-MLL à l'aide d'un inhibiteur de petite molécule de première génération a mis en évidence une altération de la signalisation du RA et a inhibé la croissance du CRPC chez la souris (Malik et al., 2015). Menin agit comme un régulateur négatif de la prolifération cellulaire thyroïdienne (Yates et al., 2016). L'inactivation mutationnelle de Menin est liée à la perte du contrôle de la croissance dans de nombreux types de tissus, ce qui suggère que le gène peut jouer un rôle important dans la tumorigenèse, qui ne se limite pas aux familles affectées par le gène *MEN1* et atteintes de tumeurs endocriniennes (Hendy et al., 2009). La désactivation du gène *MEN1* dans une lignée cellulaire de CaP s'est accompagnée d'une diminution de la prolifération cellulaire et d'une augmentation de l'apoptose. Ces expériences fournissent la première preuve que *MEN1* peut agir comme un oncogène *in vitro* (Paris et al., 2009).

2.2. Régulation de la stabilité génomique

Il a été décrit que *MEN1* peut jouer un rôle important dans le maintien de la stabilité génomique lorsque les cellules sont soumises à un stress (Itakura et al., 2000 ; Garcia-Higuera et al., 2001 ; Jin et al., 2003; Farley et al., 2006). Menin interagit avec deux composants essentiels de la réparation des lésions de l'ADN: la sous-unité de protéine de réplication A (RPA2) et la protéine FANCD2 (Jin et al., 2003 ; Sukhodolets et al., 2003). En effet, la protéine de réplication A2 (RPA2) se lie à l'ADN simple brin avec la sous-unité d'une protéine trimérique, qui a été mise en interaction avec Menin (Sukhodolets et al., 2003). La RPA est impliquée non seulement dans la réparation de l'ADN mais aussi dans la réplication et la recombinaison de l'ADN et la transcription des gènes. De plus, Menin a également renforcé son interaction avec FANCD2 par irradiation γ , une protéine impliquée dans la voie de réparation de l'ADN médiée par BRCA1 (Higuera et al., 2001 ; Jin et al., 2003 ; Farley et al., 2006). Menin peut également se lier à l'activateur de la kinase de phase S (ASK), qui joue un rôle crucial dans la réponse aux dommages de l'ADN et la régulation du cycle cellulaire (Schnepp et al., 2004).

2.3. Régulation de l'apoptose

Il a été observé que Menin joue un rôle important dans l'apoptose, l'un des mécanismes de protection les plus importants contre la formation des tumeurs. Il a été démontré que la surexpression de Menin augmentait l'apoptose dans une lignée cellulaire d'insulinome, Une expérience similaire utilisant une lignée de cellules murines a démontré que la surexpression de Menin peut effectivement déclencher l'apoptose. La perte de Menin dans les cellules a empêché l'initiation de l'apoptose déclenchée par le facteur α de nécrose tumorale (TNF- α) et l'irradiation UV, et la reconstitution de Menin dans ces cellules a restauré leur capacité à subir l'apoptose (Schnepp et al., 2004). Menin peut supprimer la tumorigenèse en favorisant l'apoptose par la modulation de l'expression de la caspase 8. La caspase 8 est une caspase initiateur essentielle qui est activée par de multiples récepteurs de mort (Chen et al., 2006).

3. MENIN ET CANCER

Le gène *MEN1* contribue à la formation de tumeurs principalement par le biais d'un mécanisme de perte de fonction bialélique, et le deuxième facteur peut être une petite mutation, telle qu'une mutation faux-sens, ou une mutation beaucoup plus importante qui peut être reconnue comme une perte d'hétérozygotie. Plus de 400 mutations somatiques et

germinales ont déjà été identifiées (Thakker, 2014). Les stress cellulaires, tels que les lésions de l'ADN, modifient considérablement l'expression de ses protéines en modifiant l'expression de l'ARNm ou en affectant la stabilité de la protéine (Céraline et al., 2003 ; Hearn et al., 2016). La surexpression de Menin est associée à l'élimination de la tumeur ce qui confirme son rôle de suppresseur de tumeur (Kim et al., 1999). Par contre, Menin a une fonction oncogène avec un mauvais pronostic dans le carcinome hépatocellulaire en association avec MYC (Wu et al., 2017) et Yap1 (Xu et al., 2013), dans le CaP (Paris et al., 2009) et le cancer du sein (Brennan, 2014 ; Dreijerink et al., 2014).

Chapitre IV

Le Complexe Majeur d'Histocompatibilité

Le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) a été mis en évidence lors d'études sur les antigènes des groupes sanguins, en remarquant que malgré une identité ABO et rhésus, certaines greffes étaient rejetées. Le concept selon lequel le rejet d'un tissu étranger est le résultat d'une réponse immunitaire à des molécules de la surface cellulaire est né du travail de Peter Gorer dans le milieu des années 1930. Entre 1936 et 1948, les études de P. Gorer et George Snell (prix Nobel 1980), utilisant des lignées de souris consanguines (ne diffèrent qu'au niveau d'un locus ou région génétique), ont permis de localiser un ensemble de gènes impliqués dans le rejet de greffes. Ces gènes furent appelés à l'époque gènes d'histocompatibilité et actuellement appartiennent au complexe H-2.

Chez l'homme, Jean Dausset (prix Nobel 1980) mis en évidence en 1958 une agglutination de leucocytes de certains individus par le sérum d'un patient polytransfusé. Il identifia alors des groupes leucocytaires dont le premier fut HLA-A2 (de Human Leucocyte Antigen). En hommage à J. Dausset, on appelle le CMH humain, complexe HLA. Chez la souris, le CMH s'appelle H-2 (histocompatibility-2). On a ensuite montré l'existence d'un CMH chez tous les mammifères. Exemple : DLA (Dog Leucocyte Antigen), BLA (Bovine Leucocyte Antigen), en référence à l'appellation humaine. Il a fallu attendre les années 1970 pour commencer à comprendre le véritable rôle immunitaire du CMH, le rejet de greffe n'étant que la conséquence pratique médicale (Carosella, 2009).

En 1974, les travaux importants de R. Zinkernagel et P. Doherty (prix Nobel 1996) ont montré que la reconnaissance des antigènes par les lymphocytes T dépend des molécules du CMH. Il s'agit du phénomène de restriction. En 1980, Terasaki a permis de définir dans les grands groupes humains les déséquilibres de liaison les plus importants et a souligné l'importance de la pré-immunisation transfusionnelle pour le succès des greffes d'organes. C'est en 1984 que se sont progressivement dessinées, grâce à l'utilisation simultanée de techniques sérologiques, biochimiques et d'immunologie cellulaire, des nouvelles séries de la région HLA-D, la série DQ, DP et DR (Espinosa et Chilly, 2010).

Le système HLA est caractérisé par un extrême polymorphisme, chaque gène ayant plusieurs allèles codants pour des protéines différentes. Les gènes HLA étant très proches les uns des autres, toute la région est transmise en bloc (en haplotype) à la descendance. En raison de ces caractéristiques génétiques, l'exploration du système HLA revêt un intérêt capital dans de nombreux domaines dont la médecine (appariement donneur-receveur, aide au diagnostic et à la prédiction de certaines maladies infectieuses), l'anthropologie et la génétique des populations (Revillard, 2001).

1. REPONSE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORALE

La réponse anti-tumorale mise en place par le système immunitaire repose sur la reconnaissance et la destruction des cellules tumorales selon deux phases: une immédiate, la réponse innée, qui va déclencher la réponse cellulaire spécifique, appelée réponse adaptative qui est plus tardive et plus durable (**Figure 26**) (Mombelli, 2014).

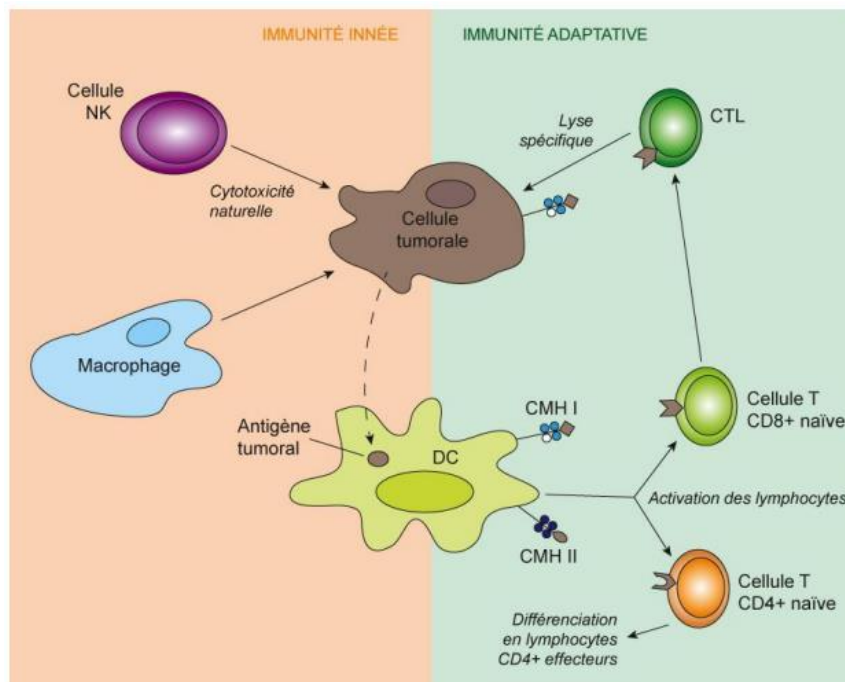


Figure 26. Contrôle des cellules tumorales par le système immunitaire (Mombelli, 2014).

Au cours de la réponse innée, les DAMPs qui sont des signaux de souffrance cellulaire vont activer les PRR (*Pattern Recognition Receptor*) qui sont des récepteurs cellulaires de l'immunité innée et ainsi, déclencher une réaction inflammatoire. Les cellules tumorales étant des cellules altérées, elles émettent des DAMPs et activent l'immunité innée. L'inflammation peut conduire à la destruction des cellules tumorales. Pour cela, elle va recruter les cellules cytotoxiques de l'immunité innée tels que les NK et les macrophages et les activer en sécrétant des cytokines proinflammatoires telles que le $TNF-\alpha$ (*Tumor Necrosis Factor-\alpha*). Le contexte inflammatoire du site tumoral favorise le recrutement de cellules présentatrices d'antigènes telles que les cellules dendritiques, qui sont à l'interface entre la réponse innée et la réponse adaptative. Ainsi, suite aux nombreuses mutations génétiques ou épigénétiques qu'elles subissent, les cellules tumorales expriment des molécules aberrantes parfois antigéniques et immunogéniques : les DAMPs. La nécrose ou l'apoptose de ces cellules au

sein du tissu tumoral va libérer des antigènes tumoraux qui seront alors capturés par les cellules dendritiques immatures infiltrant le site inflammatoire. Sous l'influence des DAMPs, celles-ci vont maturer et exprimer à leur surface les molécules de co-stimulation nécessaires à l'activation des lymphocytes T et migrer dans un organe lymphoïde secondaire pour présenter les antigènes tumoraux aux lymphocytes T naïfs associés aux molécules du CMH aux lymphocytes T CD4⁺ ou CD8⁺ (Escamilla-Tilch et al., 2013). L'activation des lymphocytes T naïfs ne sera effective que si l'interaction initiale entre les lymphocytes T et les cellules dendritiques est permise par les nombreuses molécules d'adhésion (ICAM-1/LFA1, LFA3/CD2, VCAM-1/VLA4) et si le premier signal (reconnaissance du peptide : CMH/TCR + CD4 ou CD8) est accompagné des signaux dits de co-stimulation (deuxième signal : B7/CD28). Les lymphocytes T activés vont alors proliférer et se différencier en cellules T effectrices telles que les lymphocytes T cytotoxiques (CTLs) et les lymphocytes T helpers (Th) (Chávez-Galán et al. 2009).

2. CARACTERISTIQUES ET STRUCTURE DES MOLECULES DU CMH

La région HLA (Human Leucocyte Antigen) est un ensemble de plusieurs gènes située sur le bras court du chromosome 6 (chromosome 17 chez la souris), cad sur la bande 6p 21-3 qui s'étend sur une distance d'environ 4000 kilobases, ce qui correspond à 1/1000 du génome humain (**Figure 27**). Le CMH comporte trois classes de gènes : HLA de classe I, de classe II et de classe III qui se distinguent par la fonction et l'expression de leurs produits polymorphes (appelés molécules de classe I, II et III du CMH) (Espinosa et Chilly, 2010).

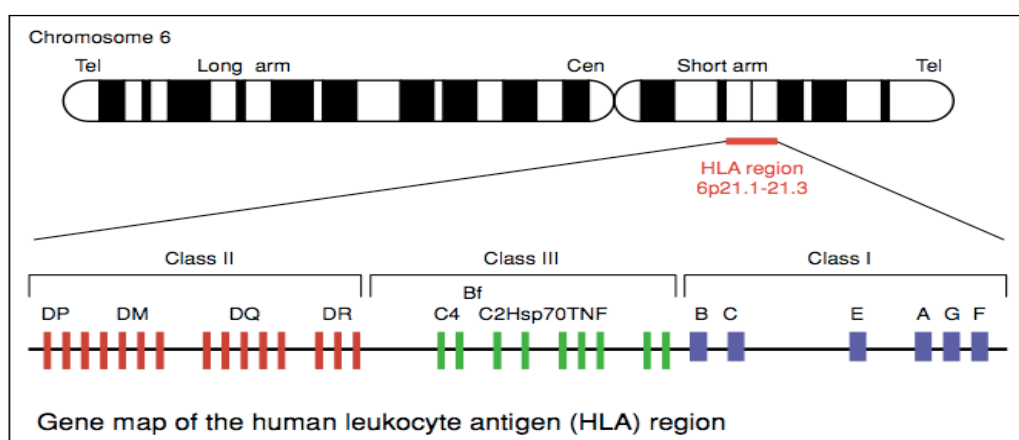


Figure 27. Gènes du CMH situés sur le bras court du chromosome 6 (Moalic, 2008).

Les molécules CMH I sont exprimées par toutes les cellules nucléées, tandis que les molécules CMH II ne sont présentes que sur certains types cellulaires parmi lesquels les cellules présentatrices d'antigènes spécialisées (CPA) comme les cellules dendritiques, les macrophages et les lymphocytes B mais aussi les cellules épithéliales thymiques, certaines cellules endothéliales et les lymphocytes T activés chez l'homme (Abbas et Lichtman, 2016).

2.1. CMH de classe I

Chez l'homme, la région de la classe I du CMH a une longueur d'environ 2000 kb et contient approximativement 20 gènes. C'est la région la plus télomérique du chromosome ; elle comprend principalement les gènes HLA-A, HLA-B et HLA-C appelés également gènes HLA de classe I classiques ou classe Ia, auxquels s'ajoutent les gènes HLA-E, -F, -G, -H, -J et -X appelés aussi gènes HLA non classiques ou de classe Ib, ainsi qu'une famille de gènes récemment découverte appelée MIC, qui va de MICA à MICE. Certains des gènes de classe I du CMH non classique sont des pseudogènes et ne codent pas une protéine, mais d'autres tels que HLA-G et HLA-H codent des produits semblables à la classe I qui ont des fonctions hautement spécialisées. Les molécules de classe Ib sont généralement moins polymorphiques et sont exprimés à des taux plus faibles que ceux des molécules de classe I du CMH classique (Kuby et al., 2014). Les molécules de classe I (**Figure 28**) sont des glycoprotéines monomériques composées d'une chaîne lourde α associée de façon non covalente à une chaîne légère la $\beta 2$ microglobuline ($\beta 2$ M). Elles existent sous deux formes : présentes à la surface de toutes les cellules nucléées de l'organisme et sous forme soluble dans les liquides biologiques (Abbas et Lichtman, 2016).

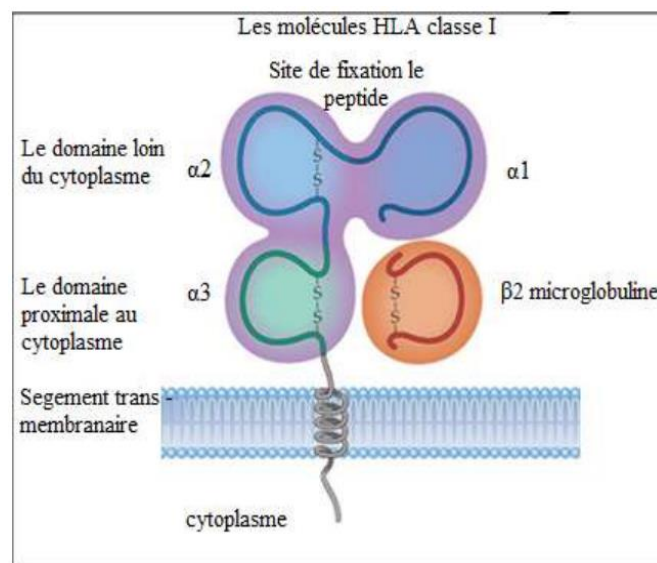


Figure 28. Structure des molécules HLA de classe I (Moalic et Ferec, 2005).

2.2. CMH de classe II

Cette région contient les gènes qui codent les chaînes α et β des molécules de classe II du CMH classique appelé *HLA-DR*, *-DP* et *-DQ*. La carte moléculaire du CMH de classe II a révélé des gènes multiples de la chaîne α ainsi que des gènes multiples de la chaîne β chez l'homme. Des gènes codant les molécules de classe II du CMH non classique ont aussi été, appelés *DM*, *DN* et *DO*. L'analyse cartographique de la région de la classe II a révélée la présence de deux gènes (*LMP2* et *LMP7*) qui codent des sous-unités du protéasome et de deux gènes (*TAP1* et *TAP2*) qui codent les sous-unités transportant les peptides.

Les molécules de classe II sont des protéines dimériques hétérogènes (**Figure 29**) elles sont constituées de deux chaînes polypeptidiques différentes appelées α et β , codées par deux gènes distincts (exemple : *HLA-DRA* et *HLA-DRB*). Ces chaînes sont associées de façon non covalente. Un ensemble de 4 domaines composent ces deux chaînes : 2 extra cellulaires, 1 transmembranaire et 1 intracytoplasmique (Abbas et Lichtman, 2016).

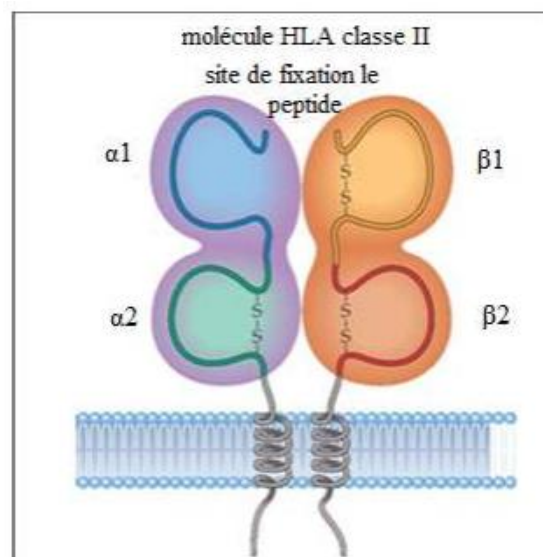


Figure 29. Structure des molécules HLA classe II (Moalic et Ferec, 2005)

3. ROLE DES MOLECULES HLA

Le rôle des molécules du CMH dans la présentation de l'antigène a été élucidé dans les années 1980. A. Townsend fut l'un des pionniers en montrant que les lymphocytes Tc ne reconnaissent pas directement les molécules virales exprimées à la surface des cellules infectées. Les antigènes viraux sont reconnus sous forme de fragments de protéines, de peptides, endogènes à la cellule.

Les deux différentes classes de molécules du CMH se distinguent par la provenance des peptides qu'elles vont présenter.

Les molécules du CMH ne sont stables que si elles sont associées au peptide logé dans sa poche. L'association du peptide dans sa cavité est un phénomène complexe et contrôlé. Les mécanismes qui permettent de présenter l'antigène (son apprêtement) en changeant un peptide dans la poche diffèrent entre les deux classes de molécules, ce qui implique des fonctions différentes :

- ✓ les molécules du CMH I présentent les antigènes endogènes par la voie d'apprêtement cytosolique.
- ✓ les molécules du CMH II présentent les antigènes exogènes par la voie d'apprêtement endocytaire (Abbas et Lichtman, 2016).

3.1. Rôle des molécules HLA de classe I

Les molécules de classe I du CMH présentent des peptides issus de protéines cytoplasmiques majoritairement endogènes (**Figure 30**) (c.-à-d. synthétisées par la machinerie métabolique de la cellule). Ces molécules interviennent principalement dans la surveillance interne des cellules (protéines virales, tumorales, endogènes de synthèses...).

Ce complexe « CMH I + peptide » est reconnu par le récepteur TCR des lymphocytes T CD8, dont l'activation entraîne l'apparition d'effecteurs cytotoxiques spécifiques de l'antigène.

Les molécules de classe I présentent de courts peptides de 8 à 10 Aa suite à la dégradation de protéines bio-synthétisées par la cellule hôte. Ces complexes CMH I-peptide sont reconnus par le récepteur des lymphocytes T (TCR). Pour que la reconnaissance soit efficace, le lymphocyte doit aussi exprimer la molécule CD8 qui reconnaît le domaine $\alpha 3$ de la molécule de classe I.

Lorsque la cellule n'est pas infectée, ce sont ses propres protéines qui sont digérées. Elle présente donc des peptides issus de protéines du soi. Cette situation n'engendre pas de réponse par le système immunitaire qui a été éduqué pour tolérer le soi. En revanche, lorsque la cellule est infectée par un virus, le virus lui fait synthétiser les protéines virales qui sont donc présentées après digestion sous forme de peptides viraux par les molécules du CMH I. Les lymphocytes Tc spécifiques du virus tuent alors la cellule identifiée comme infectée. Les molécules du CMH, présentent aussi des peptides issus de bactéries à développement intracellulaire (Choo, 2007).

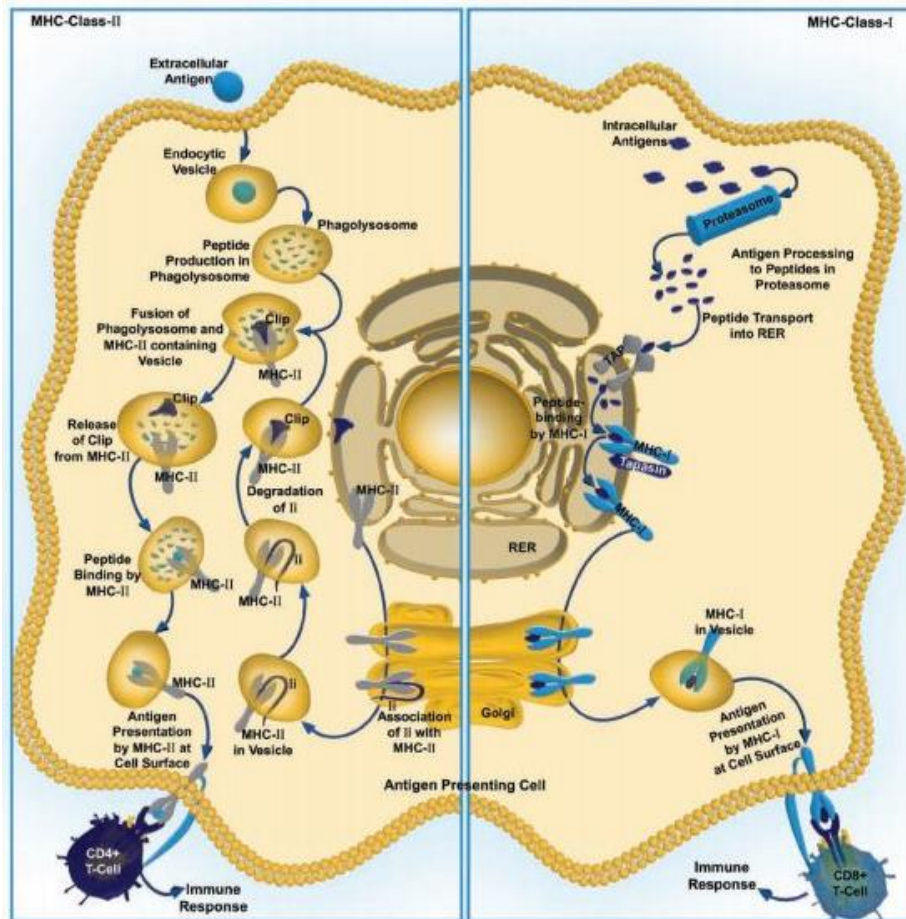


Figure 30. Apprêtement des antigènes endogènes et exogènes par les molécules HLA de classe I et classe II (Abbas et Lichtman, 2016).

3.2. Rôle des molécules HLA de classe II

Les molécules de classe II présentent des peptides issus de protéines majoritairement exogènes provenant de vésicules de la voie endocytique (**Figure 30**). Ces molécules interviennent principalement dans la surveillance extracellulaire. Les antigènes exogènes, après phagocytoses, sont dégradés en peptides qui sont pris en charge par les molécules HLA de classe II.

Les peptides exogènes présentés par le CMH II au récepteur TCR des lymphocytes T helper CD4 provoquent une activation avec prolifération des lymphocytes T et production d'interleukines, aboutissant à une réponse immunitaire de type coopération cellulaire humorale.

Les molécules de classe II présentent de longs peptides allant de 12 à 18 Aa. Ces peptides proviennent de la digestion de protéines issues de micro-organismes extracellulaires

phagocytés ou de micro-organismes intracellulaires qui logent dans les compartiments vésiculaires (endosomes).

A la surface cellulaire, ces complexes CMHII-peptide sont reconnus par le TCR des lymphocytes T CD4 (lymphocytes Th), car la molécule CD4 lie le domaine $\beta 2$ des molécules du CMH II et permet une reconnaissance efficace. Les molécules du CMH II sont donc particulièrement utiles pour présenter des peptides issus de pathogènes captés par phagocytose quelle que soit leur localisation. Ces molécules ne sont d'ailleurs présentes que sur certains phagocytes, seuls capables de fournir leurs peptides. La cellule, en exprimant des molécules de classe II, signale la présence d'un pathogène phagocyté aux lymphocytes Th. Ces derniers ont pour rôle d'organiser la réponse immunitaire spécifique contre ce pathogène (Kuby et al. 2014).

4. SYSTEME HLA ET CANCER

Le rôle crucial du système immunitaire dans le cancer est aujourd'hui incontestable. L'interaction entre les cellules cancéreuses et les différentes cellules immunitaires est un processus continu, dynamique qui influe grandement sur les résultats cliniques (Fridman et al., 2017). La présentation de l'antigène aux cellules T par les molécules HLA, hautement polymorphes, est fondamentale pour susciter des réponses antitumorales adaptatives (Parham, et Ohta, 1996). Ainsi, les allèles HLA ont été associés à la prévalence ou à la survenue de plusieurs maladies, notamment l'auto-immunité et le cancer (Dendrou et al., 2018).

Il a été démontré que la présence de certains allèles HLA affecte la survie des patients atteints de cancer et, par conséquent, leur rôle en tant que biomarqueurs pronostiques fait l'objet d'une attention croissante (Andersson et al., 2012 ; Dhall et al., 2020). En outre, des données récentes ont attribué un rôle prédictif aux allèles HLA sur la base de leur implication dans la détermination de l'état clinique des patients. Stokidis et al. (2020) ont récemment rapporté les rôles pronostiques favorables et défavorables des allèles respectifs HLA-A*24:02 et HLA-A*02:01, dans le CaP métastatiques *de novo* (MPCa).

La littérature fait état du rôle pronostique de génotypes HLA spécifiques dans plusieurs cancers selon les types de maladies (Zoodsma et al, 2005 ; Dhall et al., 2020). Par exemple, en accord avec les données récentes de Stokidis et al. (2020), HLA-A*02 a été associé à un mauvais pronostic pour les cancers de l'ovaire (Andersson et al., 2012), du poumon (So et al., 2001), et de la prostate (De Petris et al., 2004), bien que cet allèle n'ait pas montré de pertinence pronostique dans le cancer du sein (Jackson et al., 2018) et le mélanome (Dhall et

al., 2020). De manière intrigante et contrairement aux données précédentes, le génotype HLA-A*24 a été inclus dans la liste des génotypes de mauvais pronostic pour le mélanome et le cancer du poumon (Dhall et al., 2020 ; Nagata et al., 2009). Ces observations divergentes indiquent que les mécanismes sous-jacents à l'implication de certains génotypes HLA-A dans l'évolution du cancer diffèrent d'un type de cancer à l'autre et sont liés à l'histoire naturelle et à la biologie complexe de ces cancers. Par conséquent, ils peuvent indiquer une prédisposition à un certain type de cancer, où leur impact négatif peut être principalement influencé par des mutations spécifiques et une sélection immunitaire ou par des mécanismes conduisant à une modulation épigénétique différentielle de l'expression de l'allèle (Yang et al., 2019).

L'analyse de lignées cellulaires tumorales et d'un grand nombre de lésions tumorales prélevées chirurgicalement a démontré des défauts dans l'expression des molécules de surface HLA de classe I dans la plupart des tumeurs. Ce phénomène est associé à une régulation à la baisse ou à la perte des composants du processus d'apprêtement des antigènes HLA I (**Figure 31**). Il a été mis en évidence, par exemple, que HLA-A*02:01 limite la reconnaissance spécifique HLA-A de divers peptides tumoraux par les lymphocytes T. Par conséquent, on peut s'attendre à un rôle pronostique favorable de HLA-A*02:01 (Baxevanis et al., 2006).

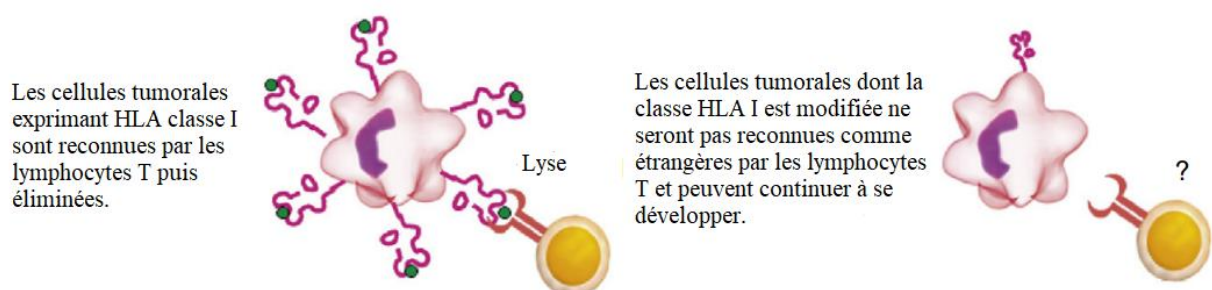


Figure 31. Évasion immunitaire par perte de molécules HLA. (a) Les cellules tumorales exprimant les molécules HLA I sont reconnues par les lymphocytes T et éliminées. (b) La perte des molécules HLA permet aux cellules tumorales d'échapper à la réponse immunitaire (Carretero et al., 2014).

La fréquence de ces défauts varie considérablement entre les différents types de cancers. Il a été démontré que de multiples mécanismes moléculaires sous-tendent ces anomalies (**Figure 32**), qui provoquent une synthèse et/ou une expression défectueuse des complexes peptidiques dérivés de l'antigène HLA de classe I et de l'antigène tumoral (Jensen, 2007 ; Vyas et al., 2008).

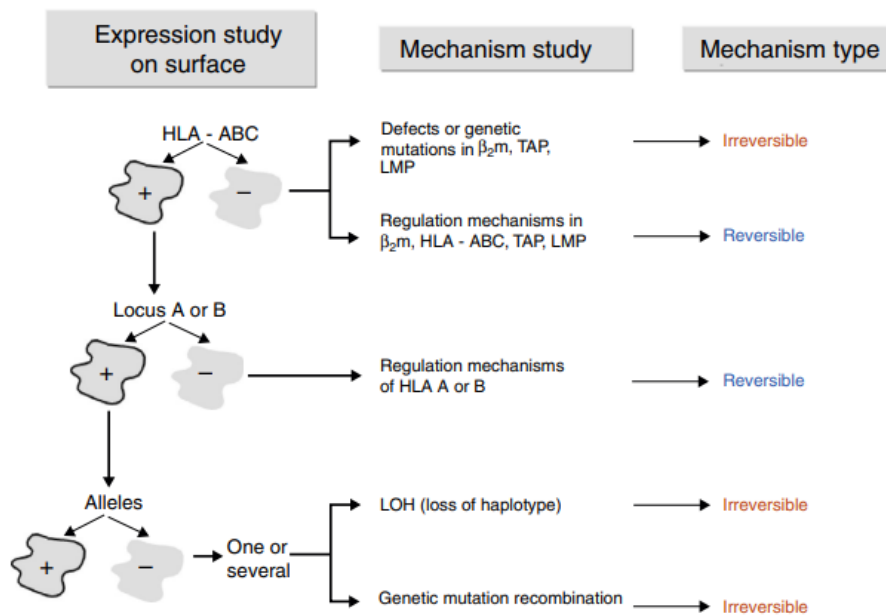


Figure 32. Mécanismes d'altération des molécules HLA I (Carretero et al., 2014).

La transformation maligne des cellules est associée non seulement à des changements dans l'expression des antigènes HLA de classe I, mais aussi de classe II. La fréquence de ces changements varie selon les différents types de tumeurs hématopoïétiques et solides en fonction de leur origine et/ou de leur phénotype moléculaire (Taramelli et al., 1986 ; Van Luijn et al., 2010): par exemple, plus de 80% des lésions de carcinome mammaire canalaire analysées ne présentent pas d'expression de l'antigène HLA de classe II (Lazzaro et al., 2001). En revanche, environ 50 % des carcinomes papillaires de la thyroïde et 60 % des mélanomes primaires expriment les molécules HLA II (Taramelli et al., 1986 ; Jo et al., 2008), ce qui suggère un gain d'expression d'antigènes HLA de classe II dans ces types de tumeurs. Bien que la littérature contienne des informations concordantes sur la fréquence de l'expression de l'antigène HLA II dans certains types de tumeurs, dans d'autres, les informations sont contradictoires.

Matériel et Méthodes

1. POPULATION D'ETUDE

Cette étude a obtenu l'accord du comité d'éthique (N° CEDUBMA-02-12/21) de l'Université Badji Mokhtar, Annaba, et a été menée conformément à la déclaration d'Helsinki; tous les patients et les sujets contrôles ont fourni un consentement éclairé.

Nous avons recruté prospectivement, entre 2017 et 2019 un total de 153 sujets dont 73 hommes dans la tranche d'âge de 51-91 ans (74.210 ± 9.217 ans) avec un CaP confirmé histologiquement et 80 hommes en bonne santé dans la tranche d'âge de 29-80 ans ($61 \pm 1,053$ ans) comme groupe témoin. Aucun des participants n'avait d'antécédents familiaux de CaP. Les patients ont été suivis pendant 3 à 5 ans. Le diagnostic de CaP était basé sur la présence d'un nodule palpable au toucher rectal de la prostate, un taux sérique de PSA $> 4,0$ ng/mL, et des analyses anatomopathologiques de biopsies positives.

Pour l'étude cas/témoins des molécules HLA classe I et II, nous avons disposé d'un total de 131 échantillons d'ADN dont 64 patients non apparentés âgés entre 51 et 91 ans et 67 sujets témoins. Tous les sujets sont originaires de l'Est Algérien.

Toutes les informations clinicopathologiques des patients atteints de CaP ont été extraites des dossiers cliniques.

Le grade histopathologique a été classé selon les scores de Gleason (Rozet et al., 2020) : Score 6 (N = 17) ; Score 7 = 3 + 4 (N = 7) ; Score 7 = 4 + 3 (N = 13) ; Score 8-10 (N = 20).

Afin de trouver la relation possible entre les biomarqueurs étudiés et le pronostic clinique, les patients ont été divisés en trois groupes : non agressifs (Score de Gleason 6 ; N = 17), modérément agressif (Score de Gleason = 7 ; N = 20) et agressif (Score de Gleason 8-10 ; N = 20).

Un total de 73 sérums de patients atteints de CaP a été prélevés au moment du diagnostic. Les échantillons sanguins ont été recueillis dans des tubes secs puis centrifugés à 1800 rpm/min pendant 15 min. Le sérum a été récupéré en aliquotes et conservé à -20°C jusqu'à son utilisation ultérieure.

Nous avons également recueilli les biopsies appariées de 73 patients atteints de CaP apparentés et de 4 cas d'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP). Les échantillons de tissus (biopsies à l'aiguille) prélevés lors du diagnostic initial et avant la chirurgie ont été fixés dans du formol et inclus dans de la paraffine, puis immédiatement stockés à -20°C .

Les critères d'exclusion pour la participation à l'étude étaient les suivants: incapacité à consentir activement à l'étude ; patients sous hormonothérapie ou radiothérapie au moment du prélèvement sanguin, en raison des effets possibles sur l'expression des protéines et des infections ou autres maladies cancéreuses.

2. ANALYSE QUALITATIVE DE L'EXPRESSION DE HSP27 ET MENIN, *IN VITRO*, SUR LIGNEES TUMORALES

2.1. Les lignées cellulaires prostatiques et conditions de culture

La prolifération cellulaire résulte d'une multiplication des cellules qui s'effectue par mitose où la cellule se divise et donne naissance à deux cellules filles puis à un clone de cellules possédant les mêmes propriétés génétiques. La culture cellulaire *in vitro* permet aux cellules de se reproduire en dehors de leur milieu de vie naturel puis à les maintenir vivantes pour une utilisation expérimentale (Furger, 2016). En réponse à un stimuli (signal), les cellules peuvent présenter différents états : survie, division, différenciation ou mort (Figure 33).

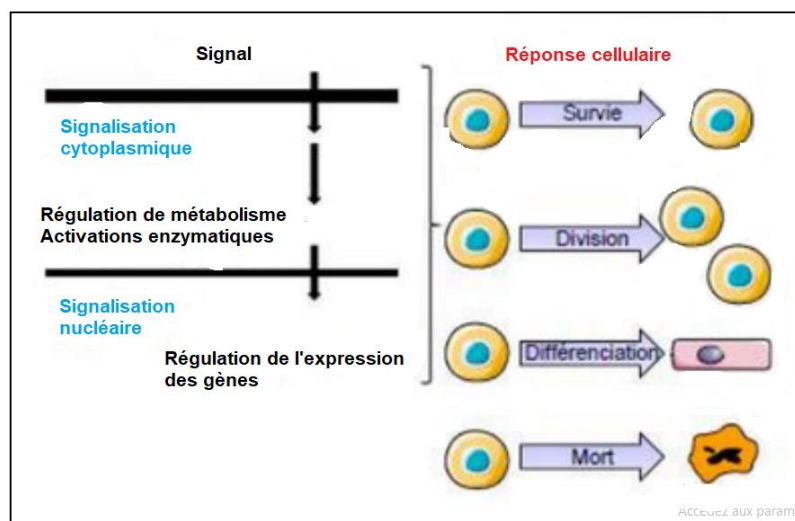


Figure 33. Les différents états des cellules en réponse à un stimuli

2.1.1. La lignée PNTA1

Afin d'évaluer l'expression de HSP27 et de Menin dans les conditions physiologiques normales, nous avons utilisé la lignée cellulaire humaine de la prostate normale (PNT1A) comme témoin sain, fournie par le Roswell Park Memorial Institute, Canada. Cette lignée est maintenue en milieu RPMI 1640 (Invitrogen, Cergy Pontoise, France) complété par 10% de

SVF et incubée à 37°C dans une atmosphère humidifiée à 5% de CO₂. Les cultures sont réalisées dans des conditions stériles.

2.1.2. La lignée LNCaP

Nous avons utilisé la lignée cellulaire LNCaP androgène-dépendante (AD), afin d'évaluer *in vitro* le niveau d'expression de HSP27 et de Menin dans des conditions pathologiques expérimentales de CaP androgène-dépendant. Les cellules LNCaP expriment des récepteurs des androgènes (RA) et des œstrogènes (RE). Leur croissance est lente, le temps de dédoublement étant de 60 heures environ. Ces cellules ne produisent pas une monocouche uniforme mais des agrégats et n'adhèrent que faiblement au support.

La lignée cellulaire LNCaP a été gracieusement fournie par l'Université de Virginie (Charlottesville, VA). Elle est maintenue en milieu RPMI 1640 (Invitrogen, Cergy Pontoise, France) complété par 10% de SVF et incubée à 37°C dans une atmosphère humidifiée à 5% de CO₂. Les cultures sont réalisées dans des conditions stériles.

2.1.3. La lignée PC-3

Ces cellules sont dites androgène-indépendantes (AI) car elles ne répondent pas au traitement hormonal, et peuvent survivre en absence d'androgènes. Les cellules PC-3 n'expriment pas le RA. Ces cellules dont le temps de dédoublement est de 33 heures environ forment des monocouches uniformes. La lignée PC-3 a été achetée auprès de l'American Type Culture Collection ATCC (Rockville, MD) et maintenue dans le milieu (DMEM) Dulbecco's Modified Eagle Medium (Invitrogen, Cergy Pontoise, France), complété par 10% de SVF. Les cellules ont été maintenues à 37°C dans une atmosphère humidifiée à 5% de CO₂. Les cultures sont réalisées dans des conditions stériles.

2.2. Congélation et décongélation des cellules

Lors de la congélation des cellules dans le DMSO, les tubes de congélation sont placés 30 min à -20 °C, puis 24 heures à -80 °C, avant d'être placés dans de l'azote liquide ayant une température à -196°C.

Lors de la procédure de décongélation, le tube de congélation est déposé dans un bac de glace pilée pendant 10 min puis décongelé dans le bain marie à 37°C pendant 1 min et enfin placé dans 9 ml de milieu de culture complet réchauffer préalablement au bain marie à 37°C. Les cellules ainsi décongelées sont centrifugées rapidement pendant 5 min à 3000 rpm à

25°C pour éliminer le DMSO nocif pour les cellules. Les cellules sont ensuite mises en culture dans un flasque de 37 cm³ contenant les milieux appropriés.

2.3. Repiquage des lignées cellulaires

Les lignées cellulaires PNTA1, LNCaP et PC-3 cultivées selon les conditions précisées plus haut sont repiquées deux fois par semaine, pour leur assurer une croissance exponentielle. Les cellules seront lavées avec 2 mL de trypsine pendant quelques secondes afin d'éliminer les cellules mortes, puis 4 mL de trypsine sont rajoutés aux cellules. Les boîtes sont incubées pendant 10 min à l'étuve 37°C et à 5% CO₂ pour décrocher les cellules de la boîte. La digestion enzymatique des protéines d'adhésion est assurée par la trypsine qui sera ensuite inhibée par dilution en ajoutant le milieu de culture ce qui permet de stopper l'activité enzymatique en présence du SVF. La réaction est inactivée par l'ajout de 8 mL de milieu de culture spécifique à chaque lignée cellulaire. Un volume de 5 mL de PBS est rajouté dans la boîte. Les suspensions cellulaires sont collectées au bout de 10 min par grattage des cellules dans un tube de 15 mL à l'aide d'un grattoir à cellule afin de récupérer toutes les cellules incluses dans la boîte. Ces cellules sont ensuite centrifugées pendant 10 min à 4°C à 4500 rpm. Le surnageant est aspiré et les culots cellulaires sont maintenus à -20°C pour extraction ultérieure des protéines.

2.4. Comptage et passage des cellules

Le nombre de cellules dans la suspension est ensuite compté grâce à une cellule Mallassez sous microscope optique (Leica Microsystems, France). Ainsi, 10 µL de milieu de suspension cellulaire est placé dans la cellule Mallassez, La concentration cellulaire est ajustée à 1.5×10^6 cellules/mL. Un volume de 5 mL de cellules qui sont destinées à l'expérimentation sera ensemencé dans des boîtes de pétri avec 10 mL de nouveau milieu afin de réaliser l'extraction des protéines. Le reste des cellules sera cultivé dans 25 mL de nouveau milieu dans un flasque et sera incubé à l'étuve 37°C en présence de 5% CO₂ pour poursuivre leurs cultures dans les conditions sus décrites.

2.5. Extraction et dosage des protéines

Les protéines sont extraites à l'aide d'une solution de lyse contenant (1% v/v de Triton X-100, 50 mM d'HEPES, 150 mM de NaCl, 25 mM de NaF, 1 mM d'EDTA, 1 mM d'EGTA, 10 µM de ZnCl₂, 1 mM d'orthovanadate de sodium) et un cocktail d'inhibiteurs de protéases à

4% v/v (Roche, Paris) pendant 30 min à 4°C. Le lysat est centrifugé 1 heure à 13000 rpm et la teneur en protéines est quantifiée à l'aide du kit de dosage des protéines BCA (Pierce, Paris). Les échantillons protéiques (40 µg) sont chargés dans chaque puits et les concentrations seront déterminées à l'aide de la mesure de la DO par spectrophotométrie (TECAN XFLUOR 4) à 540 nm.

2.6. Analyse des protéines par Western blot

a) Principe

Le Western blot fournit une méthode semi-quantitative pour mesurer les taux de protéine. Cette méthode d'immuno-empreinte détecte la présence et la quantité relative de protéine, leur poids moléculaire et l'efficacité de l'extraction des protéines.

b) Méthode

La technique d'électrophorèse en conditions dénaturantes (SDS-PAGE) a été appliquée aux extraits de protéines totales (15 g) des cellules PNTA1, LNCaP et PC-3. Les échantillons ont été additionnés de tampon SDS (100mM Tris HCl pH 6.8, 20% glycerol, 4% SDS) et dénaturés 5 min à 95°C. Un gel d'acrylamide à 8% ainsi qu'un gel de concentration de 4,5% sont coulés. Les échantillons à tester et le marqueur de poids moléculaire "Spectra™ Multicolor Broad Range Protein Ladder" (Fermentas), sont déposés sur le gel d'acrylamide. La migration est réalisée à 8mA pendant la nuit, dans un tampon de migration TrisGlycine-SDS (40mM Tris-base, 0.1mM Glycine, 0.1% SDS) à l'aide de d'un appareil de migration (BIO-RAD, France).

Les produits d'électrophorèse sont ensuite transférés sur une membrane de nitrocellulose de 0.2 µm (Amersham™ Hybond™ – ECL, GE Healthcare). Le transfert des protéines est réalisé dans un tampon de transfert (40mM Tris-base, 0.1M Glycine, 20% éthanol) sous une tension de 25V pendant 30 min à l'aide du "Trans-Blot® SD Semi-Dry Transfer Cell" (BIO-RAD). Après transfert, la membrane de nitrocellulose est saturée par dépôt dans du PBS contenant 5% (w/v) de lait écrémé en poudre à 4°C pendant une nuit, puis incubée pendant une heure avec un anticorps primaire de lapin anti-humain HSP27 dilué au 1:5000 (Enzo Life Science, Villeurbanne, France). Cette même opération est réalisée d'une part avec un anticorps monoclonal anti-Menin de souris dilué au 1:500 (SC-390345, Santa Cruz Biotechnology, CA, USA), et d'autre part avec un anticorps monoclonal de souris anti-humain Vinculine dilué au 1:2000 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO). L'excès d'anticorps est éliminé, en réalisant deux lavages successifs de 10 min dans une solution de TBS/Tween

0.1%. Les membranes sont ensuite incubées pendant 30 min avec l'anticorps secondaire monoclonal anti-IgG de souris dilué au 1:5000 couplé à la peroxydase (Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA). Après trois lavages successifs avec une solution de TBS/Tween0.1%, les protéines sont détectées à l'aide d'un système d'analyse Western blotting à chimiluminescence améliorée (Amersham ECL Advance Western Blotting Detection Kit, Arlington Heights, IL).

3. ANALYSES QUANTITATIVES DES PROTEINES HSP27 ET MENINE : EXPRESSION DES PROTEINES DANS LE SURNAGEANT ET LES SERUMS HUMAINS

3.1. Immuno-dosage enzymatique ELISA

a) Principe

Elle consiste à détecter la présence d'un anticorps spécifique dans un échantillon biologique tel que le sérum.

b) Méthode

L'expression de HSP27 et de Menin humaine a été détectée dans le sérum par des kits commerciaux disponibles (Enzo ADI-EKS-500-96, Villeurbanne, France) et (My BioSource MBS-942430-96, San Diego, CA, USA), respectivement selon les instructions du fabricant. En bref, 100 µL de standards et d'échantillons sont distribués dans des plaques de 96 puits à fond plat pour immuno-essais, puis incubés pendant 1 h, à 37 °C, pour HSP27 et 2 h à 37 °C pour Menin. Les plaques sont lavées, puis 100 µl d'anticorps anti-HSP27 et 100 µl de biotine sont rajoutés dans chaque puits. Les plaques sont incubées à température ambiante pendant 1 h à 37 °C. Après une autre étape de lavage de 6 fois pour HSP27 et 3 fois pour Menin, 100 µl de Horseradish-peroxidase conjugateont (HRP) sont rajoutés dans chaque puits. La plaque de HSP27 est incubée à température ambiante pendant 30 min, alors que la plaque de Menin est incubée à température ambiante pendant 1 heure. Après une nouvelle étape de lavage, 100 µl de substrat TMB sont déposés pour détecter l'activité enzymatique ; les plaques sont incubées à 37 °C pendant 15-30 min. La réaction est ensuite arrêtée par ajout de 100 µl (pour HSP27) et 50 µl (pour Menin) d'une solution Stop dans chaque puits. Il est important que toute la couleur bleue devienne complètement jaune dans chaque puits. La densité optique est mesurée par un lecteur de microplaques (Sunrise, Tecan, 69003 Lyon, France) à 450 nm dans les 5 minutes. Enfin, les concentrations de HSP27 et de Menin ont été calculées après avoir

tracé les courbes standards par le logiciel professionnel "CurveExpert". Des duplicatas de chaque échantillon ont été mesurés.

4. MISE EN EVIDENCE DE HSP27 ET MENIN PAR IMMUNO-HISTOCHIMIE

a) Principe

L'immunohistochimie met en évidence certaines protéines cellulaires, qu'elles soient cytoplasmiques, membranaires ou nucléaires, spécifiques pour un type ou une fonction cellulaire, à l'aide d'une réaction antigène – anticorps ; le complexe formé est rendu visible, donc localisable, par un marqueur coloré.

b) Méthode

L'expression de HSP27 et de Menin ont été déterminées à partir de coupes de tissus inclus dans la paraffine. Seules 57 des 73 biopsies de patients ont été inclus dans l'analyse immunohistologique (IHC). Nous avons exclu les biopsies qui n'ont pas donné un résultat interprétable. Dans l'IHC, les blocs de paraffine sont fixés au formol ; des coupes de 3-4 µm d'épaisseur ont été obtenues. La coloration immunohistochimique et la lecture des lames ont été réalisées par deux anatomopathologistes.

Pour la détection de HSP27, la coloration IHC a été réalisée à l'aide de l'Autostainer Link 48 de Dako (Agilent, Santa Clara, CA, USA). Après déparaffinage, la récupération des antigènes a été réalisée avec la Target Retrieval Solution pH 9 (S2367, Agilent, Santa Clara, CA, USA) dans le PT Link (Agilent, Santa Clara, CA, USA). Les lames ont été ensuite incubées à température ambiante pendant 20 min avec un anticorps polyclonal de lapin anti-HSP27 (dilution 1:600, Enzo (ADI-SPA-803), Lausen, Suisse) pour détecter les épitopes multiples. Ensuite, un système Envision Flex (K8000, Agilent, Santa Clara, CA, USA) a été utilisé pour révélation avec du DAB.

Pour la détection de Menine, l'IHC a été réalisée avec l'anticorps monoclonal de souris anti-Menin E9 sc390345 (1:100, Santa Cruz Biotechnology, D-69115 Heidelberg, Allemagne) sur l'instrumentation Ventana Discovery XT (Roche, Paris, France). Après déparaffinage, la récupération des antigènes a été effectuée avec la solution de conditionnement cellulaire CC1 (tampon à base de Tris-EDTA pH 7,8, réf. 950-124, Roche). L'anticorps primaire a été incubé pendant 6 heures, à 37°C, puis l'anticorps secondaire, OmniMap anti-Mouse HRP Detection Kit (réf. 760-4310, a été rajouté. Finalement ; le chromogène DAB est incorporé aux lames. La contre-coloration a été réalisée avec de

l'hématoxyline. Les lames ont été nettoyées, déshydratées et recouvertes d'un milieu de montage permanent.

La spécificité des anticorps a été validée pour les contrôles positifs et négatifs avant leur utilisation en IHC. Des contrôles négatifs et positifs ont été inclus dans chaque lot d'IHC. Des sections de peau connues pour exprimer des niveaux élevés de HSP27 et des sections de cancer du sein et de la prostate qui expriment des niveaux élevés de Menin ont été utilisées comme contrôles positifs, tandis qu'un contrôle sans anticorps primaire a été systématiquement inclus afin d'éliminer tout résultat avec coloration non spécifique. Les images ont été capturées à l'aide d'un microscope Nikon ECLIPSE Ni.

L'intensité des immunomarquages cytoplasmiques ou nucléaires ainsi que la proportion de cellules colorées ont été utilisées pour évaluer au microscope l'expression de HSP27 et de Menin. Les scores pour l'intensité de la coloration étaient comme suit : 0 (négatif) et 1 (faible coloration), 2 (coloration modérée) ou 3 (forte coloration). Le pourcentage de cellules tumorales positives a été noté comme suit : 0 (<1%), 1 (1-25%), 2 (25-50%), 3 (>50%). L'intensité et le pourcentage des cellules marquées ont été évalués de manière semi-quantitative en calculant le Medium Quick Score (MQS). Ainsi, un MQS de 0 à 300 a été obtenu.

5. REALISATION DU TYPAGE HLA PCR-SSP

5.1. Extraction de l'ADN

Le kit QIAamp DNA FFPE Tissue (Qiagen, France) permet dans des conditions de lyse spécialement optimisées, de purifier efficacement l'ADN génomique à partir de coupes de tissus paraffinés. L'incubation à une température élevée après la digestion à la protéinase K élimine partiellement la réticulation au formol de l'ADN libéré, ce qui améliore le rendement ainsi que la performance de l'ADN dans les essais en aval. L'extraction de l'ADN a été réalisée selon les instructions du fabricant.

5.2. Typage par PCR-SSP

a) Principe

L'amplification enzymatique, *in vitro*, de l'ADN par la technique, "*polymerase chain reaction*" (PCR) a été décrite pour la première fois en 1983 par Mullis et al. pour l'amplification du gène β -globine et le diagnostic de la drépanocytose (Mullis et al., 1986 ; Saiki et al., 1988). La technique PCR est basée sur l'action cyclique d'une Taq polymérase

thermostable (extraite de *Thermus Aquaticus*, bactérie vivant dans des eaux chaudes). Cette enzyme est capable de copier un brin d'ADN utilisé comme matrice en un brin complémentaire. Lorsque la séquence d'un segment d'ADN est connue, on peut l'amplifier spécifiquement *in vitro* par un procédé d'extension de deux amorces. Après mélange avec de l'ADN génomique et dénaturation dans des conditions d'hybridation, les deux amorces se positionnent en face de leurs séquences complémentaires. En présence de l'ADN polymérase, chaque amorce est allongée dans les sens 5' → 3' d'une séquence exactement complémentaire du brin recopié. Il en résulte un doublement de la séquence entre les deux amorces. Un cycle d'amplification est composé de 3 étapes (dénaturation, élongation et extension) et se déroule séquentiellement à trois températures différentes. L'amplification est exponentielle : au bout de n cycles, on obtient théoriquement 2^n exemplaires du segment d'ADN.

Le protocole Quiagen utilise la méthodologie PCR-SSP (*Séquence Spécifique Primer*) basée sur des trousseaux qui offrent l'avantage de réactifs calibrés pour la PCR et l'analyse en gel des échantillons d'ADN. Cette méthode est basée sur le principe que seules sont amplifiées les séquences d'ADN complémentaires des amorces spécifiques utilisées grâce à des polymérases ADN type thermostable (**Figure 34**). Elle a été développée par Olerup et Zetterquist (1992) et utilise une ou deux amorces conçues pour être spécifiques d'un allèle ou d'un groupe d'allèles. Une paire d'amorces de contrôle interne positif est intégrée dans chaque puits. Celle-ci correspond à des régions conservées du gène de la β -globine humaine, présent dans tous les échantillons d'ADN humain. Ce témoin permet de vérifier l'intégrité de la PCR.

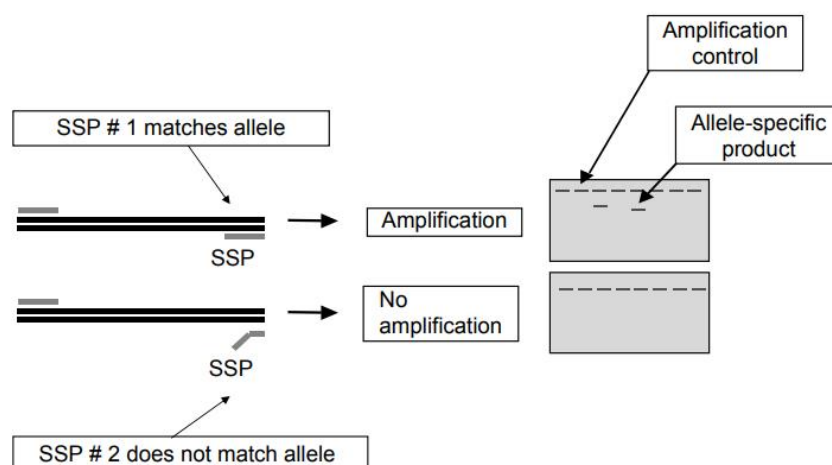


Figure 34. Principe de la SSP. Les allèles HLA sont amplifiés par PCR à l'aide de SSP. Les produits de la PCR sont ensuite détectés par électrophorèse sur gel d'agarose. Un contrôle d'amplification est inclus avec chaque réaction pour détecter les résultats faussement négatifs dus à un défaut d'amplification.

A la fin de l'amplification, les fragments amplifiés sont séparés en fonction de leur taille sur gel d'agarose et visualisés avec le bromure d'éthidium sous lumière UV. L'interprétation des résultats de la PCR-SSP est basée sur la présence ou l'absence de fragments amplifiés. Quand il y a présence d'une bande de typage spécifique, la bande de contrôle interne peut être faible ou concentrée. Ceci est dû à la différence de concentration entre les amorces spécifiques et les amorces du contrôle interne (Moalic, 2008).

b) Méthode

Trois kits de typage HLA (Invitrogen) différents, ont été utilisés : ABC SSP (93 réactions de PCR), DRB SSP (96 réactions de PCR), et DQB SSP (8 réaction de PCR).

Les solutions d'amorces sont pré-aliquotées et lyophilisées dans des barrettes de tubes PCR de 0,2 ml. Chaque tube contient une solution d'amorces lyophilisées spécifiques de groupe d'allèles, ainsi qu'une paire d'amorces de contrôle interne positif, prêts à recevoir l'échantillon d'ADN, le Master Mix (M-Mix) et l'H₂O. Un volume de 1µl de diluant est réparti dans le puits contrôle négatif. On ajoute ensuite 2µl de Taq polymérase au M-Mix. 9% du mélange M-Mix / Taq sont répartis dans le puits contrôle négatif. On ajoute 39µl de l'échantillon d'ADN au mélange M-Mix / Taq, puis on agite sur vortex. On réparti 10µl du mélange ADN + M-Mix / Taq dans chaque puits, sauf le puits contrôle négatif, puis on couvre la plaque avec la feuille adhésive fournie pour éviter l'évaporation pendant la PCR. Enfin, la plaque Micro SSP est placée dans le Thermocycleur puis recouverte par le tampon de Pression ; le programme PCR est entamé (**Tableau 6**).

Tableau 6. Programme d'amplification de la PCR-SSP.

Etape de programme	T°C	Durée (s)	Nombre de cycles
Dénaturation initiale	94	120	
Dénaturation	94	10	10 cycles
Hybridation et elongation	65	60	
Dénaturation	94	10	20 cycles
Hybridation	61	50	
Elongation	72	30	

5.3. Electrophorèse sur gel d'agarose

a/ Principe

Les acides nucléiques sont des macromolécules polyanioniques uniformément chargées pouvant migrer dans un champ électrique. La vitesse de migration d'une molécule d'acide nucléique dépend de plusieurs paramètres, en particulier le nombre de paires de bases ou de bases et la concentration du gel d'agarose. En effet, le choix de la concentration du support de l'électrophorèse est fonction de la taille moyenne des fragments à séparer. Ainsi, des fragments d'ADN dont la taille varie de 100 paires de bases (pb) à 60 kilobases (kb) peuvent être séparés. L'analyse du produit d'amplification de l'ADN se fait après une électrophorèse horizontale en gel d'agarose. Associée à une coloration au bromure d'éthidium, la séquence d'ADN amplifiée présente une fluorescence orange et apparaît sous forme d'une bande homogène lorsqu'elle est exposée à une source UV. Cette analyse permet de vérifier la spécificité de la séquence amplifiée en regardant l'existence d'autres bandes amplifiées non spécifiques, en s'assurant de la taille de la bande amplifiée, en les comparant à un marqueur de taille et surtout en vérifiant que le produit de PCR du témoin négatif ne montre pas de bande amplifiée donc une contamination par un ADN étranger.

b/ Méthode

Le gel d'agarose (Sigma) est préparé à une concentration de 2% dans un tampon TBE. On chauffe le mélange puis on rajoute 1,7 µl de bromure d'éthidium (Sigma) à 8 mg/ml. On laisse refroidir le gel sur un agitateur magnétique, puis on le coule sur une plaque horizontale. 1 µl d'un marqueur de PM (Boehringer Mannheim, Germany), digéré par l'enzyme Hind III, est déposé en parallèle avec les échantillons préalablement dilués dans un tampon au bleu de Bromophénol (Gibco BRL). Une migration électrophorétique est effectuée à 80 V pendant 30 mn. L'état de migration est photographié sous UV.

5.4. Interprétation des résultats

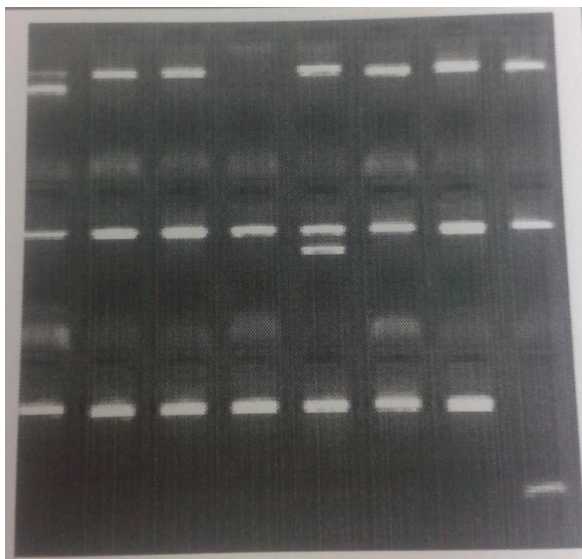
Les mélanges d'amorces HLA contiennent des amorces témoins qui amplifient un fragment de l'hormone de croissance de l'homme (human growth hormone, HGH). Ces amorces présentent une concentration plus faible que les paires d'amorces spécifiques des allèles et servent de contrôle interne de l'amplification. Cette amplification témoin a généralement toujours lieu, c'est-à-dire aussi bien en présence qu'en l'absence d'un fragment de PCR spécifique d'un allèle ou d'un groupe. La bande témoin est donc visible dans toutes

les prises d'essai d'amplification génique. En présence d'un produit de PCR spécifique d'un groupe HLA, la bande témoin peut être faible ou totalement absente. Ceci ne constitue pas une limite du test, car la bande spécifique retrouvée témoigne dans de tels cas du déroulement correct de l'amplification.

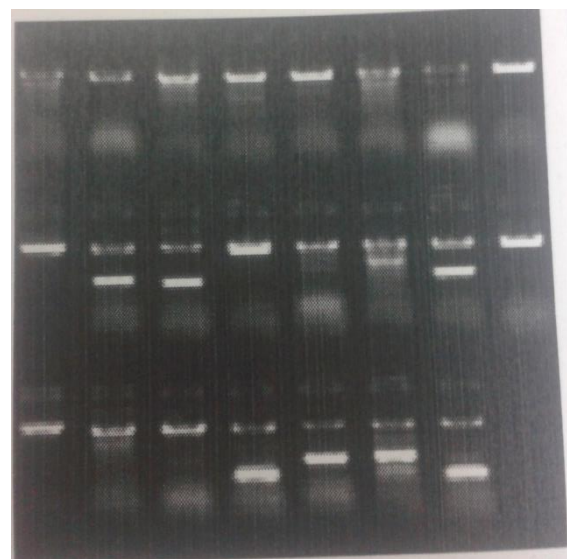
L'interprétation du test repose sur le fait de savoir si une bande d'ADN spécifique est présente dans le gel ou non (**Figure 35**). La taille des fragments amplifiés d'ADN ne devra pas nécessairement être prise en compte, mais pourra l'être à titre d'aide lors de l'interprétation.

	Réaction positive	Réaction positive	Réaction négative	Pas d'amplification
Puits du gel				
Bande-témoin	Absente			Absente
Bande spécifique			Absente	Absente
Bande de l'amorce				

Figure 35. Interprétation des résultats de la PCR-SSP.



(a)



(b)

Figure 36. Contrôle de la PCR-SSP sur gel d'agarose a) classe I (HLA-A), b) classe II (HLA-DR)

6. ANALYSES STATISTIQUE

L'analyse descriptive des données et l'étude de la régression logistique pour le calcul des associations exprimée en Odds Ratio (OR) ont été évaluées statistiquement à l'aide des logiciels IBM SPSS Statistics version 25 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) et le logiciel GraphPad Prism 8 (GraphPad Software Inc., LA Jolla, CA, USA). L'analyse de variance à sens unique (ANOVA) a été utilisée pour comparer les variables paramétriques et les exprimer sous forme de moyenne avec erreur standard (SE). Le coefficient de corrélation de Pearson a été calculé comme mesure de l'association linéaire entre les variables, y compris HSP27 et Menin dans le sérum et les tissus. L'analyse de la survie globale a été réalisée par la méthode de la courbe de Kaplan-Meier. Le Receiver Operating Curve (ROC) a été réalisée pour évaluer la valeur potentielle de HSP27 et de Menin en tant que biomarqueurs circulants en comparaison avec le PSA. La mesure Area Under the Curve (AUC) représente la performance de diagnostic des molécules étudiées.

Deux méthodes d'analyse statistique multivariée descriptive pour la visualisation et la réduction de la dimension des ensembles des données, à savoir, l'analyse en composante principale (ACP) et l'analyse factorielle des correspondances (AFC), ont été réalisées avec le logiciel IBM SPSS version 25 (SPSS, Chicago, IL, USA). Dans toutes les comparaisons, la valeur $p < 0,05$ a été considérée comme statistiquement significative.

Résultats et Discussion

Chapitre I
Association CaP et HSP27/Menine

1. Caractéristiques clinico-pathologiques de la population étudiée

Les caractéristiques clinico-pathologiques des participants dans cette étude sont présentées dans le **Tableau 7**. La cohorte de cette étude prospective comprenait 153 hommes, dont 73 patients atteints de CaP et 80 témoins. Les différences d'âge étaient significatives ($p = 0,018$). Un total de 66 (90,41 %) participants avaient un taux de PSA > 10 ng/mL et 7 (9,59 %) un taux de PSA ≤ 10 ng/mL. Au cours du suivi, 29 (39,72 %) hommes ont développé une résistance hormonale et 15 (20,54 %) sont décédés d'un cancer des os. D'autre part, sur une période de 3 à 5 ans après le moment du diagnostic, les manifestations cliniques du CaP chez la majorité des patients se sont généralement aggravées chez les hommes avec l'augmentation de l'âge au moment du diagnostic.

Tableau 7. Caractéristiques clinicopathologiques des patients avec et sans CaP.

Caractéristique	Cas (n = 73) N (%)	Contrôles (n = 80) N (%)	p value
Age (ans)			
mean ± SD	73.26 ± 10.13	70.53 ± 8.38	0.018
PSA (ng/mL)			
mean ± SD	80.72 ± 24.34	3.54 ± 0.72	< 0.0001
≤ 10	7 (9.59)		
> 10	66 (90.41)		
Score de Gleason			
≤ 6 (faible)	23 (31.51)		
= 7 intermédiaire	30 (41.09)		
≥ 8 (élevé)	20 (27.40)		
Status Hormonal			
Hormono-Sensibles	26 (35.62)		
Hormono-Resistants	31 (42.46)		
Métastase	29 (39.72)		
Décès	15 (20.54)		

2. Etude préliminaire, *in vitro*, de l'expression de HSP27 et de Menin dans les lignées cellulaires

Les résultats du Western blot et Elisa ont montré une surexpression de HSP27 dans la lignée cellulaire LNCaP (1.016 ng/mL) et PC-3 (2.748 ng/mL) par rapport à la lignée normale PNTA1 (0.211 ng/mL) (Figure 37a et b).

◇ 1^{er} cas : Bande révélée après 2 min

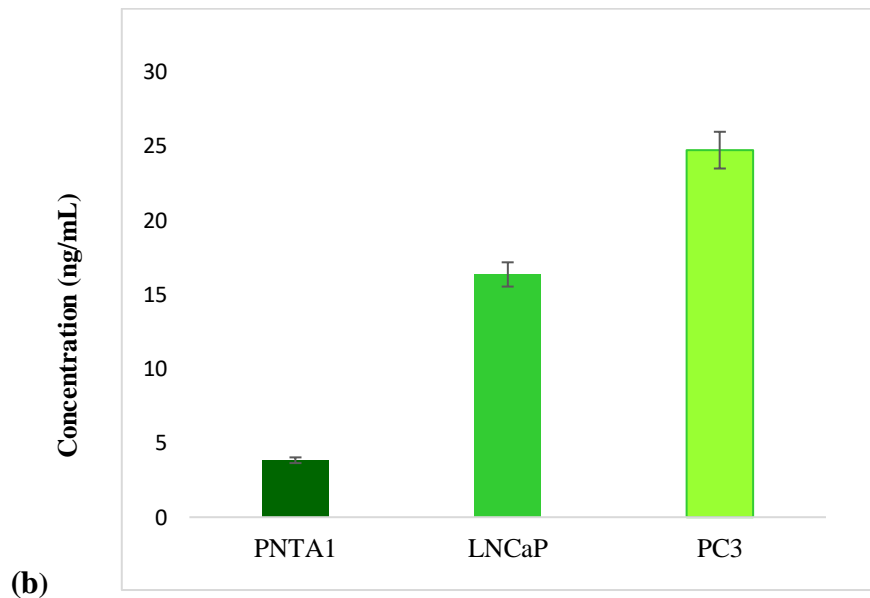
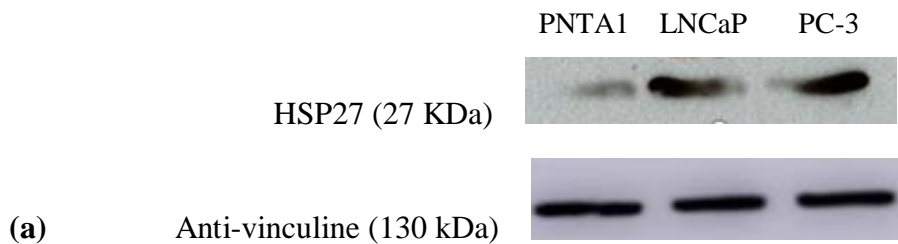


Figure 37. Expression de HSP27 dans les lignées cellulaires prostatiques. (a) Par Western blot. (b) Par ELISA

Une surexpression a également été observée pour Menin dans la lignée cellulaire PNTA1 (0.422 ng/mL) et PC-3 (0.510 ng/mL) par rapport à la lignée cellulaire LNCaP (0.056 ng/mL). Ces résultats ont été confirmés par ELISA et Western blot (**Figure 38a et b**).

◇ 2^{ème} cas : Bande révélée après 2 min

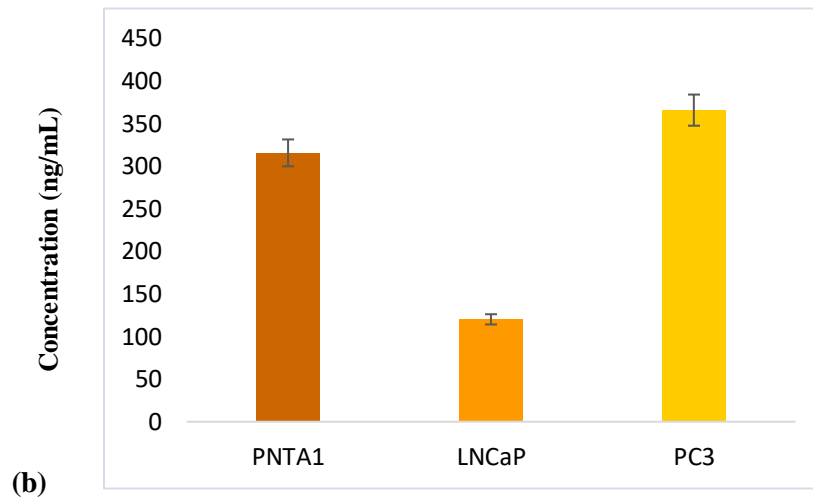
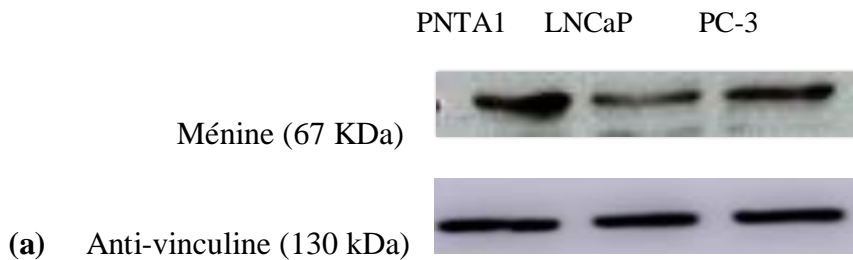


Figure 38. Expression de Menin dans les lignées cellulaires. (a) Par Western blot. (b) Par ELISA

La surexpression de HSP27 et de Menin dans les lignées cellulaires prostatiques indique la possibilité d’être surexprimés également chez notre population CaP, ce qui nous a conduit à poser les questions suivantes :

1/ Quel est le taux d'expression de HSP27 et de Menin chez les patients CaP dans les différents grades de CaP ?

2/ Est-ce que HSP27 et Menin pourraient être de nouveaux biomarqueurs pour le CaP et servir comme des moyens de diagnostic et de pronostique ?

3/ HSP27 et Menin sont-ils des biomarqueurs dépendants ou indépendants ?

4/ Existe-il une corrélation entre le taux d'expression de HSP27, Menin, PSA et le statut clinicopathologique des malades ?

Afin de répondre à toutes ces questions nous avons utilisé deux techniques, à savoir l'ELISA et l'IHC qui vont nous permettre de détecter la présence ou l'absence de HSP27 et de Menin, d'identifier leurs localisations cellulaires ou nucléaire et également de déterminer leurs taux d'expression au niveau sérique et tissulaire.

3. Expressions de HSP27 et de Menin dans le sérum des patients CaP

Les résultats de la **Figure 39a** ont montré la présence de HSP27 dans le sérum de tous les patients. Le niveau d'expression de HSP27 dans le sérum des patients CaP (9.883 ± 0.853 ng/mL) est significativement plus élevé par rapport au groupe témoins sains (2.657 ± 0.214 ng/mL) ($P < 0.0001$).

La concentration moyenne de HSP27 chez les patients CaP par rapport au Score de Gleason (**Figure 39b**) est : [**Score 6(3+3)**] : (6.613 ± 1.202 ng/mL; $P < 0.001$), [**Score 7(3+4)**] : (7.604 ± 1.205 ng/mL; $P < 0.001$), [**Score 7(4+3)**] : (8.740 ± 1.631 ng/mL; $P < 0.0001$), [**Score 8-10**] : (16.208 ± 1.695 ng/mL; $P < 0.0001$).

Les patients CaP ont été divisés en 3 groupes (**Figure 39c**), groupe des patients CaP ayant un cancer non agressif avec un Score de Gleason 6 (3+3) ; groupe composé de patients CaP intermédiaire avec les Scores 7(3+4) et (4+3) et le groupe des cancers agressifs 8-10. Les concentrations moyennes de HSP27 dans chaque groupe sont les suivantes : (6.614 ± 1.202 ng/mL; $P < 0.001$), ($8.172 \pm 1,001$ ng/mL; $P < 0.0001$), (16.208 ± 1.695 ng/mL; $P < 0.0001$) par rapport au témoins sains ($2,657 \pm 0.214$ ng/mL) ($P < 0.0001$).

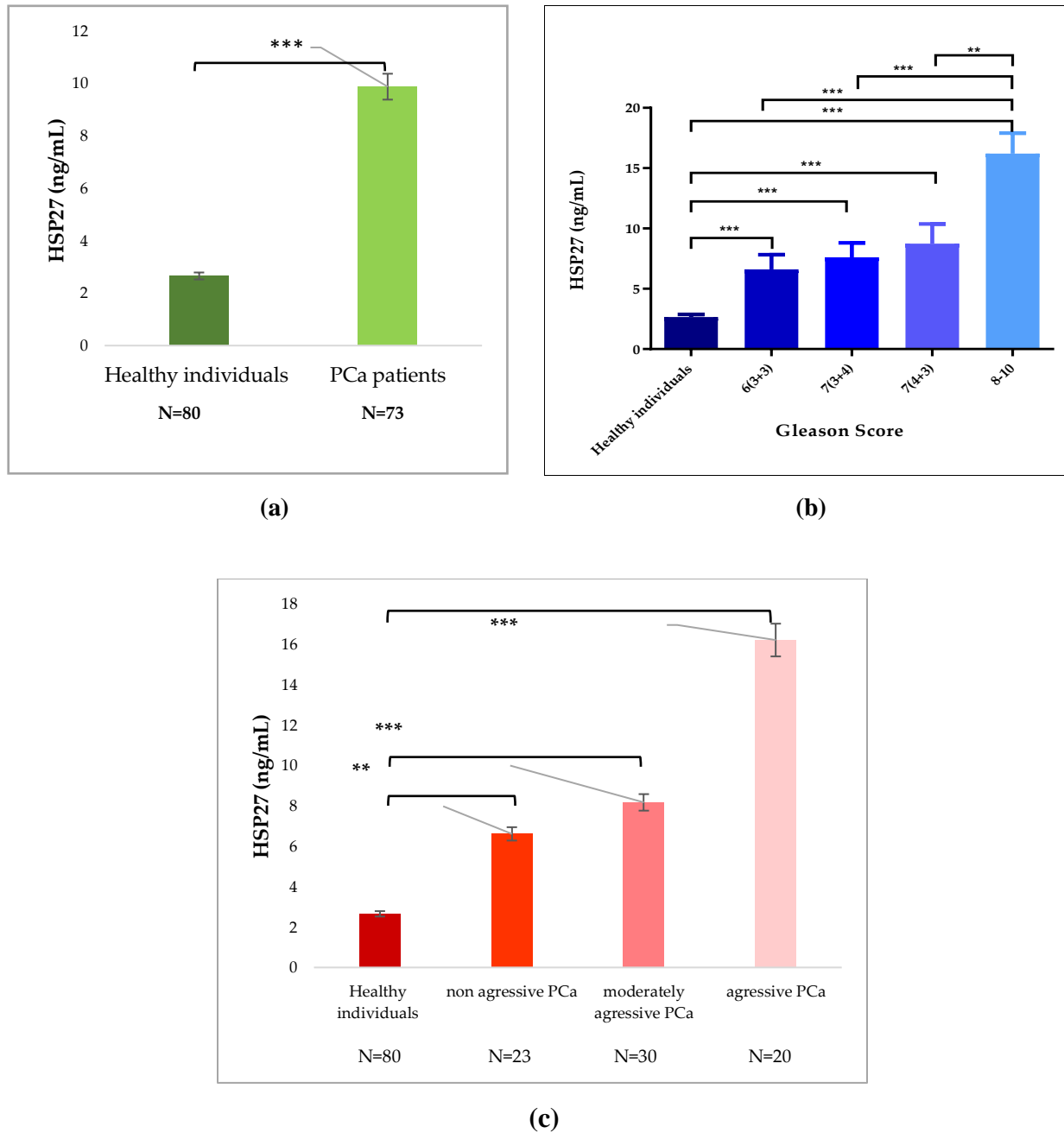
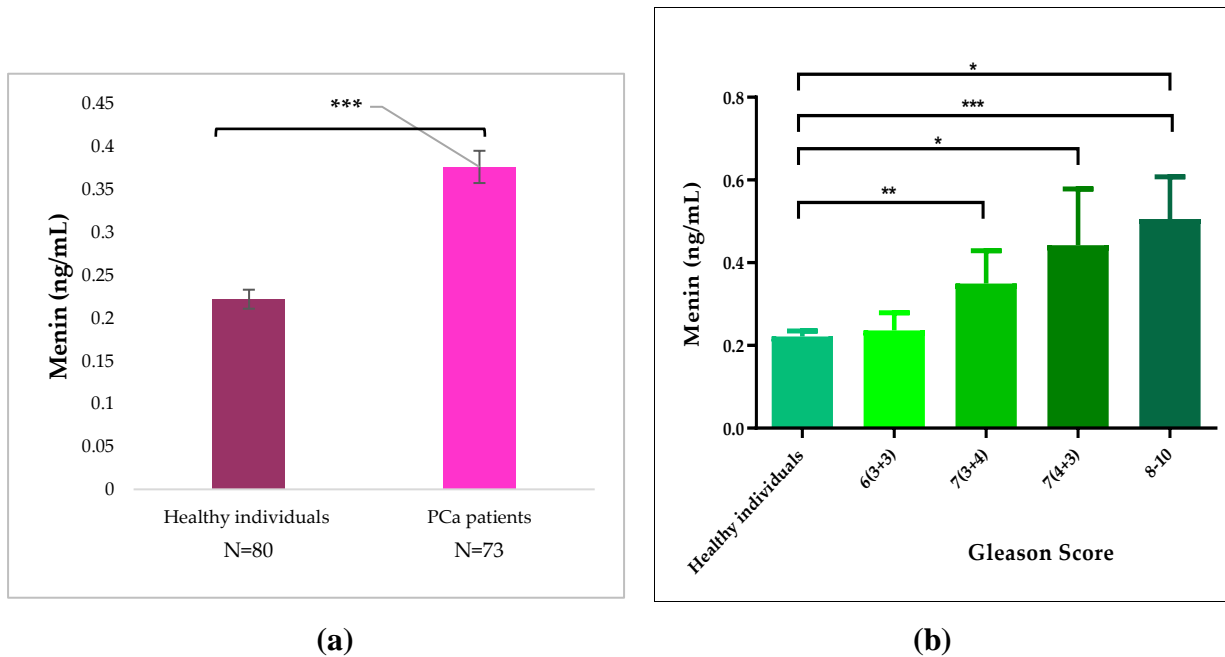


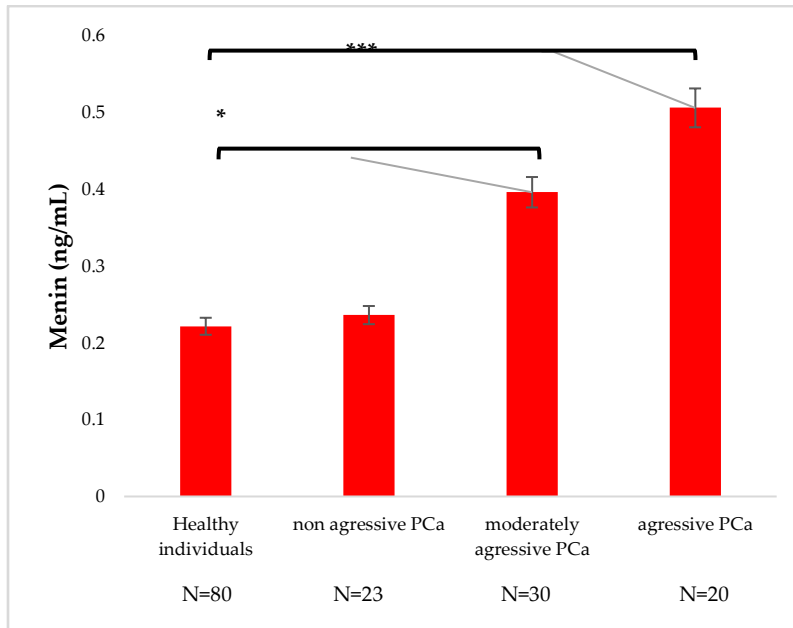
Figure 39. Concentration de HSP27 dans le sérum par Elisa assay. **(a)** expression de HSP27 chez les patients CaP et les témoins ; **(b)** expression de HSP27 selon GS ; **(c)** expression de HSP27 selon l'agressivité de la tumeur.

Les résultats obtenus pour Menin sont présentés dans la **Figure 40**. Menin est surexprimée chez les patients CaP (0.375 ± 0.045 ng/mL) par rapport aux témoins sains (0.221 ± 0.013 ng/mL) ($p < 0.0001$) (**Figure 40a**).

Les concentrations moyennes de Menin (**Figure 40b**) chez les patients CaP par apport au Score de Gleason sont respectivement: [Score 6(3+3) : (0.236 ± 0.043 ng/mL ; $p > 0.05$)], [Score 7(3+4) : (0.349 ± 0.079 ng/mL; $p > 0.05$)], [Score 7(4+3): (0.442 ± 0.135 ng/mL; $p < 0.05$)], [Scores 8-10: (0.505 ± 0.102 ng/mL; $p < 0.0001$)].

Dans le groupe de patients CaP présentant un cancer agressif, la concentration de Menin est significativement plus élevée (0.505 ± 0.102 ng/mL; $p < 0.0001$) par rapport à celui des non-agressifs (0.236 ± 0.043 ng/ml; $p > 0.05$), groupe intermédiaire (0.395 ± 0.077 ng/mL; $p < 0.05$) et aux témoins sains (0.221 ± 0.013 ng/mL) ($p < 0.0001$) (**Figure 40c**).





(c)

Figure 40. Concentration de Menin dans le sérum mesuré par Elisa assay. (a) expression de Menin chez les patients CaP et les témoins ; (b) expression de Menin selon GS ; (c) expression de Menin selon l’agressivité de la tumeur.

4. Expression de HSP27 et de Menin dans les tissus

L’analyse de 57 bloc de tissu humain par IHC a permis d’identifier la localisation cytoplasmique de HSP27 et la localisation nucléaire de Menin. Les **Figures 41 et 42** illustrent clairement l’expression de HSP27 et de Menin en fonction de l’agressivité de la tumeur. L’expression de HSP27 et de Menin était plus forte dans le CaP que dans l’HBP.

Le Quick Score Moyen (QSM) de HSP27 était significativement plus élevée ($182,543 \pm 9,063$) dans les tissus du CaP par rapport à celui de l’hyperplasie bénigne (HPB) ($16,750 \pm 6,485$) ($p < 0,0001$). De plus, le QSM de HSP27 pour l’HBP était significativement plus faible ($16,750 \pm 6,485$; $p < 0,0001$) que celui des CaP non agressifs ($153,676 \pm 22,090$; $p < 0,001$), intermédiaires ($174,625 \pm 14,394$; $p < 0,0001$) et agressifs ($215,00 \pm 6,123$; $p < 0,0001$) (**Figure 41**).

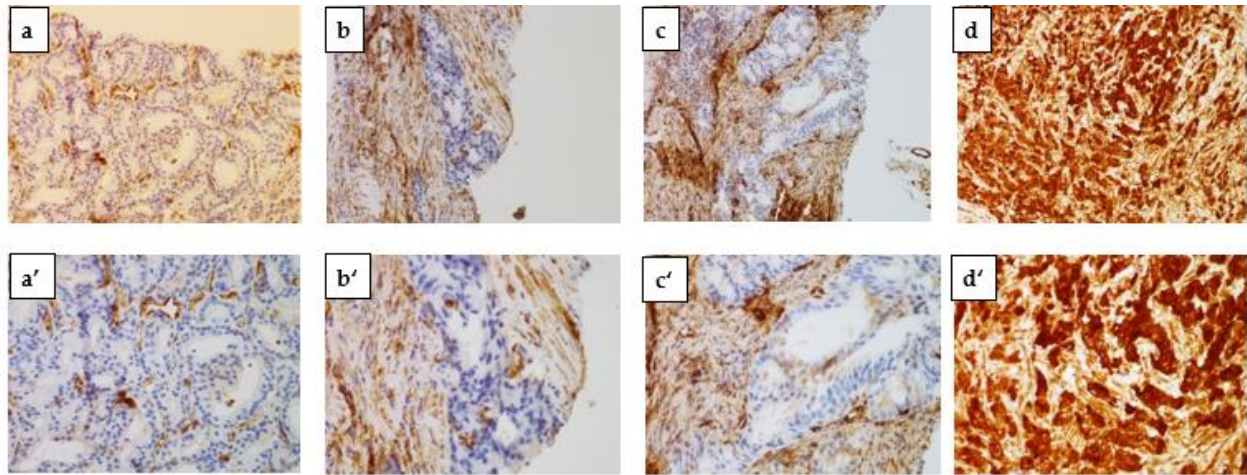


Figure 41. Observation microscopique de sections de tumeurs provenant de biopsies colorées par IHC spécifique pour HSP27. (a,a')HBP, (b,b') faiblement positif (CaP non-aggressif), (c,c'), modérément positif (CaP intermédiaire). (d,d') fortement positive (CaP agressif).
(a – d) x 200 et (a' - d') x 400 grossissement.

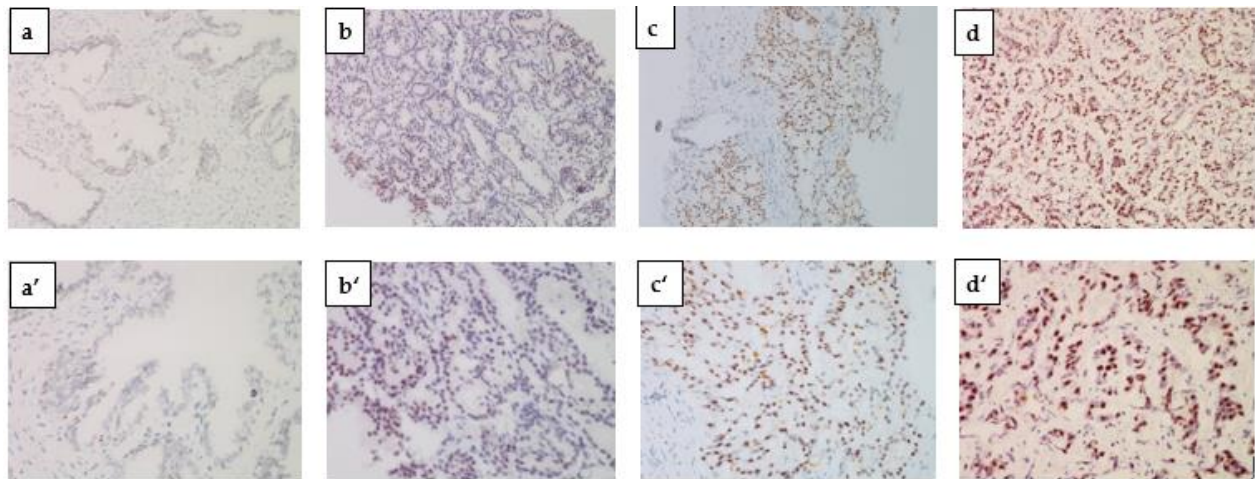


Figure 42. Observation microscopique de sections de tumeurs provenant de biopsies colorées par IHC spécifique pour Menin. (a,a')HBP, (b,b') faiblement positif (CaP non-aggressif), (c,c'), modérément positif (CaP intermédiaire). (d,d') fortement positive (CaP agressif).
(a – d) x 200 and (a' - d') x 400 grossissement.

Le QSM de Menin chez les patients atteints de CaP était significativement plus élevée (168,236 ± 9,042) que dans l'HBP (75 ± 53,033) ($p < 0,0001$).

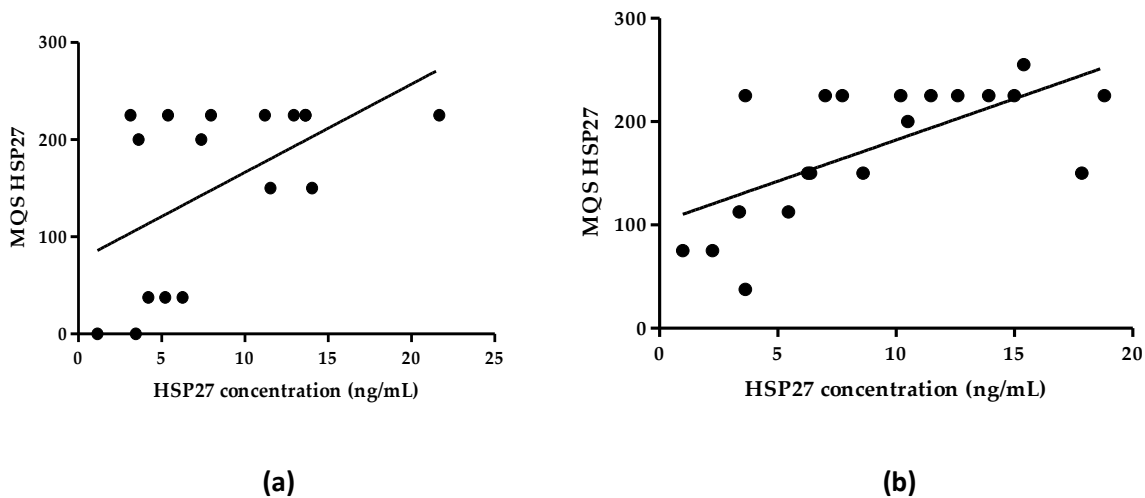
Le QSM de Menin était significativement plus élevée dans les Scores 8-10 (202,500 ± 7,884 ; $p < 0,001$) par rapport aux Score 6(3+3) : (115.558 ± 19.423 ; $p > 0.05$), Score 7(3+4) : (176,785 ± 26,785 ; $p < 0,05$) et Score 7(4+3) : (179.807 ± 14.261 ; $p < 0.05$) (Figure 42).

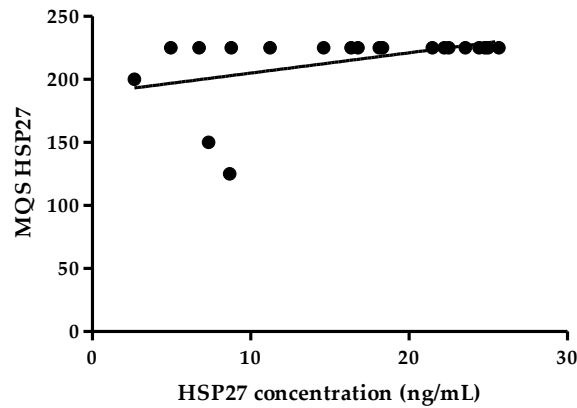
5. Corrélation entre l'expression de HSP27 et de Menin dans le sérum et les tissus

Le coefficient de corrélation linéaire a montré que l'expression de HSP27 dans le sérum des patients atteints de CaP non agressif est significativement corrélée positivement avec son expression dans les tissus ($r = 0,541$; $R = 0,292$; $p = 0,024$) (Figure 43a).

Dans le cas d'un CaP modérément agressif, la corrélation entre l'expression sérique et tissulaire de HSP27 est positivement significative ($r = 0,654$; $R = 0,428$; $p = 0,001$) (Figure 43b).

Dans le cas du CaP agressif, il existe une corrélation significative et positive entre la concentration de HSP27 dans le sérum et le tissu ($r = 0,445$; $R = 0,198$; $p < 0,05$) (Figure 43c).



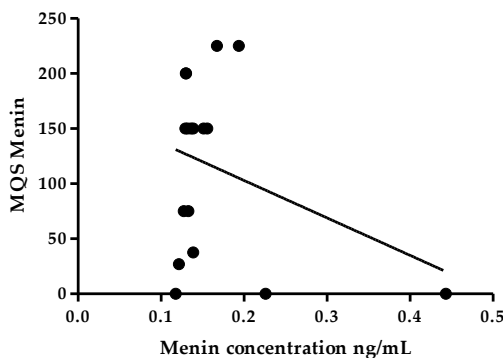


(c)

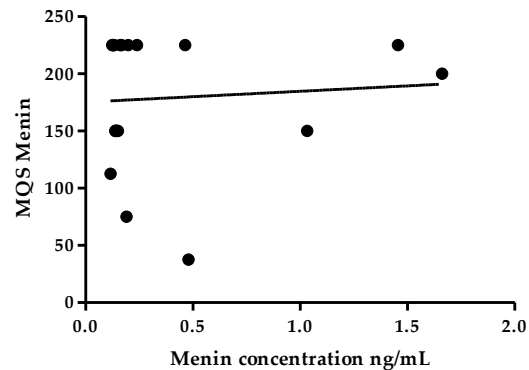
Figure 43. Corrélation entre l'expression sérique et tissulaire de HSP27. (a) Score de Gleason 6 ; (b) Score de Gleason 7 ; (c) Score de Gleason 8-10.

Les **Figures 44a** et **b** montrent que dans les cas de CaP non agressif et intermédiaire, aucune corrélation statistiquement significative entre l'expression de Menin dans le sérum et le tissu n'a été observée ($r = -0,328$; $R = 0,108$; $p = 0,197$) ($r = 0,076$; $R = 0,005$; $p = 0,749$) respectivement.

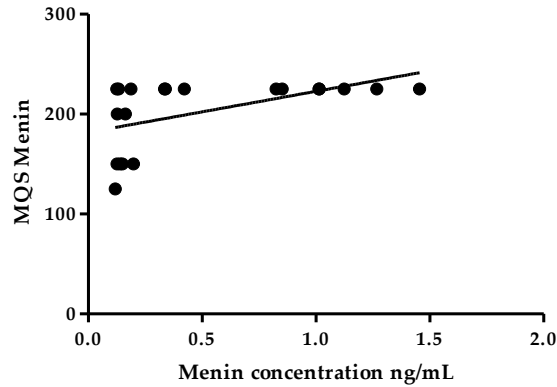
Cependant, dans les cas de CaP agressif, l'expression sérique de Menin est significativement corrélée positivement avec son expression dans les tissus ($r = 0,528$; $R = 0,281$; $p = 0,01$) (**Figure 44c**).



(a)



(b)



(c)

Figure 44. Corrélation entre l'expression sérique et tissulaire de Menin. (a) Score de Gleason 6 ; (b) Score de Gleason 7 ; (c) Score de Gleason 8-10.

6. Corrélation entre HSP27 et Menin

Une analyse univariée utilisant le test de Preason a montré que les concentrations de HSP27 et de Menin chez les contrôles sains n'étaient corrélées ni dans le sérum ($r = -0,1257$; $R = 0,015$; $p = 0,266$) ni dans le tissu ($r = 0,50$; $R = 0,258$; $p = 0,49$) (**Figure 45**).

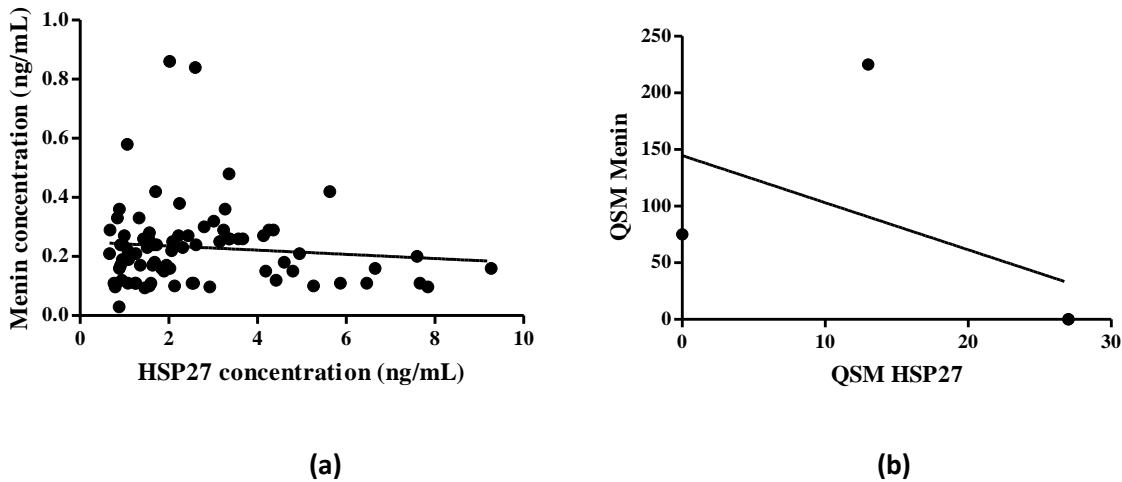


Figure 45. Corrélation entre l'expression de HSP27 et de Menin dans le sérum et les tissus des témoins sains. (a) HSP27 et Menin dans le sérum de témoins sains ; (b) HSP27 et Menin dans les tissus de témoins sains.

Nous n'avons pas observé de corrélation linéaire entre les niveaux d'expression de HSP27 et de Menin dans le sérum des patients atteints de CaP non agressif ($r = -0,108$; $R = 0,011$; $p = 0,677$) (**Figure 46a**), en revanche, une corrélation inverse significative entre HSP27 et Menin dans le sérum des patients atteints de CaP modérément agressif a été observée ($r = -0,497$; $R = 0,247$; $p = 0,025$) (**Figure 46b**). Dans le cas du PCa agressif, l'expression de HSP27 est significativement corrélée positivement avec l'expression de Menin dans le sérum ($r = 0,664$; $R = 0,441$; $p = 0,001$) (**Figure 46c**).

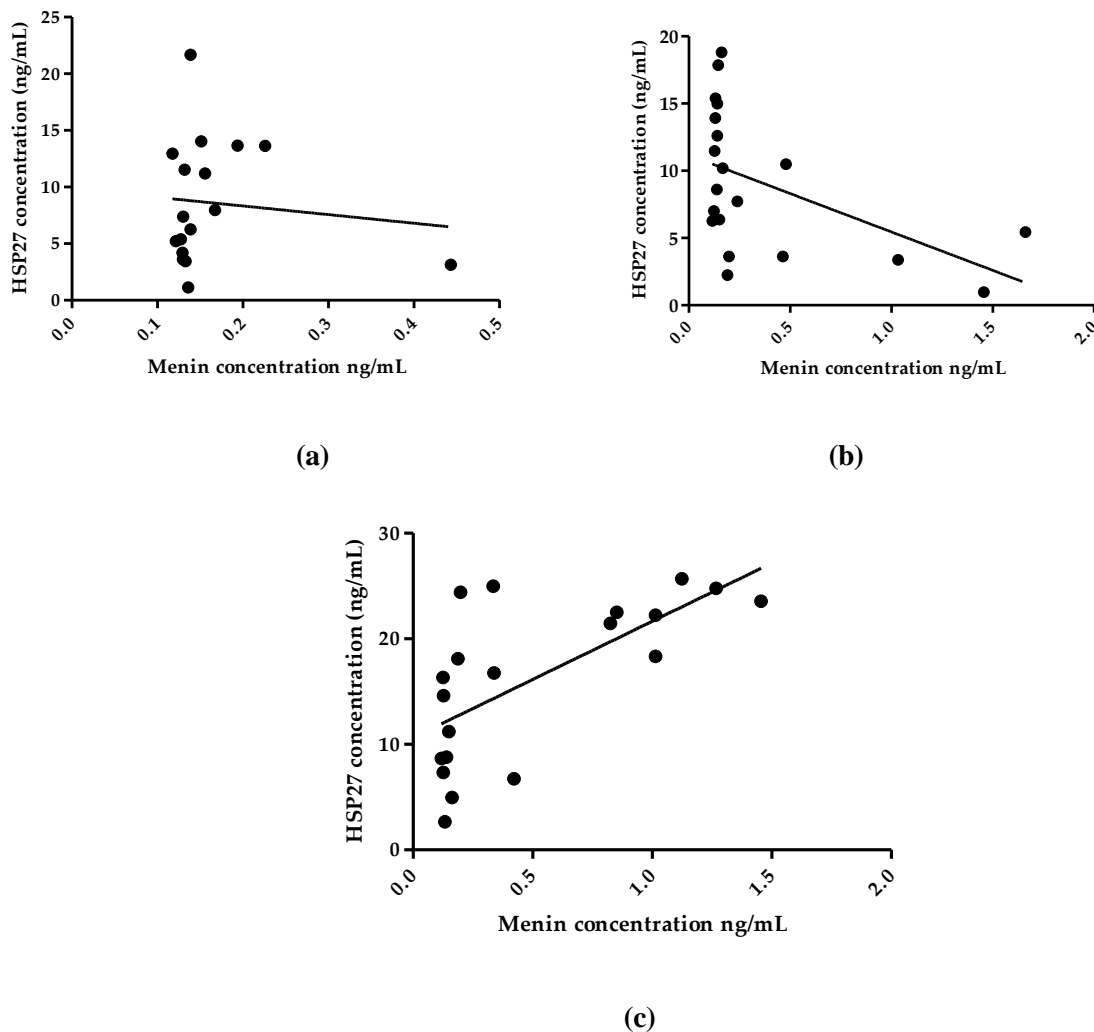


Figure 46. Corrélation entre l'expression sérique de HSP27 et de Menin chez les patients atteints de PCa. (a) Score de Gleason 6 ; (b) Score de Gleason 7 ; (c) Score de Gleason 8-10.

La corrélation entre l'expression de HSP27 et de Menin dans les tissus (**Figure 47a et b**) montre que ces deux biomarqueurs ne sont pas corrélés dans les tissus des patients CaP non agressifs et modérément agressifs ($r = 0,143$; $R = 0,020$; $p = 0,582$) ($r = 0,245$; $R = 0,060$; $p = 0,294$) respectivement, mais qu'ils sont significativement corrélés positivement dans les tissus des patients atteints de CaP agressif ($r = 0,606$; $R = 0,367$; $p = 0,004$) (**Figure 47c**). Ces résultats suggèrent que HSP27 et Menin pourraient être des biomolécules dépendants pour le diagnostic et le pronostic du CaP agressif.

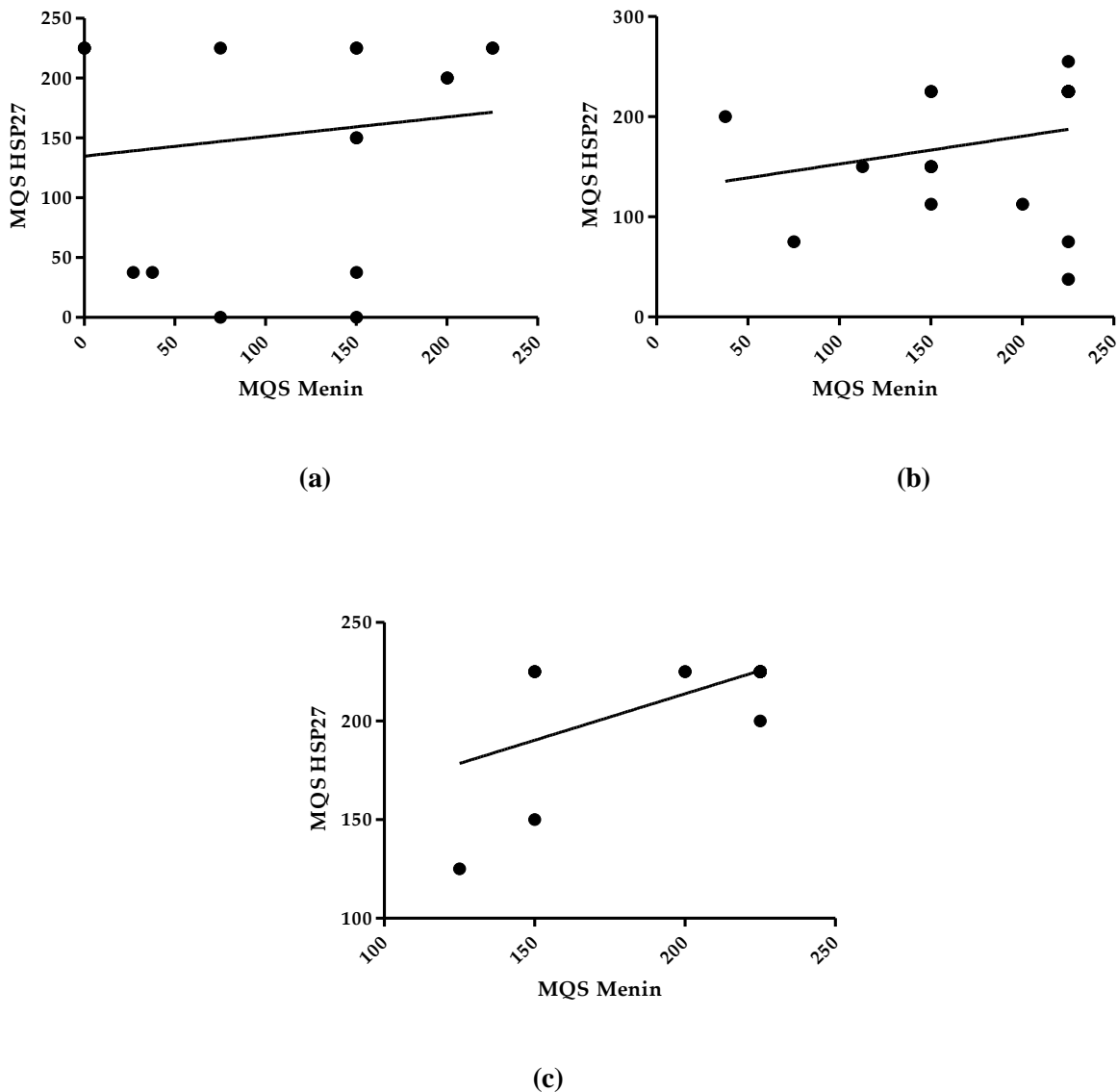


Figure 47. Corrélation entre l'expression sérique de HSP27 et de Menin chez les patients atteints de CaP.(a) Score de Gleason 6 ; (b) Score de Gleason 7 ; (c) Score de Gleason 8-10.

7. ACP des paramètres biologiques chez les patients atteints de CaP

Une analyse multivariée utilisant l'ACP chez tous les patients atteints de CaP a montré une corrélation positive entre HSP27 et Menin aussi bien dans le sérum ($r = 0,269$; $p = 0,021$), que dans les tissus ($r = 0,561$; $p < 0,0001$) (**Figure 48**).

Dans le sérum, HSP27 et Menin étaient respectivement positivement corrélées avec leur expression tissulaire ($r = 0,522$, $p < 0,0001$) et ($r = 0,288$; $p = 0,015$). Une corrélation significative a été obtenue entre HSP27 ($r = 0,452$; $p < 0,001$), Menin ($r = 0,335$; $p < 0,001$) et le Score de Gleason ; cependant, aucune association n'a été observée entre HSP27 et Menin, respectivement, ni avec l'âge ($r = -0,170$; $p = 0,103$) et ($r = -0,087$; $p = 0,261$) ni avec le PSA ($r = -0,084$; $p = 0,267$) et ($r = 0,005$; $p = 0,486$).

Dans le tissu, le Score de Gleason était corrélé avec l'expression de HSP27 ($r = 0,687$; $p < 0,0001$) et de Menin ($r = 0,506$; $p < 0,001$) ; aucune corrélation n'a été obtenue avec l'âge ($r = -0,057$; $p = 0,337$) et le PSA ($r = -0,128$; $p = 0,185$).

D'après les résultats de l'ACP, le PSA n'était pas corrélé avec le Score de Gleason ($r = -0,128$; $p = 0,185$), ni avec HSP27, que ce soit dans le sérum ($r = -0,083$; $p = 0,269$) ou dans les tissus ($r = 0,039$; $p = 0,387$), ni avec Menin, que ce soit dans le sérum ($r = 0,005$; $p = 0,486$) ou dans les tissus ($r = -0,022$; $p = 0,436$), ni avec l'âge ($r = 0,113$; $p = 0,202$) et ni avec la progression de la maladie (**Figure 48**). Ces résultats ont donc mis en évidence l'importance de rechercher de nouveaux biomarqueurs tels que HSP27 et Menin.

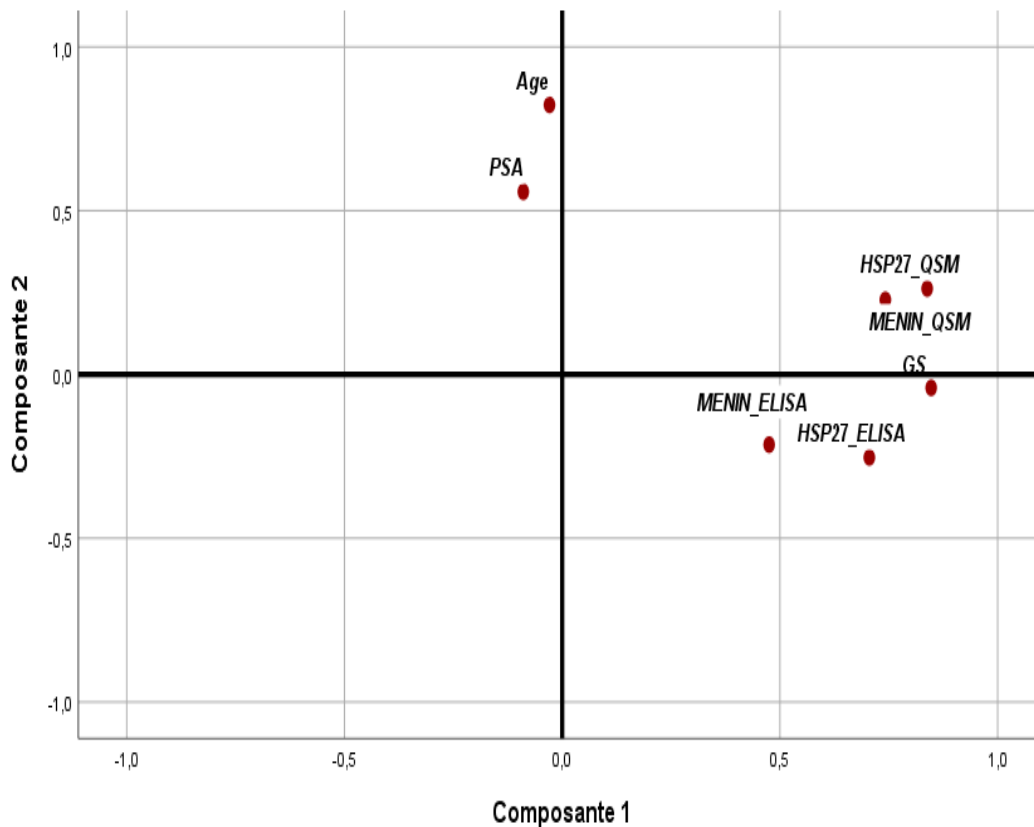
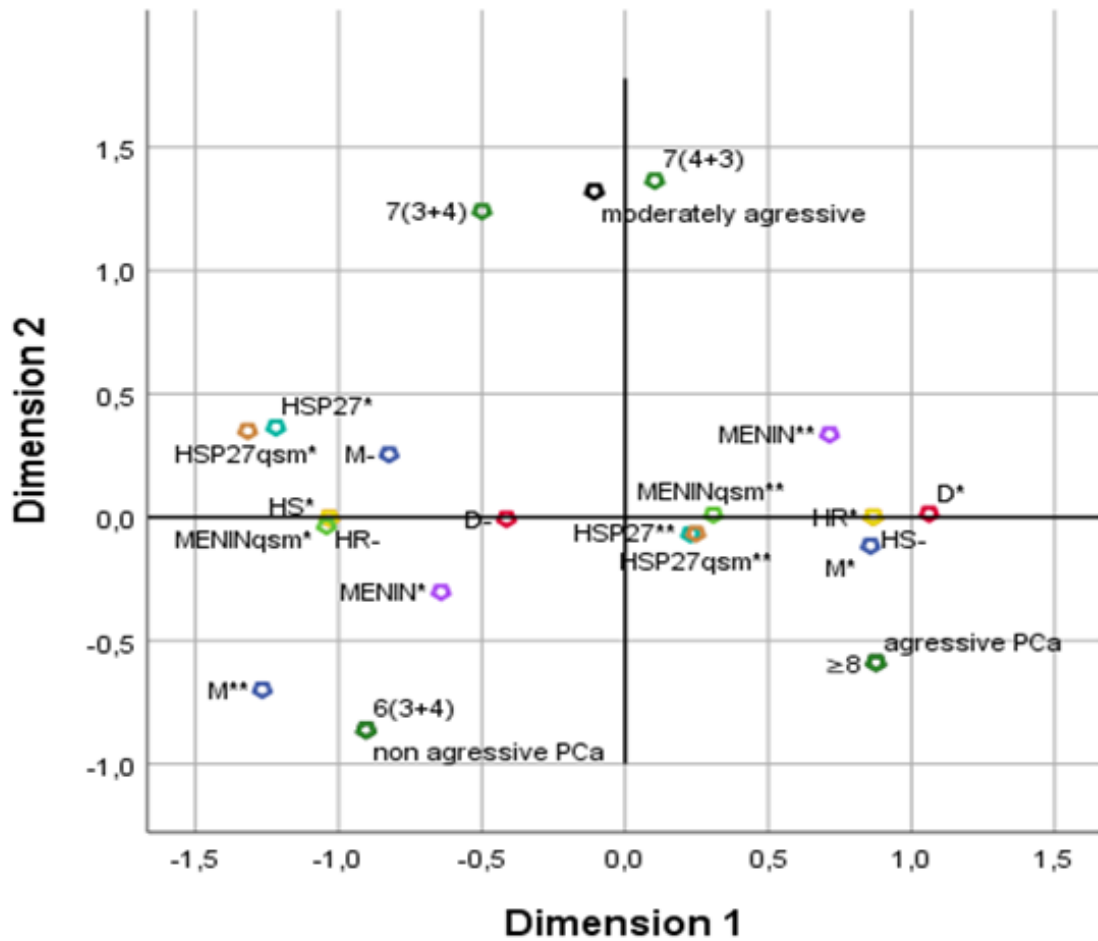


Figure 48. ACP des paramètres biologiques (HSP27_QSM, MENIN_QSM : expression de HSP27 et de Menin dans les tissus ; HSP27_ELISA, MENIN_ELISA : expression de HSP27 et de Menin dans le sérum).

8. AFC des paramètres biologiques et cliniques de la population étudiée

L'AFC est une extension de l'ACP permettant d'analyser l'association entre deux ou plusieurs variables qualitatives sur la base de la valeur propre moyenne du coefficient alpha de Cronbach $\geq 0,7$ (0,814 dans notre étude) et de la valeur propre totale des dimensions $\geq 50\%$ (75% dans notre étude). L'analyse de HSP27 par AFC multifactorielle a montré une corrélation positive avec Menin, que ce soit dans le sérum ou dans le tissu. La surexpression de HSP27 et de Menin dans le sérum et les tissus a été corrélée avec le HR, l'agressivité tumorale, les métastases, le Score de Gleason et le décès. Les faibles niveaux d'expression de HSP27 et de Menin étaient corrélés avec le HS, tumeur non agressive, le Score de Gleason et la survie (**Figure 49**).



- ◻ agressiveness
- ◻ Death
- ◻ GS
- ◻ HR
- ◻ HS
- ◻ HSP27 elisa
- ◻ HSP27 qsm
- ◻ MENIN elisa
- ◻ MENIN qsm
- ◻ Metastasis

Figure 49. AFC des paramètres cliniques. M* : Métastase, M- : Pas de métastase, M** : Guérison, D*mort, D- : Survie, HSP27** : surexpression de HSP27 dans le sérum, HSP27qsm** : surexpression de HSP27 dans le tissu, Menin** : surexpression de Menin dans le sérum, Menin qsm** : surexpression de Menin dans le tissu, HR* : Hormono-Résistance, HR- : Pas de Hormono-Resistance, HS* : Hormono-Sensibilité, HS- : Pas de Hormono-Sensibilité.

9. Analyse des données par la courbe ROC

Afin de mieux comprendre l'intérêt diagnostique et pronostic de HSP27, de Menin et de PSA dans les cas du CaP, une analyse ROC a été réalisée. Les courbes ROC montrent la relation entre les taux de vrai et de faux-positifs ainsi que la valeur AUC. HSP27, Menin et PSA présentant des valeurs supérieures ou égales à 0,7 ont été validés. La quantification de la probabilité de décès a été évaluée par l'AUC.

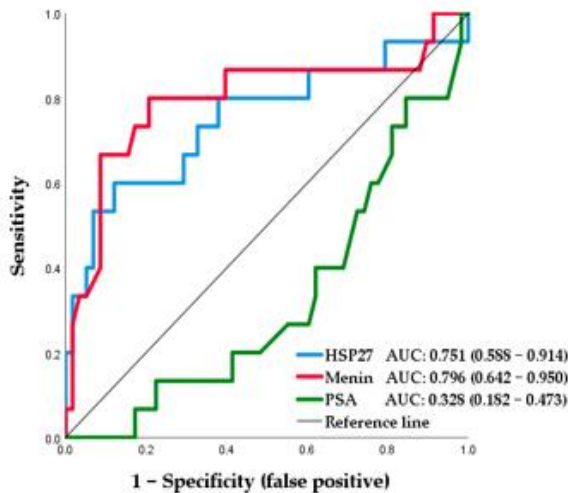
La courbe ROC a permis de déterminer les seuils optimaux statistiquement significatifs représentant la valeur la plus discriminante, associée au meilleur couple sensibilité/spécificité : **i)** 9,310 ng/mL pour HSP27 dans le sérum avec une sensibilité de 80 % mais une faible spécificité de 37 %, **ii)** 0,304 ng/mL pour Menin dans le sérum avec une sensibilité de 80 % et une faible spécificité de 20 %, et **iii)** 21,655 ng/mL pour le PSA dans le sérum avec une sensibilité de 66 % et une spécificité de 81%. La valeur optimale la plus élevée des biomarqueurs HSP27 et de Menin se traduit par une augmentation du nombre de vrais positifs en comparaison avec celui de PSA qui indique une augmentation du nombre de faux positifs. Cependant, les valeurs optimales de HSP27 et de Menin peuvent être utilisées pour identifier les patients présentant un risque élevé de décès. Comme le montre la **Figure 50a**, l'analyse de la courbe ROC pour la mortalité a montré que le PSA avait la valeur AUC la plus faible correspondant à 0,328 (IC à 95 % : 0,182-0,473, $p = 0,041$) ; la valeur AUC pour la concentration sérique de HSP27 et de Menin était respectivement de 0,751 (IC à 95 % : 0,588-0,914, $p = 0,003$) et de 0,796 (IC à 95 % : 0,642-0,950, $p < 0,0001$). Nous avons appliqué les valeurs seuils optimales à la validation des biomarqueurs combinés HSP27, Menin et PSA (**Figure 50b**) et nous avons obtenu la même valeur AUC que celle de HSP27.

La précision de la prédiction de l'agressivité a également été évaluée par la courbe ROC. Les résultats ont montré ce qui suit : **i)** 75 % de sensibilité et 13 % de spécificité à une valeur seuil optimale de 17,985 ng/mL pour HSP27 dans le sérum ; **ii)** 75 % de sensibilité et 15 % de spécificité à une valeur seuil optimale de 0,636 ng/mL pour Menin dans le sérum ; **iii)** 26 % de sensibilité et 60 % de spécificité à une valeur seuil optimale de 60 ng/mL pour le PSA dans le sérum. Les valeurs seuils de HSP27 et de Menin ont été deux fois augmentées en comparaison avec les valeurs seuils obtenus avec le ROC prédisant la mort. L'AUC la plus élevée de 0,906 (IC 95 % : 0,833-0,979 ; $p = 0,007$) a été obtenue pour HSP27 ; une AUC intermédiaire de 0,862

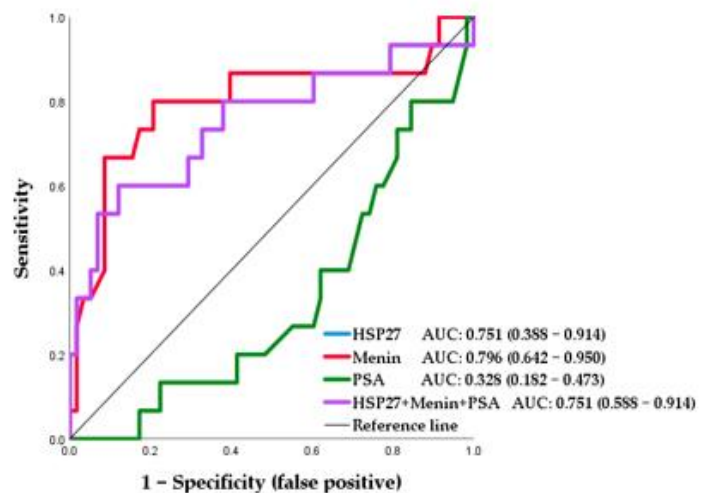
(IC 95 % : 0,756-0,968 ; $p = 0,015$) a été obtenue pour Menin ; l'AUC la plus faible de 0,591 (IC 95 % : 0,267-0,915 ; $p = 0,545$) a été obtenue pour le PSA.

La combinaison HSP27/Menin était statistiquement plus élevée que le PSA et a amélioré de manière significative les valeurs diagnostiques et pronostiques ; elle a présenté la meilleure performance avec une AUC de 0,824 (IC 95 % , 0,730-0,918 ; $p < 0,0001$) (**Figure 50c**). Cependant, la combinaison HSP27/Menin/PSA a diminué la valeur diagnostique avec une valeur AUC de 0,569 (IC 95 % , 0,428-0,710 ; $p = 0,645$) (**Figure 50d**). Les résultats de l'analyse ROC suggèrent que HSP27 et Menin sont associés avec la mortalité et l'agressivité mais pas avec le taux de PSA.

Le PSA ne peut pas être utilisé comme facteur pronostique chez les patients atteints de CaP. Par contre, HSP27 et Menin pourraient être utilisés comme biomarqueurs tumoraux à des valeurs supérieures ou égales à 9,310 et 0,304 ng/mL respectivement.



(a)



(b)

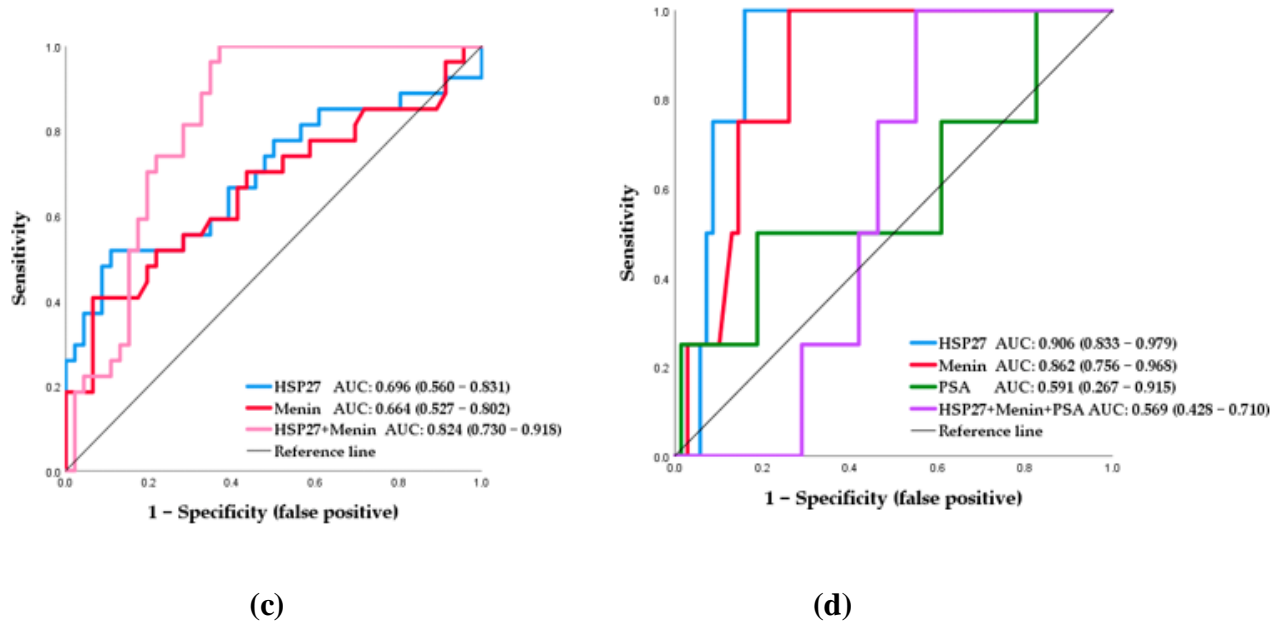


Figure 50. Analyse ROC. (a,b) HSP27, Menin, PSA par rapport au décès ; (c,d) HSP27, Menin, PSA par rapport à l'agressivité. HSP27 : protéine de choc thermique, PSA : antigène spécifique de la prostate, ROC : receiver operating characteristic, AUC : area under curve.

10. Evaluation de la survie par Kaplan Meier

Pour évaluer les chances de survie et le risque de décès, nous avons utilisé la méthode d'analyse de survie de Kaplan-Meier. Les hommes ont été suivis pendant 3 à 5 ans à partir de la date du diagnostic. Les groupes de patients ont été définis par les valeurs seuils de HSP27, Menin et PSA qui ont été déterminé par l'analyse ROC. Les patients vivants lors du dernier suivi ont été censurés, les décès étant considérés comme un événement.

Au cours du suivi des 73 patients, des métastases ont été trouvées chez 29 (39,72 %) patients ; 15 (20,54 %) hommes sont décédés du CaP. Plus l'âge au moment du diagnostic augmentait, plus les hommes présentaient une comorbidité. Les courbes de survie sont présentées dans la **Figure 51**.

Les âges médians des patients présentant une faible concentration de HSP27 et de Menin étaient plus élevés que ceux des patients présentant une concentration élevée de HSP27 et de Menin. L'analyse par la courbe de Kaplan-Meier liée au décès a montré que la survie globale des patients présentant une concentration de HSP27 < 9,310 ng/mL (94,9 %) était significativement meilleure que celle des patients présentant une concentration de HSP27 > 9,310 ng/mL (61,8 % ;

Log Rank $p = 0,008$) (**Figure 51a**). La survie médiane des patients présentant des concentrations de HSP27 $> 9,310$ ng/mL était de $53,000 \pm 1,805$ mois (IC 95 %, 49,462-56,538). La survie des patients CaP est nettement diminuée chez les personnes présentant une concentration de Menin $> 0,304$ ng/mL (50,0 %) par rapport à une valeur $< 0,304$ ng/mL (93,9 % ; Log Rank $p < 0,0001$) (**Figure 51b**). La survie médiane des patients présentant une valeur de Menin $> 0,304$ ng/mL était de $48,000 \pm 2,629$ mois (IC 95 %, 42,848-53,152). Des taux de survie plus faibles ont été obtenus pour PSA $> 21,655$ ng/mL (68,86 %) que pour PSA $< 21,655$ ng/mL (82,5 %) (Log Rank $p = 0,109$) (**Figure 51c**) ; aucune différence significative n'a été observée. La survie médiane des patients présentant un taux de PSA $< 21,655$ ng/mL était de $53,000 \pm 3,640$ mois (IC 95 %, 45,866-60,134).

Ces résultats ont révélé que les niveaux élevés de l'expression de HSP27 et de Menin étaient associés à un pronostic plus défavorable chez les patients CaP et pouvaient prédire le décès lié au cancer. Cependant, l'expression de PSA n'était pas significativement associée à la survie des patients atteints de CaP (Log Rank $p = 0,055$).

Les taux de survie des patients en fonction du statut métastatique du CaP, HSP27, Menin et PSA ont également été évalués par la méthode Kaplan-Meier, qui a permis d'obtenir dans le cas de HSP27 $> 9,310$ ng/mL une survie globale sans métastase de 38,2 % (Log Rank $p = 0,018$) (**Figure 51d**) avec une survie médiane de $50,000 \pm 1,688$ mois (IC 95 %, 46 691-53 309). La survie globale sans métastase pour Menin $> 0,304$ ng/mL était statistiquement significative (20,8 % ; Log Rank $p < 0,0001$) avec une survie médiane de $46,000 \pm 5,296$ mois (IC 95 %, 35,620-56,380).

En ce qui concerne Menin $< 0,304$ ng/mL, la survie globale sans métastase était statistiquement significative (79,6 % ; Log Rank $p < 0,0001$) (**Figure 51e**) avec une survie médiane de $53,000 \pm 0,609$ mois (IC 95 %, 51,806-54,194). Il n'y avait pas de différence significative pour le PSA. Des taux de survie plus faibles ont été obtenus pour un PSA $> 21,655$ ng/mL (56,3 %) avec une survie médiane de $50,000 \pm 2,627$ mois (IC 95 %, 44,852-55,148) par rapport à un PSA $< 21,655$ ng/mL (61,4 %) (Log Rank $p = 0,232$) avec une survie médiane de $53,000 \pm 0,870$ mois (IC 95 %, 51,294-54,706) (**Figure 51f**).

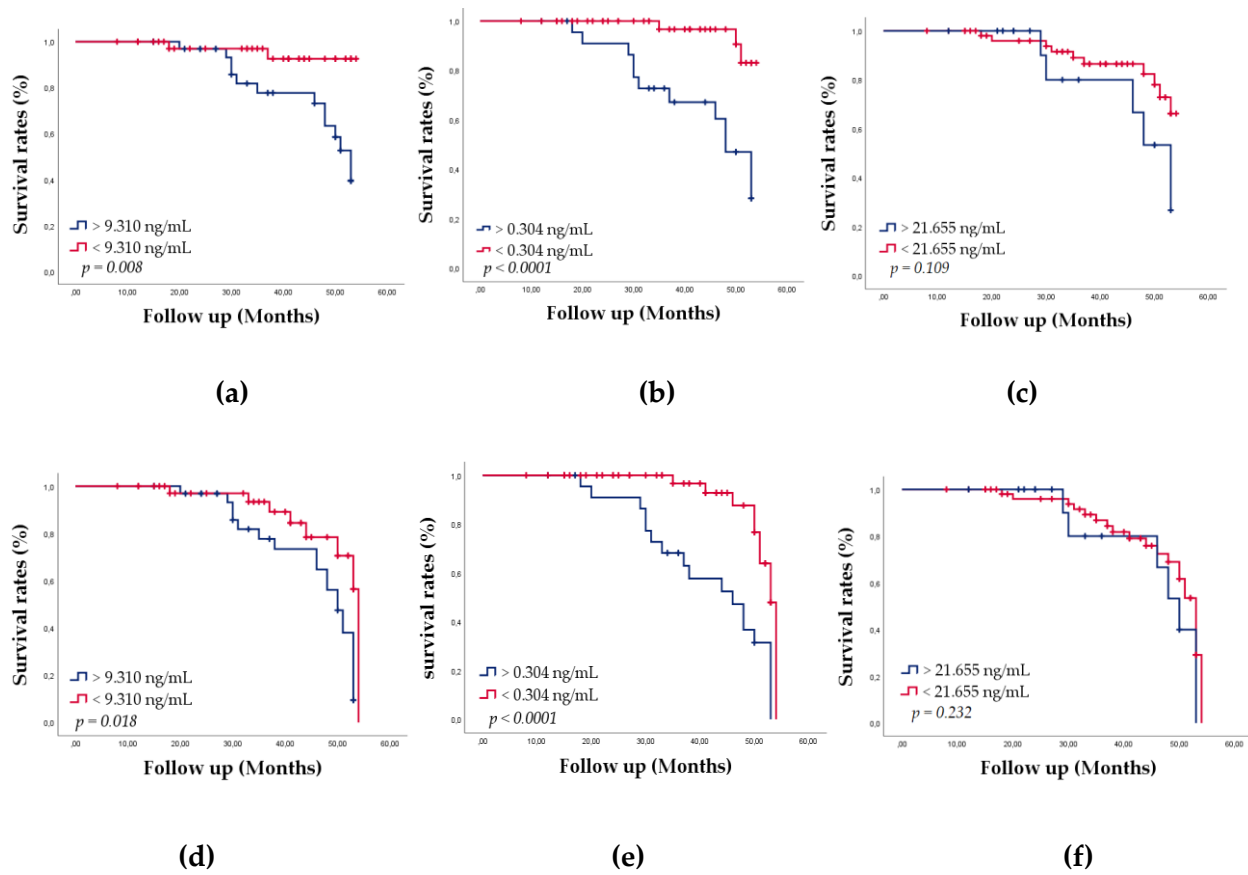


Figure 51. Survie globale en fonction du décès : impact de (a) HSP27, (b) Menin et (c) PSA en concentrations (ng/mL) sur la survie spécifique au PCa. Survie globale en fonction des métastases : impact des concentrations (d) de HSP27, (e) de Menin et (f) de PSA (ng/mL) sur la survie spécifique au CaP. Les valeurs optimal d' HSP27, Menin et PSA étaient respectivement de 9,310, 0,304 et 21,655 ng/mL. Les valeurs *p* ont été calculées à l'aide de test Log Rank.

Nos résultats montrent que HSP27 et Menin sont surexprimées aussi bien dans les tissus que dans le sérum des patients CaP. Les niveaux de HSP27 et de Menin peuvent indiquer les différents stades du CaP, et la mesure de leurs concentrations sériques par ELISA peut être utile pour le dépistage du CaP agressif. Ces molécules offrent la possibilité de leur utilisation prospective comme marqueurs moléculaires pronostiques.

Ces résultats sont biologiquement significatifs non seulement pour l'étude de l'apparition et de la progression du CaP, mais aussi pour la détection clinique des individus qui nécessitent un traitement rapide et efficace pour contrôler cette maladie potentiellement mortelle. L'utilisation de ces biomarqueurs fournit les données biologiques nécessaires pour concentrer les ressources disponibles sur le traitement efficace de ce groupe à haut risque.

Chapitre II
Association CaP, HLA et HSP27/Menine

1. Distribution des molécules HLA dans la population étudiée

La **Figure 52** représente la répartition des classes HLA I et HLA II dans la population étudiée. Chez les patients, les allèles HLA-DQB (34,79%) sont les plus fréquents, suivie des allèles HLA-DRB1 (24,90%) puis HLA-A (21,24%). Les allèles HLA-B (10,98%) et HLA-C (8,05%) sont les moins fréquents. Chez les témoins, les fréquences des allèles sont comme suit : HLA-DQB (41,75%), HLA-DRB1 (22,71%), HLA-A (22,34%), HLA-C (21,61%) et HLA-B (12,45%).

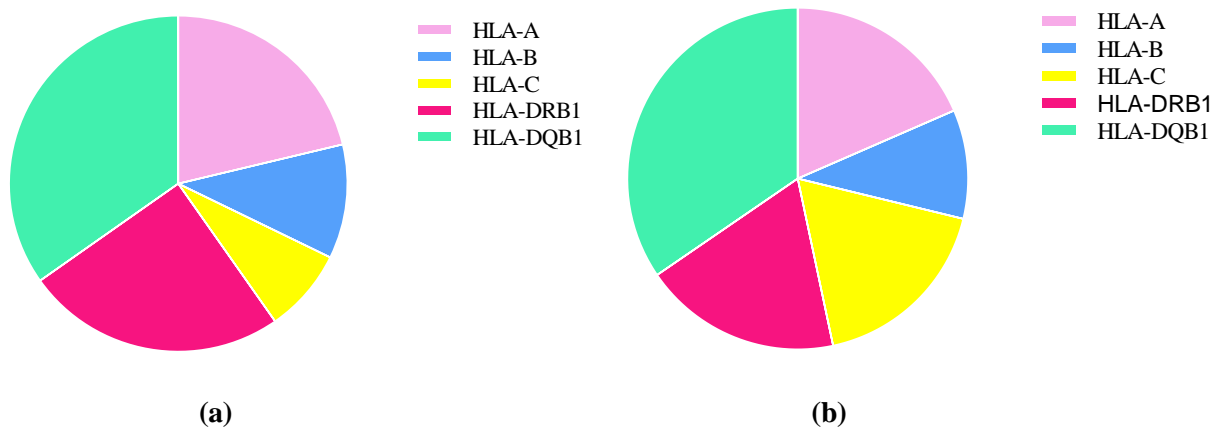


Figure 52. Répartition des classes des molécules HLA - A, B, C, DR, DQ chez les (a) Patients et les (b) Témoins.

La **Figure 53** montre la répartition des molécules HLA chez les patients et chez les témoins. Les allèles HLA-A*02 (48,37%), HLA-B*50 (15,62%), HLA-C*07 (15,62%), HLA-DRB1*04 (31,25%) et HLA-DQB1*03 (51,56%) sont les plus fréquents parmi les patients. Ces résultats sont identiques chez les témoins, à l'exception de HLA-DQB1*01 (52,23%) qui est plus fréquent chez les témoins.

En comparant la répartition des allèles des loci étudiés chez les patients et les témoins, nous remarquons une diminution de la fréquence de certains allèles chez les patients CaP par rapport aux témoins. En effet, les résultats montrent une fréquence élevée des allèles HLA-A3, HLA-A24, HLA-B7, HLA-B44, HLA-B50, HLA-C2, HLA-C4, HLA-C7, HLA-C15, HLA-DQB1, HLA-DQB5 et HLA-DQB6. Ainsi, sur un total de 20 allèles étudiés, 12 allèles ont des fréquences alléliques plus élevées chez les témoins. Ces résultats seraient probablement dus à une perte de molécules HLA chez les patients. Ce phénomène a été rapporté dans la littérature.

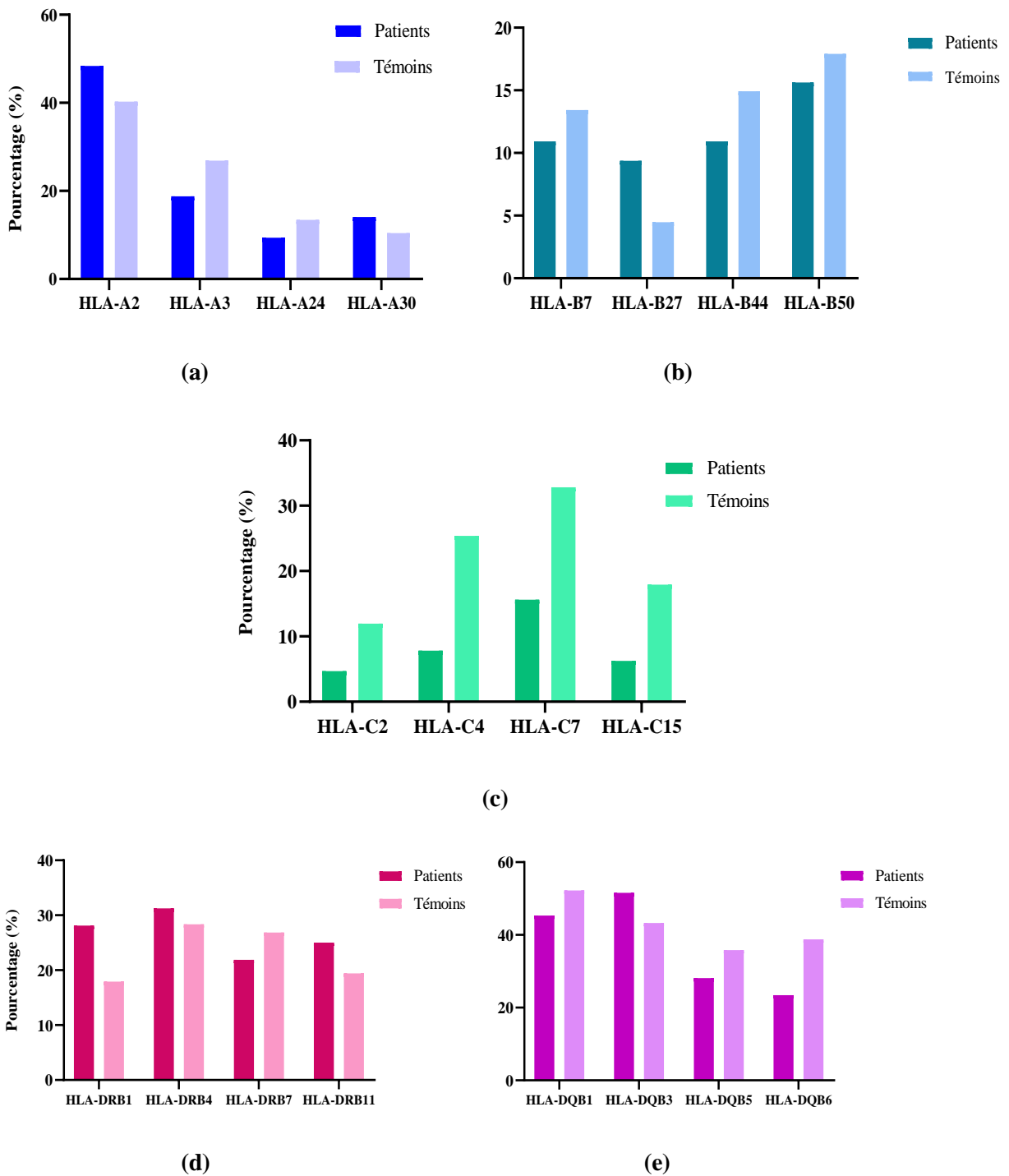


Figure 53. Distribution des Allèles HLA chez les patients et les témoins. (a) HLA-A, (b) HLA-B, (c) HLA-C, (d) HLA-DR, (e) HLA-DQ.

2. Association molécules HLA et CaP

Les molécules HLA ne présentent pas d'association avec le CaP (**Tableau 8**), à l'exception des allèles HLA-C*04 et HLA-C*07 qui ont montré une association significative avec des OR respectifs de 0,249 ($p = 0,009$) et 0,378 ($p = 0,026$).

Tableau 8. Association des molécules HLA et du CaP.

Allèles HLA	Patients N= 64 n (%)	Témoins N=67 n (%)	OR	IC 95%	p - value
HLA-A*02	31 (24,185)	27 (20,145)	1,392	(0,704 - 2,793)	0,382
HLA-A*03	12 (9,375)	18 (13,430)	0,628	(0,279 - 1,378)	0,303
HLA-A*24	6 (4,685)	9 (6,715)	0,666	(0,218 - 1,958)	0,586
HLA-A*30	9 (7,030)	7 (5,220)	1,403	(0,503 - 3,689)	0,599
HLA-B*07	7 (5,465)	9 (6,715)	0,791	(0,300 - 2,202)	0,791
HLA-B*27	6 (4,685)	3 (2,235)	2,207	(0,584 - 8,297)	0,317
HLA-B*44	7 (5,465)	10 (7,460)	0,700	(0,268 - 1,824)	0,606
HLA-B*50	10 (7,810)	12 (8,955)	0,848	(0,326 - 2,064)	0,816
HLA-C*02	3 (2,340)	8 (5,970)	0,362	(0,100 - 1,283)	0,207
HLA-C*04	5 (3,905)	17 (12,685)	0,249	(0,096 - 0,680)	0,009
HLA-C*07	10 (7,810)	22 (16,415)	0,378	(0,162 - 0,900)	0,026
HLA-C*15	4 (3,125)	12 (8,955)	0,305	(0,103 - 0,913)	0,060
HLA-DRB1*01	18 (14,060)	12 (8,955)	1,793	(0,815 - 4,008)	0,212
HLA-DRB1*04	20 (15,625)	19 (14,175)	1,148	(0,549 - 2,418)	0,848
HLA-DRB1*07	14 (10,935)	18 (13,430)	0,762	(0,345 - 1,753)	0,546

HLA-DRB1*11	16 (12,500)	13 (9,700)	1,385	(0,620 -3,249)	0,529
HLA-DQB1*02	29 (22,655)	35 (26,115)	0,757	(0,381 - 1,483)	0,485
HLA-DQB1*03	33 (25,780)	29 (21,640)	1,395	(0,711 - 2,779)	0,384
HLA-DQB1*05	18 (14,060)	24 (17,910)	0,701	(0,335 - 1,440)	0,357
HLA-DQB1*06	15 (11,715)	26 (19,400)	0,482	(0,236 - 1,003)	0,062

3. Association molécules HLA et HSP27

Les résultats obtenus n’ont montré aucune association significative entre les molécules HLA et l’HSP27 (Tableau 9).

Tableau 9. Association entre les molécules HLA-A-B-C et HLA-DRB1 et HLA-DQB1 et HSP27.

Allèles HLA	HSP27 < 9,310	HSP27 > 9,310	OR	IC 95%	p - value
HLA-A*02	13	18	0,651	(0,282 – 1,440)	0,409
HLA-A*03	6	6	1,000	(0,289 – 3,459)	> 1
HLA-A*24	3	3	1,000	(0,226 – 4,416)	> 1
HLA-A*30	2	7	0,262	(0,053 – 1,281)	0,164
HLA-B*07	3	4	0,737	(0,180 – 2,850)	> 1
HLA-B*27	3	3	1,000	(0,226 – 4,416)	> 1
HLA-B*44	6	1	6,517	(1,000 – 75,860)	0,114
HLA-B*50	5	5	1,000	(0,304 – 3,287)	> 1
HLA-C*02	1	2	0,492	(0,033 – 4,338)	> 1

HLA-C*04	3	2	1,525	(0,301 – 8,796)	> 1
HLA-C*07	6	4	1,552	(0,411 – 5,058)	0,743
HLA-C*15	2	2	1,000	(1,520 – 6,539)	> 1
HLA-DRB1*01	11	7	1,690	(0,588 – 4,362)	0,446
HLA-DRB1*04	8	12	0,619	0,234 – 1,617)	0,466
HLA-DRB1*07	6	8	0,724	(0,229 – 2,349)	0,778
HLA-DRB1*11	8	8	1,000	0,339 – 2,944	> 1
HLA-DQB1*02	14	15	0,914	0,398 – 2,069	> 1
HLA-DQB1*03	19	14	1,508	(0,663 – 3,319)	0,419
HLA-DQB1*05	10	8	1,296	(0,504 – 3,584)	0,800
HLA-DQB1*06	8	7	1,163	(0,378 – 3,108)	> 1

4. Association molécules HLA et Menine

Les résultats obtenus ont montré une association significative ($p < 0,05$) entre les molécules HLA et la Menine pour les molécules HLA-A3*, HLA-A24*, HLA-B7*, HLA-C4*, HLA-DRB4* HLA-DRB7*, HLA-DRB11*, HLA-DQB2*, HLA-DQB3* et HLA-DQB5* (**Tableau 10**).

Tableau 10. Association entre les molécules HLA-A-B-C et HLA-DRB1 et HLA-DQB1 et Menin.

Allèles HLA	Menine < 0,304	Menine > 0,304	OR	IC 95%	p - value
HLA-A*02	25	6	6,197	(2,395 – 16,020)	0,0001
HLA-A*03	10	2	5,741	(1,415 – 26,830)	0,0300
HLA-A*24	6	0	infini	(1,454 – infinité)	0,027
HLA-A*30	7	2	3,807	(0,780 – 18,560)	0,164
HLA-B*7	7	0	infini	(1,900 - infinité)	0,013
HLA-B*27	5	1	5,339	(0,687 – 63,780)	0,207
HLA-B*44	5	2	2,712	(0,543 – 13,950)	0,270
HLA-B*50	7	3	2,497	0,639 – 9,161)	0,323
HLA-C*02	3	0	infini	(0,879 - infinité)	0,244
HLA-C*04	5	0	infini	(1,520 - infinité)	0,0576
HLA-C*07	7	3	2,497	(0,639 – 9,161)	0,323
HLA-C*15	3	1	3,098	(0,448 – 40,800)	0,619
HLA-DRB1*01	12	6	2,231	(0,769 – 6,394)	0,202
HLA-DRB1*04	18	2	12,130	3,111 – 54,130)	0,0001
HLA-DRB1*07	11	3	4,220	(1,176 – 14,600)	0,044
HLA-DRB1*11	13	3	5,183	1,542 – 17,640	0,014
HLA-DQB1*02	21	8	3,419	(1,429 – 8,223	0,010
HLA-DQB1*03	26	7	5,571	(2,300 – 13,830)	0,0002
HLA-DQB1*05	14	4	4,200	(1,299 – 12,191)	0,020
HLA-DQB1*06	12	5	2,723	(0,871 – 7,306)	0,116

5. Association molécules HLA et statut hormono-résistant/sensible

Les résultats obtenus (Tableau 11) ont montré une association significative ($p < 0,05$) entre les molécules HLA et le statut hormonal pour les molécules HLA-A*30, HLA-B*07, HLA-DRB*04 et HLA-DQB*30.

Tableau 11. Association entre les molécules HLA-A-B-C et HLA-DRB1 et HLA-DQB1 et le statut hormonal

Allèles HLA	HR	HS	OR	IC 95%	<i>p</i> - value
HLA-A*2	13	18	0,651	(0,282 – 1,440)	0,409
HLA-A*3	5	7	0,690	(0,233 – 2,153)	0,763
HLA-A*24	3	3	1,000	(0,226 – 4,416)	>1
HLA-A*30	1	8	0,111	(0,009 – 0,780)	0,032
HLA-B*07	0	7	0,000	(0,000 – 0,526)	0,031
HLA-B*27	1	5	0,187	(0,015 – 1,454)	0,207
HLA-B*44	3	4	0,737	(0,180 – 2,850)	>1
HLA-B*50	3	7	0,400	(0,109 – 1,565)	0,323
HLA-C*02	0	3	0,000	(0,000 – 1,137)	0,244
HLA-C*04	2	3	0,655	(0,113 – 3,314)	>1
HLA-C*07	3	7	0,400	(0,109 – 1,565)	0,323
HLA-C*15	2	2	1,000	(0,153 – 6,535)	>1
HLA-DRB1*01	6	12	0,448	(0,156 – 1,299)	0,202
HLA-DRB1*04*	5	15	0,276	(0,105 – 0,788)	0,026
HLA-DRB1*07	4	10	0,360	(0,119 – 1,176)	0,155
HLA-DRB1*11	5	11	0,408	(0,150 – 1,153)	0,180
HLA-DQB1*02	9	20	0,360	(0,154 – 0,837)	0,033
HLA-DQB1*03	7	26	0,179	(0,072 – 0,434)	0,0002
HLA-DQB1*05	7	11	0,591	(0,229 – 1,699)	0,446
HLA-DQB1*06	4	11	0,321	(0,107 – 1,000)	0,096

6. Association molécules HLA et agressivité du CaP

Les résultats obtenus (**Tableau 12**) ont montré une association significative ($p < 0,05$) entre la molécule HLA-B*7 et HLA-DQB1*03 uniquement et l'agressivité du CaP.

Tableau 12. Association entre les molécules HLA-A-B-C et HLA-DRB1 et HLA-DQB1 et l'agressivité du CaP

Allèles HLA	CaP agressif	CaP Non agressif	OR	IC 95%	<i>p</i> - value
HLA-A*02	14	17	0,774	(0,345 – 1,671)	0,680
HLA-A*03	5	7	0,690	(0,233 – 2,153)	0,763
HLA-A*24	3	3	1,000	(0,226 – 4,416)	>1
HLA-A*30	1	6	0,450	(0,119 – 1,702)	0,316
HLA-B*07	0	7	0,000	(0,000 – 0,526)	0,031
HLA-B*27	1	5	0,187	(0,015 – 1,454)	0,207
HLA-B*44	3	4	0,737	(0,180 – 2,850)	>1
HLA-B*50	3	7	0,400	(0,109 – 1,565)	0,323
HLA-C*02	0	3	0,000	(0,000 – 1,137)	0,244
HLA-C*04	2	3	0,655	(0,113 – 3,314)	>1
HLA-C*07	3	7	0,400	(0,109 – 1,565)	0,323
HLA-C*15	2	2	1,000	(0,153 – 6,535)	>1
HLA-DRB1*01	7	11	0,591	(0,229 – 1,699)	0,446
HLA-DRB1*04	7	13	0,481	(0,189 – 1,269)	0,223
HLA-DRB1*07	4	10	0,360	(0,119 – 1,176)	0,155
HLA-DRB1*11	5	11	0,408	(0,150 – 1,153)	0,180
HLA-DQB1*02	10	19	0,438	(0,183 – 1,000)	0,223
HLA-DQB1*03	7	26	0,179	(0,072 – 0,434)	0,0002
HLA-DQB1*05	7	11	0,591	(0,229 – 1,699)	0,446
HLA-DQB1*06	4	11	0,321	(0,107 – 1,000)	0,096

7. Association molécules HLA et âge

Les résultats obtenus (**Tableau 13**) ont montré une association significative ($p < 0,05$) entre la majorité des molécules HLA et l'âge des patients atteints du CaP, à l'exception des molécules HLA-A*24, HLA-A*30, HLA-B*07, HLA-B*44, HLA-B*50, HLA-C*02, HLA-C*04 et HLA-C*15.

Tableau 13. Association entre les molécules HLA-A, B ,C et HLA-DRB1 et HLA-DQB1 et l'âge des patients CaP.

Allèles HLA	AGE < 65 ANS	AGE > 65 ANS	OR	IC 95%	p - value
HLA-A*02	2	29	0,0389	(0,008 - 0,160)	<0,0001
HLA-A*03	2	10	0,112	(0,0241 - 0,462)	0,003
HLA-A*24	5	1	5,339	(0,687 - 63,78)	0,207
HLA-A*30	3	6	0,475	(0,126 - 1,795)	0,491
HLA-B*07	3	4	0,737	(0,180 - 2,850)	>1
HLA-B*27	0	6	0,000	(0,000 - 0,687)	0,027
HLA-B*44	1	6	0,153	(0,013 - 1,000)	0,114
HLA-B*50	7	3	2,497	(0,639 - 9,161)	0,323
HLA-C*02	0	3	0,000	(0,000 - 1,137)	0,244
HLA-C*04	1	4	0,238	(0,0192 - 1,520)	0,365
HLA-C*07	1	9	0,0970	(0,008 - 0,639)	0,0169
HLA-C*15	2	2	1,000	(0,153 - 6,535)	>1,000
HLA-DRB1	3	15	0,160	(0,047 - 0,588)	0,004
HLA-DRB1*04	3	17	0,136	(0,040 - 0,479)	0,001
HLA-DRB1*07	3	11	0,2370	(0,068 - 0,850)	0,044
HLA-DRB1*11	3	13	0,192	(0,056 - 0,648)	0,014

HLA-DQB*02	4	25	0,104	(0,037 - 0,324)	<0,0001
HLA-DQB1*03	6	27	0,141	(0,055 - 0,363)	<0,0001
HLA-DQB1*05	3	15	0,160	(0,047 - 0,588)	0,004
HLA-DQB1*06	0	18	0,000	(0,000 - 0,156)	<0,0001

8. Distribution des molécules HLA en fonction des caractéristiques clinico-pathologiques

La Figure 54 schématise une Heatmap représentant la distribution non paramétrique des molécules étudiées par rapport aux caractéristiques clinico-pathologiques des patients CaP.

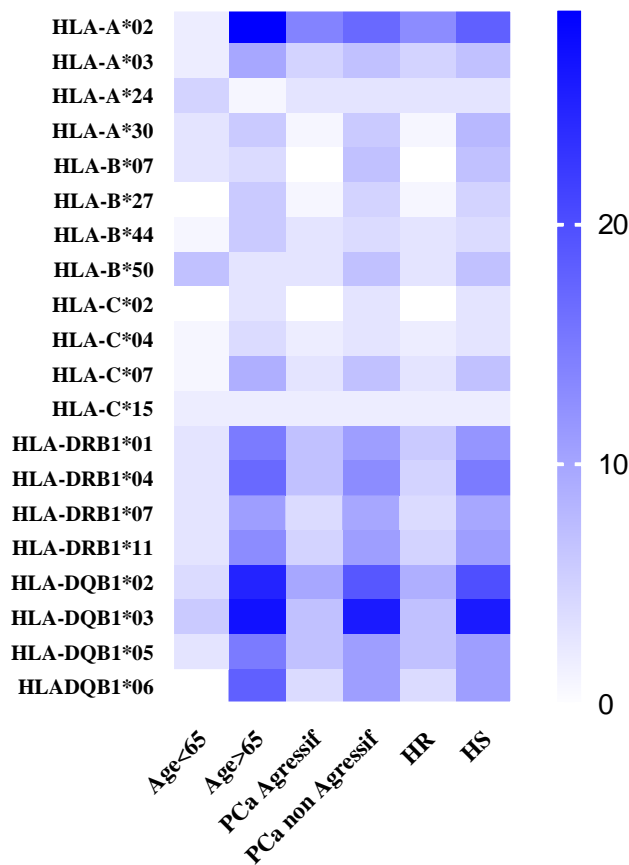


Figure 54. Distribution Heatmap des molécules HLA chez les malades selon les caractéristiques clinicopathologiques.

La **Figure 55** schématise une Heatmap représentant la distribution des valeurs paramétrique des molécules HLA étudiées par rapport aux concentrations seuils de HSP27 et Menin chez les patients CaP.

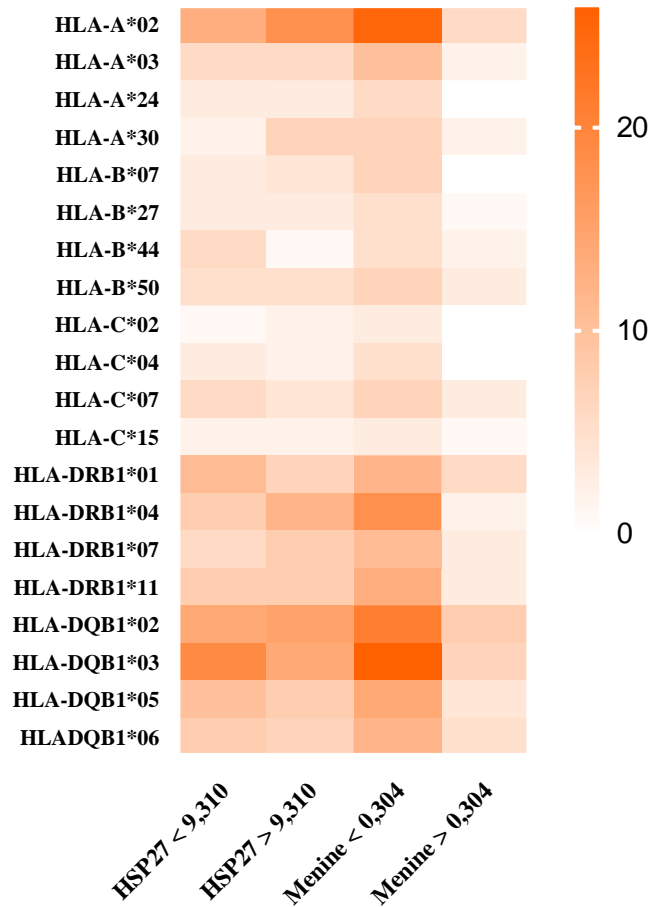


Figure 55. Distribution Heatmap des molécules HLA en fonction des concentrations seuils de HSP27 et Menin.

9. Distribution des différents haplotypes des molécules HLA dans la population étudiée

Les résultats représentés dans le **Tableau 14** montrent une répartition hétérogène des haplotypes chez les patients CaP. Les molécules HLA-DRB1 et HAL-DQB1 sont les plus représentatives dans la mesure où les génotypes sont bien différenciés.

Tableau 14. Répartition des haplotypes des molécules HLA-A-B-C et HLA-DRB1 et HLA-DQB1 Au sein de la population étudiée.

Patients N°	Haplotypes				
	A A	B B	C C	DRB1 DRB1	DQB1 DQB1
1	- / -	- / -	- / -	DRB1*01 / DRB1*07	DQB1*03 / DQB1*06
2	A*03 / -	B*50 / -	- / -	DRB1* 04 / -	DQB1*02 / -
3	A*24 / -	- / -	- / -	DRB1*01 / DRB1*04	DQB1*03 / -
4	- / -	- / -	- / -	- / -	DQB1*02 / -
5	A*02 / -	- / -	- / -	DRB1*04 / -	DQB1*03 / DQB1*06
6	A*02 / A*30	B*27 / -	- / -	DRB1* 04 / DRB1*07	DQB1*03 / -
7	A*03 / -	B*07 / -	- / -	- / -	DQB1*02 / DQB1*05
8	A*02 / -	- / -	C*02/ C*04	DRB1*11 / -	DQB1*03 / -
9	A*02 / -	- / -	- / -	- / -	DQB1*02 / DQB1*03
10	- / -	- / -	- / -	DRB1*11 / -	DQB1*02 / DQB1*06
11	A*02 / -	B*50 / -	- / -	DRB1*01 / -	DQB1*03 / DQB1*06
12	A*02 / -	- / -	- / -	DRB1*01 / DRB1*07	DQB1*05 / -
13	- / -	- / -	- / -	DRB1*07 / -	DQB1*03 / -
14	A*02 / -	B*27 / -	C*15 / -	DRB1*11 / -	DQB1*02 / DQB1*03
15	A*02 / A*30	B*07 / -	- / -	- / -	DQB1*02 / DQB1*05
16	- / -	- / -	- / -	- / -	DQB1*02 / DQB1*03
17	- / -	- / -	- / -	- / -	DQB1*03 / -

18	A*02 / A*30	B*50 / -	C*07 / -	DRB1*01 / -	DQB1*06 / -
19	A*02 / -	B*27 / -	- / -	- / -	DQB1*03 / -
20	- / -	- / -	- / -	- / -	- / -
21	A*03 / -	B*44 / -	- / -	DRB1*07 / -	DQB1*02 / DQB1*06
22	- / -	- / -	- / -	- / -	- / -
23	A*02 / A*30	- / -	- / -	- / -	DQB1*02 / DQB1*03
24	- / -	- / -	- / -	DRB1*11 / -	DQB1*03 / DQB1*05
25	- / -	- / -	- / -	DRB1*04 / DRB1*11	DQB1*05 / -
26	- / -	- / -	- / -	- / -	DQB1*03 / -
27	- / -	B*44 / -	- / -	DRB1*04 / -	DQB1*02 / -
28	- / -	B*50 / -	C*04 / -	DRB1*07 / -	DQB1*03 / DQB1*05
29	A*03 / -	B*44 / B*50	C*07 / -	DRB1*01 / DRB1*11	DQB1*03 / DQB1*06
30	A*02 / A*24	- / -	- / -	DRB1*04 / DRB1*07	DQB1*05 / DQB1*06
31	- / -	- / -	- / -	DRB1*01 / DRB1*04	DQB1*02 / DQB1*03
32	A*30 / -	- / -	- / -	DRB1*04 / -	DQB1*02 / DQB1*03
33	A*02 / -	B*07 / B*27	C*02 / C*07	DRB1*07 / DRB1*11	DQB1*03 / DQB1*05
34	A*02 / A*03	- / -	C*07 / -	DRB1*01 / -	DQB1*02 / DQB1*03
35	- / -	B*07 / B*27	- / -	- / -	DQB1*03 / -
36	A*03 / -	B*50 / -	C*07 / -	DRB1*07 / -	DQB1*02 / DQB1*03
37	- / -	B*07 / -	- / -	DRB1*04 / DRB1*07	DQB1*02 / DQB1*06
38	A*02 / A*03	- / -	- / -	DRB1*01 / DRB1*04	DQB1*02 / -
39	A*02 / -	- / -	C*02 / -	DRB1*11 / -	DQB1*05 / DQB1*06
40	A*24 / -	B*07 / -	- / -	DRB1*01 / DRB1*04	DQB1*03 / DQB1*06
41	A*02 / A*30	- / -	C*04 / -	DRB1*04 / DRB1*11	DQB1*03 / -
42	A*02 / -	B*07 / B*44	C*07 / C*15	DRB1*01 / DRB1*11	DQB1*02 / DQB1*05
43	- / -	- / -	- / -	- / -	DQB1*02 / DQB1*05
44	- / -	B*07 / B*50	C*07 / -	DRB1*11 / -	DQB1*03 / -

45	A*02 / A*03	B*44 / -	C*04 / -	- / -	DQB1*02 / DQB1*03
46	A*02 / -	- / -	- / -	DRB1*01 / DRB1*04	DQB1*05 / -
47	A*03 / A*24	- / -	C*05 / -	DRB1*07 / -	DQB1*05 / DQB1*06
48	A*02 / A*30	- / -	- / -	DRB1*01 / DRB1*04	DQB1*02 / DQB1*05
49	A*02 / -	B*27 / B*50	- / -	DRB1*01 / DRB1*11	DQB1*05 / -
50	A*02 / A*24	- / -	C*07 / C*15	DRB1*07 / -	DQB1*03 / -
51	A*02 / A*03	B*44 / -	C*04 / -	- / -	DQB1*02 / -
52	A*30 / -	- / -	- / -	DRB1*04 / -	DQB1*02 / -
53	A*02 / A*03	B*50 / -	- / -	DRB1*04 / DRB1*11	DQB1*02 / DQB1*03
54	A*24 / -	- / -	- / -	DRB1*04 / -	DQB1*06 / -
55	A*02 / A*03	- / -	- / -	DRB1*01 / -	- / -
56	A*02 / -	- / -	- / -	DRB1*04 / -	DQB1*02 / DQB1*03
57	A*02 / A*03	B*50 / -	C*15 / -	DRB1*01 / DRB1*11	DQB1*06 / -
58	A*02 / -	- / -	- / -	- / -	DQB1*02 / -
59	A*02 / -	- / -	C*07 / -	DRB1*11 / -	DQB1*03 / DQB1*05
60	A*02 / -	B*44 / -	- / -	DRB1*01 / DRB1*11	DQB1*05 / DQB1*06
61	A*02 / -	- / -	- / -	DRB1*01 / DRB1*07	DQB1*02 / DQB1*05
62	- / -	- / -	- / -	DRB1*07 / -	DQB1*02 / -
63	- / -	- / -	- / -	DRB1*04 / -	DQB1*02 / DQB1*03
64	- / -	- / -	- / -	- / -	DQB1*03 / -

En ce qui concerne l'étude des haplotypes, nous avons exploité les résultats des 64 malades inclus dans notre cohorte de malades CaP pour lesquels nous avons effectué un typage HLA des Classes I et II. Pour le calcul des fréquences haplotypiques, nous avons éliminé les patients n'ayant présenté aucun haplotype, ce qui donne un total de 51 patients.

Les résultats sont représentés dans le **Tableau 15**.

Tableau 15. Haplotypes les plus fréquents dans la population malade (CaP)

Haplotypes									
A-B-C	N(%)	A-B	N(%)	A-C	N(%)	B-C	N(%)	DR-DQ	N(%)
A02B07C02	1 (1,96)	A02B07	1 (1,96)	A02C02	3 (5,88)	B07C02	1 (1,96)	DR01DQ02	9 (17,64)
A02B07C07	2 (3,92)	A02B07	1 (1,96)	A02C04	5 (9,80)	B07C07	2 (3,92)	DR01DQ03	5 (9,80)
A02B07C15	1 (1,96)	A02B27	6 (11,76)	A02C15	4 (7,84)	B07C15	1 (1,96)	DR01DQ05	8 (15,68)
A02B44C07	1 (1,96)	A02B44	4 (7,84)	A02C07	6 (11,76)	B27C02	1 (1,96)	DR01DQ06	5 (9,80)
A02B44C15	1 (1,96)	A02B50	4 (7,84)	A03C04	1 (1,96)	B27C07	1 (1,96)	DR04DQ02	10 (19,60)
A02B44C04	2 (3,92)	A02B50	1 (1,96)	A03C05	2 (3,92)	B25C15	1 (1,96)	DR04DQ03	7 (13,72)
A02B27C02	1 (1,96)	A30B27	1 (1,96)	A03C07	2 (3,92)	B44C07	2 (3,92)	DR04DQ05	3 (5,88)
A02B27C07	1 (1,96)	A03B44	1 (1,96)	A03C15	1 (1,96)	B44C15	1 (1,96)	DR04DQ06	4 (7,84)
A02B27C15	1 (1,96)	A03B50	4 (7,84)	A24C05	2 (3,92)	B50C07	2 (3,92)	DR07DQ02	4 (7,84)
A02B50C07	1 (1,96)	A30B07	1 (1,96)	A24C07	1 (1,96)	B50C07	1 (1,96)	DR07DQ03	4 (7,84)
A02B50C15	1 (1,96)	A03B44	2 (3,92)	A24C15	1 (1,96)			DR07DQ05	6 (11,76)
A03B44C07	1 (1,96)	A30B50	1 (1,96)	A30C04	2 (3,92)			DR07DQ06	6 (11,76)
A03B44C04	2 (3,92)			A30C07	1 (1,96)			DR11DQ02	3 (5,88)
A03B50C07	2 (3,92)							DR11DQ03	8 (15,68)
A03B50C15	1 (1,96)							DR11DQ05	6 (11,76)
A30B50C07	1 (1,96)							DR11DQ06	5 (9,80)

Les haplotypes les plus fréquemment retrouvés sont :

- ❖ **Association A-B-C:** A02B07C07; A02B44C04; A03B44C04; A03B50C07. La fréquence de ces haplotypes étant égale à **3,92%**.
- ❖ **Association A-B :** A02B27 (**11,76%**) ; A02B44, A02B50 et A03B50 (**7,84%**)
- ❖ **Association A-C :** A02C02 (**5,88%**) ; A02C15 (**7,84%**) ; A02C04 (**9,80%**) ; A02C07; (**11,76%**).
- ❖ **Association DR-DQ :** DR04DQ02 (**19,60%**) ; DR01DQ02 (**17,64%**) ; DR01DQ05 et DR11DQ03 (**15,68%**) ; DR04DQ03 (**13,72%**) ; DR07DQ05, DR07DQ06 et DR11DQ05 (**11,76%**).

Nous n'avons malheureusement pas pu réaliser le typage HLA sur le tissu sain chez les patients et ainsi mettre en évidence les allèles HLA perdus au niveau du tissu tumoral. Toutefois, il paraît clair qu'il y'a une perte d'allèles HLA remarquable au niveau des cellules tumorales, particulièrement pour la classe I (**Tableau 14**). Les présents résultats suggèrent que la CaP possède un mécanisme moléculaire de régulation similaire à celui de la perte des molécules HLA.

Discussion

Malgré le développement du dépistage du CaP à la fin des années 1980, qui est basé sur la mesure du PSA dans le sérum, les approches actuelles de diagnostic et de traitement du CaP présentent encore un certain nombre de limites. Mis à part le score de Gleason et le stade TNM, il existe peu de marqueurs précis du pronostic. La capacité à différencier un CaP non agressif d'un CaP cliniquement agressif reste un défi.

Ainsi, une des questions à l'origine de ce travail concernait la possibilité de mettre en évidence un nouveau biomarqueur constitué de la combinaison entre la protéine de choc thermique HSP27 et la protéine chaperonne Menin. Dans la littérature ces deux molécules ont été décrites, en particulier leur implication dans le CaP agressif et ont suscité un ensemble de travaux sur leur intérêt en tant que cibles thérapeutiques. En continuité avec ces travaux antérieurs, nous nous sommes intéressées à étudier la valeur diagnostique et pronostique de la combinaison de ces deux molécules dans le cancer de la prostate. Notre étude est la première à avoir réalisé le dosage sérique de Menin chez les malades CaP. D'autre part, l'implication de la molécule HSP27 et probablement la molécule Menin dans les processus immunologiques ont attiré notre attention sur l'intérêt d'explorer l'expression des molécules HLA de classe I et classe II et d'analyser leur association avec le CaP.

Actuellement, lorsque le taux de PSA dépasse 4,0 ng/ml, la plupart des hommes subissent une biopsie à l'aiguille, mais seule la moitié de ces biopsies aboutit à un diagnostic de CaP (Schroder et al., 2009), la difficulté de différencier un cancer agressif d'un cancer non agressif contribue au problème du surtraitement des hommes atteints d'une maladie non agressive. Une détermination précise du CaP est essentielle pour sélectionner un traitement approprié chez les hommes atteints d'un cancer de la prostate agressif, tout en évitant les inconvénients d'un traitement agressif chez les hommes présentant une tumeur non agressive et en améliorant leur qualité de vie (Kim et al., 2021).

Le PSA a des intérêts en tant que biomarqueur de dépistage et qui a un impact positif sur le diagnostic du PCa ; cependant, le PSA est incapable de détecter les CaP agressifs, ce qui a des implications cliniques pour le traitement. Par conséquent, l'utilisation généralisée de PSA pour

détecter le CaP a suscité des inquiétudes quant au surdiagnostic et au surtraitement de maladies de bas grade cliniquement non significatives (Margolis et al., 2021 ; Ujike et al., 2018). Cela conduit à la question de savoir comment traiter les patients atteints de CaP dans un cadre thérapeutique individualisé. Les recherches se poursuivent dans la perspective de générer des tests non seulement sensibles et spécifiques au CaP, mais aussi pour améliorer le choix du traitement, l'évaluation du pronostic et le monitoring de la maladie (Ross et al., 2002 ; Beere et al., 2004).

Les biomarqueurs jouent un rôle important dans le diagnostic et le pronostic de la majorité des maladies telles que les cancers dans le domaine clinique actuel, et peuvent fournir des indications sur la stratégie thérapeutique et le suivi du traitement (Zhenrong et al., 2021). La principale préoccupation de notre étude était d'étudier la valeur diagnostique et pronostique de HSP27 et de Menin par rapport au PSA, seul biomarqueur actuel, dans le CaP, en fonction du statut d'agressivité de la tumeur. Nous pensons que ce travail est la première étude cas-témoins qui prouve que HSP27 et Menin sont des prédicteurs dépendants et des discriminateurs potentiels des patients atteints de CaP avancé.

De plus, nos résultats soutiennent que la combinaison HSP27/Menin pourrait représenter une opportunité thérapeutique potentielle pour le traitement du CaP et améliorer la survie des patients. À notre connaissance, il s'agit du premier travail qui a déterminé la concentration sérique de Menin humaine. En fait, dans la littérature, il y a peu d'études concernant l'expression de Menin dans les tissus humains. Cette expression a été réalisée à l'aide de techniques telles que l'IHC, le Western blotting et la RT-qPCR (Cherif et al., 2022 ; Grolmusz et al., 2017). Par contre, il existe beaucoup de données sur l'expression du gène *MEN1* chez les rongeurs, obtenus par Western blot, Northern blot et hybridation *in situ*. Cette étude examine, pour la première fois, la valeur de la combinaison HSP27/Menin/PSA pour l'évaluation du diagnostic et du pronostic du CaP.

Une association entre la surexpression ou la sous-expression des HSPs et le pronostic a été observée pour certains cancers, mais l'impact pronostique de l'expression des HSPs varie selon les types de tumeurs, entraînant une survie prolongée ou réduite (Glaessgen et al., 2008). Concernant Menin, sa surexpression est associée à l'élimination de la tumeur, ce qui renforce son rôle de suppresseur de tumeur (Kim et al., 1999 ; Dreijerink et al., 2014), mais elle a également

une fonction d'un oncogène. En effet, Menin a un mauvais pronostic dans le carcinome hépatocellulaire, le cancer du sein (Zhang et al., 2016 ; Dreijerink et al., 2014) et le cancer de la prostate (Cherif et al., 2022).

Conformément aux études précédentes (Glaessgen et al., 2008, Shiota et al., 2013), nos données soulignent la surexpression de HSP27 et de Menin. Plus particulièrement, notre étude démontre pour la première fois la corrélation entre l'expression tissulaire et sérique de HSP27 et de Menin dans le CaP. En effet, les concentrations sériques de HSP27 étaient corrélées positivement avec son expression dans les tissus de tous les patients atteints de CaP. Les concentrations sériques de Menin ont été corrélées positivement avec l'expression de Menin dans les tissus de CaP agressifs. La surexpression de Menin indique qu'elle pourrait être un facteur de mauvais pronostic dans le CaP agressif ($r = 0,530$; $R = 0,281$; $p = 0,01$). Malik et al. Mettent également en avant dans leur étude une diminution d'expression de Menin dans les lésions bénignes de la prostate, et à l'inverse une augmentation du niveau d'expression de Menin dans les cancers métastatiques (Malik et al. 2015).

En outre, HSP27 et Menin étaient significativement corrélés avec le CaP précoce et avancé, montrant une augmentation dépendante du stade. De plus, la surexpression de HSP27 et de Menin dans le sérum indique de manière significative un CaP agressif, et pourraient servir de prédicteurs du pronostic du cancer de la prostate. Autrement, nous avons montré que HSP27 et Menin sont des marqueurs dépendants dans le cancer agressif, ce qui signifie que Menin quitte le noyau vers le cytoplasme, se lie à HSP27 puis quitte la cellule vers le sérum. D'autres recherches doivent être réalisées pour comprendre comment Menin peut quitter le noyau en se liant à HSP27 dans le cytoplasme et en se retrouvant à l'extérieur de la cellule dans le sérum.

Afin de mieux comprendre et d'améliorer l'efficacité de diagnostic et de pronostique des biomarqueurs étudiés, nous nous sommes concentrés sur un modèle de combinaison HSP27/Menin et PSA. À cette fin, nous avons respectivement sélectionné pour HSP27, Menin et PSA des valeurs optimales de 9.310, 0.304 et 21.655 ng/mL définies par l'analyse ROC. La courbe ROC est un outil utile pour comparer la capacité diagnostique de deux ou plusieurs tests de dépistage ou pour évaluer la capacité prédictive de deux ou plusieurs biomarqueurs de la même maladie. La zone sous la courbe ROC fournit une mesure de la discrimination et permet aux chercheurs de comparer les performances de deux ou plusieurs tests de diagnostic. En général, le

test dont la zone sous la courbe est la plus élevée peut être considéré comme le meilleur (Mandrekar et al., 2010). Nos résultats ont montré que l'analyse ROC a apporté un avantage en comparaison avec l'analyse des corrélations. Cela a été démontré par la réalisation de la zone AUC, qui a clairement révélé qu'une expression élevée de HSP27/Menin prédisait un pronostic plus mauvais, tandis qu'une expression faible de HSP27/Menin était corrélée à une meilleure survie, ce qui indique que ces biomolécules sont susceptibles de servir comme des biomarqueurs de diagnostic et de pronostique dans la progression du CaP. Par ailleurs, ce test pourrait distinguer le CaP non agressif du CaP agressif indépendamment du PSA. La combinaison HSP27/Menin été meilleure à distinguer les CaP agressifs (≥ 8) des CaP cliniquement non agressifs. En fait, les cut-offs dans le CaP agressif ont été deux fois augmentés par rapport à ceux du CaP non agressif. Ce résultat confirme les données obtenues dans l'analyse de corrélation montrant une corrélation positive de HSP27 et de Menin.

En comparaison avec le PSA, les marqueurs étudiés HSP27 et Menin avaient une meilleure performance diagnostique significativement plus élevée que le PSA seul chez les patients présentant des niveaux élevés de PSA. De plus, l'association HSP27/Menin a révélé une meilleure valeur AUC (0,824) que celle de HSP27/Menin/PSA (0,569) et de PSA (0,591). Un rapport précédent a montré que dans le cancer du poumon non-small cell (NSCLC), les taux sériques moyens de HSP27 étaient de $5,364 \pm 2,679$ ng/mL chez les patients à un stade avancé avec un AUC de 0,870 (IC à 95 % : 0,817-0,923 ; $p < 0,0001$) (Zimmermann et al., 2012). Chez les patients gravement malades, Haider et al. (2019) ont trouvé des concentrations sériques de HSP27 significativement plus élevées chez les patients décédés ($9,261 \pm 2,817$ ng/mL ; $p < 0,01$) avec un AUC égale à 0,911 (95% CI : 0,818 1,000 ; $p < 0,0001$). De plus, Wang et al. (2020) ont montrées un AUC de 0,720 (IC 95 % : 0,64-0,80 ; $p = 0,0065$) pour prédire l'athérosclérose subclinique dans le diabète de type 2 ; la valeur cut-off optimale de HSP27 était de 7,16 ng/mL.

Nos résultats concernant le PSA confirment les études précédentes qui ont montré que pour un PSA de 4 ng/mL, l'AUC était respectivement de 0,560 et 0,570 dans les CaP avec un score de Gleason 7. Kim et al. (2021) ont obtenu pour le PSA un AUC de 0,58. De plus, van Gils et al. (2007) ont déterminé une valeur cut-off de PSA de 58 ng/mL (sensibilité 48% et spécificité 62%). Une étude récente a rapporté que le pourcentage de patients présentant un GS ≥ 8 ou des

métastases augmente à chaque fois que le taux de PSA augmente jusqu'à environ 70 ng/mL (Iwamoto et al., 2019) ; cependant, le PSA ne peut pas être utilisé comme un facteur pronostique chez les patients ayant un taux de PSA de 70 ng/mL. Par conséquent, le PSA qui est largement utilisé dans le diagnostic du CaP, n'est pas un indicateur de malignité ; c'est un paramètre biologique qui ne peut que révéler la présence d'un problème. Une étude antérieure a montré que le test de PSA a une faible sensibilité lorsque la valeur cut-off du PSA est supérieur ou égale à 4 ng/mL, et le diagnostic chez les patients ayant un taux de PSA de 4 à 10 ng/mL était beaucoup plus faible (Descotes, 2019). Le PSA seul n'est plus utile comme un marqueur de pronostic. Nous pensons que nos résultats pourraient permettre aux cliniciens de décider de la nécessité effectuer des biopsies de la prostate, en particulier pour les patients qui n'ont pas d'autres symptômes à part l'augmentation du PSA.

Dans notre population, le risque de décès par CaP augmente progressivement avec l'augmentation de la concentration de HSP27 et de Menin. Par conséquent, la forte expression de HSP27 et de Menin est corrélée à une faible survie des patients. L'âge au moment du diagnostic était également associé à un risque plus élevé de décès par CaP. Les patients avec un taux de HSP27 > 9,310 ng/mL pouvaient développer une métastase dans les 50 mois avec un pourcentage de survie globale de 60,3 %, tandis que les patients avec un taux de HSP27 < 9,310 ng/mL n'ont pas développé de métastase jusqu'à la fin de notre étude (79,5 % ; Log rank $p = 0,018$). Par ailleurs, nous avons remarqué que les patients avec des niveaux de Menin > 0,304 ng/mL pouvaient développer des métastases dans un temps plus court (46.000 ± 5.296) avec une survie globale sans métastase correspondant à 20,8% par rapport à ceux de Menin < 0,304 ng/mL qui présentent une survie globale sans métastase équivalente à 97,6 %. Bechis et al (Bechis et al., 2011) ont observé un pronostic plus défavorable avec l'âge avancé au moment du diagnostic chez les hommes ayant un CaP localisé et traités par prostatectomie radicale, radiothérapie ou une thérapie primaire de suppression des androgènes. Le risque accru de sur-évaluer le stage et sur-évaluer le grade lors d'une prostatectomie radicale a également été lié à l'âge au moment du diagnostic ce qui montre que le CaP est plus agressif chez les hommes les plus âgés (Brassell et al., 2011).

Lorsqu'on examine les données de cette étude en relation avec les caractéristiques clinicopathologiques, les résultats suggèrent que le niveau d'expression de HSP27 et de Menin

chez les patients atteints de CaP n'est pas corrélé avec l'âge et le PSA, mais il est corrélé avec l'HR, l'HS, les métastases, le Score de Gleason, l'agressivité et la progression de la tumeur, et le décès. De plus, chez les patients atteints de CaP non agressif, HSP27 et Menin ont un bon pronostic par rapport aux patients atteints de CaP agressif où ces deux biomarqueurs ont un mauvais pronostic. Globalement, nos données mettent donc en évidence que HSP27/Menin sont des marqueurs dépendants dans le sérum ; ainsi, il s'agit d'inhiber l'un des deux marqueurs afin de bloquer l'expression de l'autre et éventuellement de stopper la maladie.

L'équipe de Rocchi et al. suggère que Menin interagit avec HSP27 et que son inhibition par l'ASO bloque l'expression de HSP27 qui protège Menin de la dégradation. Menin est surexprimée dans le CaP avancé et le CRPC ; elle joue un rôle dans la résistance au traitement du CaP en activant la voie PI3K/AKT. La sensibilité chimiothérapeutique est restaurée par l'inhibition de Menin et son expression est réduite par la technologie de l'ASO ce qui diminue également la croissance tumorale et la prolifération des cellules de CRPC. Ces résultats supportent l'idée de cibler Menin pour améliorer les effets thérapeutiques chez les patients atteints de CRPC (Cherif et al., 2022). Un oligonucléotide antisens (ASO) de deuxième génération, appelé OGX-427 (Apatorsen) a été créé par Rocchi et al. (Rocchi, et al., 2004 ; Rocchi, et al., 2005) pour cibler l'ARNm surexprimé de la protéine HSP27 dans le CRPC. Actuellement, ceci est l'objet d'un essai clinique de phase II aux États-Unis et au Canada.

Malgré les progrès récents dans la compréhension du rôle de l'expression des antigènes HLA de classe I et II dans les tumeurs, les informations concernant leur valeur pronostique ou leur association avec le résultat des patients restent controversées. Un grand nombre de publications décrivent une relation entre les critères pathologiques traditionnels et/ou la survie des patients et l'expression des antigènes HLA, mais les résultats sont souvent contradictoires.

Bien que la régulation négative de HLA classe I puisse permettre aux cellules tumorales d'échapper à la détection immunitaire par les cellules T cytotoxiques, la perte totale de HLA-I rend les cellules vulnérables à l'activité antitumorale des cellules NK, car elles ne sont plus en mesure de présenter des auto-antigènes à la surface des cellules (Garrido et al., 2010). Le microenvironnement tumoral, joue donc un rôle essentiel dans l'échappement immunitaire (Seliger, 2016) et il a été suggéré qu'une diminution de l'expression HLA-I, mais pas une perte totale, peut permettre aux tumeurs d'échapper à la surveillance des cellules T et NK. La

régulation négative de HLA-I est associée à un pronostic plus défavorable mais elle est également associée à une diminution du potentiel métastatique (Seliger, 2016 ; Concha-Benavente et al., 2016).

Nos résultats ont montré une prévalence des molécules HLA de classe II, avec dominance des allèles HLA-DQB1 (37,79%) par rapport à celle de la classe I, avec dominance des allèles HLA-A (21,24%). L'association des molécules HLA avec le CaP n'a été démontrée que pour la classe HLA-C. Aucune association HLA n'a été trouvée avec HSP27, contrairement à Menin qui a montré une association avec tous les gènes de la classe I et II, à savoir HLA-A-B-C et HLA-DRB1 et DQB. D'autre part, nos résultats indiquent qu'il existe une surreprésentation inhabituelle de l'HLA-A02, ce qui corrobore avec les résultats de Masucci et al. (2006).

La régulation à la baisse ou la faible expression des antigènes CMH de classe I et II a été démontrée comme ayant une valeur pronostique importante pour le cancer dans diverses études (Marincola et al. 2000 ; Chang et al. 2003 ; Powell et al. 2012). Morabito et Coworkers (2009) ont observé que la régulation à la baisse de l'expression des molécules HLA de classe I dans le cancer du sein est associée de manière significative à des facteurs pronostiques défavorables. Kaneko et al. (2011) ont rapporté que les patients dont l'expression HLA de classe I est préservée ont un intervalle sans maladie significativement meilleur que ceux qui ont perdu leur HLA de classe I. La régulation à la baisse de l'HLA de classe I dans le cancer du rectum a été associée à un mauvais pronostic. D'autre part, la perte de l'expression de la classe I a été associée à un bon pronostic dans le carcinome du sein et le cancer du poumon non à petites cellules (Madjd et al. 2005 ; Ramnath et al. 2006).

Dans le même temps, plusieurs études n'ont pas réussi à mettre en évidence une corrélation entre l'expression eu HLA et le pronostic des patients (Marincola et al. 2000 ; Chang et al. 2003). D'autres études ont montré qu'une forte expression de HLA de classe I dans les cellules tumorales est associée à un meilleur pronostic que la régulation partielle de HLA de classe I (Watson et al. 2006), tandis qu'un autre rapport a donné des résultats totalement opposés (Menon et al. 2002). Certains auteurs ont montré que l'absence totale de HLA classe I entraînait un pronostic favorable par rapport aux patients présentant une faible expression HLA dans la tumeur, alors que d'autres ont montré qu'une perte partielle de HLA classe I a été associée de manière significative à une diminution de la survie globale à 5 ans dans le cancer du sein (Speetjens et al., 2008 ; Kaneko et al. 2011).

Conclusion

Cette thèse documente la mise en évidence d'un biomarqueur combiné HSP27/Menin, aux propriétés diagnostiques et pronostiques et de l'intérêt de son implication dans le cancer de la prostate agressif. Les résultats obtenus constituent une validation de notre hypothèse de départ.

Ce travail original démontre dans une première partie, que la combinaison de HSP27 et Menin, en tant que marqueurs sériques, est plus performante que le PSA conventionnel pour la détection du CaP agressif de haut grade. Nous avons également démontré que la surexpression de HSP27 et de Menin joue un rôle important dans le pronostic vital des patients CaP.

L'originalité de notre travail réside également dans la détermination, pour la première fois, de la concentration sérique de Menin chez les malades CaP.

Ainsi, la mesure des concentrations sériques de HSP27 et de Menin pourrait être indiquée pour le dépistage du stade du CaP et offrir une utilisation prospective de ces protéines en tant que marqueur moléculaire pronostique.

Nos résultats sont biologiquement significatifs non seulement pour l'étude de l'apparition et de la progression du CaP, mais aussi pour l'étude de la survie des patients, et la détection des patients qui, cliniquement, ont besoin d'un traitement rapide pour contrôler cette maladie potentiellement mortelle. Ce qui nous intéresse au plus haut point, c'est que nos résultats suggèrent également que la performance diagnostique de l'association HSP27/Menin pour prédire la présence et l'agressivité du CaP est meilleure que le PSA seul ou la combinaison HSP27/Menin/PSA. Les données rapportées ici peuvent avoir une pertinence clinique importante, ayant le potentiel d'influencer les décisions de traitement pour les patients qui aboutirait à terme, à une meilleure prise en charge des patients.

Ainsi mes travaux de thèse ont permis de conforter notre hypothèse sur le rôle de HSP27 et Menin en tant que biomarqueurs sériques.

Une deuxième partie de mon travail s'est intéressée au profil des molécules HLA de classe I chez les malades CaP. Cette partie de l'étude représente un complément d'information pour la compréhension de l'association des molécules HLA et des biomarqueurs HSP27 et Menin lors des réponses immunitaires anti-tumorales.

Les molécules HLA, d'autre part, ont montré leur importance dans la survenue du CaP et plus particulièrement avec le biomarqueur Menin et l'âge. Les molécules de classe I, à savoir HLA-C ont montré une association avec l'hormonoresistance. Les molécules HLA de classe II ont montré une association avec l'agressivité et l'hormonoresistance.

Nos résultats démontrent que l'altération de l'expression des molécules HLA de la classe I en particulier est un événement très fréquent dans le CaP caractérisé par la perte totale ou partielle des d'allèles HLA.

Toutefois, il est difficile de présenter des conclusions définitives et un nombre plus important d'échantillons est nécessaire. Néanmoins, les résultats suggèrent de possibles associations. Malgré notre cohorte de patients limitée, les résultats suggèrent des associations possibles entre la susceptibilité au CaP et certaines caractéristiques cliniques. Il serait donc intéressant d'augmenter la cohorte de patients pour confirmer ces premières observations.

Nous pensons que la corrélation entre l'expression HLA et le résultat clinique ne peut être clairement définie sans l'identification du type exact de défauts HLA tumoraux (quels allèles sont manquants) chez chaque patient, ce qui permettrait de prédire la capacité des lymphocytes à reconnaître les peptides associés à la tumeur.

D'autres études prospectives multicentriques sont nécessaires pour étayer ces résultats.

Références Bibliographiques

- Abbou, C. Dubernard, J.M. 2006. Chirurgie de la prostate. Eds Elsevier Masson (France). Pp:6.
- Acunzo, J., Katsogiannou, M., Rocchi, P. 2012. Small heat shock proteins HSP27 (HspB1), α B-crystallin (HspB5) and HSP22 (HspB8) as regulators of cell death. *Int J Biochem Cell Biol.* 44(10):1622–1631.
- Agarwal, S.K., Guru, S.C., Heppner, C., Erdos, M.R., Collins, R.M., Park, S.Y., Burns, A.L. 1999. Menin Interacts with the AP1 Transcription Factor JunD and Represses JunD-Activated Transcription. *Cell.* 96(1):143–152.
- Agarwal, S.K., Kennedy, P.A., Scacheri, P.C., Novotny, E.A., Hickman, A.B., Cerrato, A., Marx, S. J. 2005. Menin Molecular Interactions: Insights into Normal Functions and Tumorigenesis. *Horm Metab Res.* 37(6):369–374.
- Agarwal, S.K., Impey, S., McWeeney, S., Scacheri, P.C., Collins, F.S., Goodman, R.H., Spiegel, A.M., Marx, J. 2007. Distribution of menin-occupied regions in chromatin specifies a broad role of menin in transcriptional regulation. *Neoplasia N Y N.* 9(2):101–107.
- Alberti, C. 2010. Hereditary/familial versus sporadic prostate cancer : few indisputable genetic differences and many similar clinicopathological features. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 14(1): 31-34.
- Alexandre, I., Rixe, O. 2007. Cancer de la prostate hormonorésistant. *Annales d'Urologie.* 41(2):47–55.
- Andersson, E.; Villabona, L.; Bergfeldt, K.; Carlson, J.W.; Ferrone, S.; Kiessling, R.; Seliger, B.; Masucci, G.V. 2012. Correlation of HLA-A02* genotype and HLA class I antigen down-regulation with the prognosis of epithelial ovarian cancer. *Cancer Immunol. Immunother.* 61:1243–1253.
- Andrieu, C., Taieb, D., Baylot, V., Ettinger, S., Soubeyran, P., De-Thonel, A., Nelson, C., Garrido, C., So, A., Fazli, L. 2010. Heat shock protein 27 confers resistance to androgen ablation and chemotherapy in prostate cancer cells through eIF4E. *Oncogene.* 29(13):1883–1896.
- Anguezomo, G., El Mghari, G., El Ansari, N. 2019. Néoplasie endocrinienne multiple type 1: à propos d'un cas. *Pan Afr Med J.* 33:238.
- Arnold, J.T., Isaacs, J.T. 2002. Mechanisms involved in the progression of androgen-independent prostate cancers: it is not only the cancer cell's fault. *Endocr Relat Cancer.* 9(1):61–73.
- Arrigo, A.P., Landry, J. 1994. Expression and Function of the Low-molecular-weight Heat Shock Proteins. In: Morimoto RI, Tissieres A, Georgopoulos C (eds.) *The Biology of Heat Shock Proteins and Molecular Chaperones.* Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp.335–373.

Arrigo, A.P. 1998. Small stress proteins : chaperones that act as regulators of intracellular redox state and programmed cell death. *Bio Chem.* 379: 19-26.

Arrigo, A.P., Ahmad-Zadeh, C. 1981. Immunofluorescence localization of a small heat shock protein (hsp 23) in salivary gland cells of *Drosophila melanogaster*. *Mol Gen Genet.* 184(1):73-79.

Arrigo, A.P., Darlix, J.L., Khandjian, E.W., Simon, M., Spahr, P.F. 1985. Characterization of the prosome from *Drosophila* and its similarity to the cytoplasmic structures formed by the low molecular weight heat-shock proteins. *Embo J.* 4(2):399-406.

Arrigo, A.P., Suhan, J.P., Welch, W.J. 1988. Dynamic changes in the structure and intracellular locale of the mammalian low-molecular-weight heat shock protein. *Mol Cell Biol.* 8(12):5059-5071.

Arrigo, A.P. 2001. Hsp27: novel regulator of intracellular redox state. *IUBMB Life.* 52(6):303–307.

Arrigo, A.P. 2011. Structure–Functions of HspB1 (Hsp27). *Methods Mol Biol.* 787:105-119.

Arts, H.J.G., Hollema, H., Lemstra, W., Willemse, P.H., De Vries, E.G.E., Kampinga, H.H., Van der Zee, A.G.J. 1999. Heat-shock-protein-27 (hsp27) expression in ovarian carcinoma: relation in response to chemotherapy and prognosis. *Int J Cancer.* 84(3):234–238.

Asadi, S. 2019. The role of genetic mutations in genes HSPB1 & HSPB8 in Distal Hereditary Motor Neuropathy, type II. *Synd J Brain Res.* 1(3):1-3.

Audenet, F., Murez, T., Ripert, T., Villers, A., Neuzillet, Y. 2013. Inhibiteurs de CYP17A1 dans le cancer de la prostate: mécanismes d'action indépendants de la voie de signalisation androgénique. *Progrès En Urologie.* 23: S9–S15.

Balogh, K., Rácz, K., Patócs, A., Hunyady, L. 2006. Menin and its interacting proteins: elucidation of menin function. *Trends Endoc Metabo.* 17(9):357–364.

Barrier, A., Ouzzane, A., Villers, A. 2016., Rôle de l'IRM prostatique dans le cancer de la prostate en 2016: mise au point et perspectives d'avenir. *Afr J Urol.* 298 :6-11.

Baxevanis, C.N.; Sotiriadou, N.N.; Gritzapis, A.D.; Sotiropoulou, P.A.; Perez, S.A.; Cacoullos, N.T.; Papamichail, M. 2006. Immunogenic HER-2/neu peptides as tumor vaccines. *Cancer Immunol. Immunother.* 55:85–95.

Baylot, V., Andrieu, C., Katsogiannou, M., Taieb, D., Garcia, S., Giusiano, S., Cunzio, J., Iovanna, J., Gleave, M., Garrido, C., Rocchi, P. 2011. OGX-427 inhibits tumor progression and enhances gemcitabine chemotherapy in pancreatic cancer. *Cell Death Dis.* 2(10):e221.

Beere, H.M. 2001. Stressed to Death: Regulation of Apoptotic Signaling Pathways by the Heat Shock Proteins. *Sci. Signal.* 93: re1.

Beere, H.M. 2004. The stress of dying: The role of heat shock proteins in the regulation of apoptosis. *J. Cell Sci.* 117:2641–2651.

Bensaude, O. 1992. Protéines de choc thermique, transport des protéines dans le noyau et oncogénèse. *médecine/sciences.* 8:710-713.

Berthélémy, S. 2016. Le cancer de la prostate. *Act Pharm.* 55(556):41-45.

Berthold, D.R., Pond, G.R., Soban, F., De Wit, R., Eisenberger, M., Tannok, I.F. 2008. Doxorubicin or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer: updated survival in the TAX327 study. *J Clin Oncol.* 26:242-245.

Berthon, P.A., Valeri, A., Cohen-Akenine, E., Drelon, T., Paiss, G., Wöhr, A., Latil, P., Millasseau, I., Mellah, N., Cohen, H., Blanche, C., Bellane-Chantelot, F., Demenais, P., Teillac, A., Le Duc, R., de Petriconi, R., Hautmann, I., Chumakov, L., Bachner, N. J., Maitland, R., Lidereau, W., Vogel, G., Fournier, P., Mangin, O., Cussenot, O. 1998. Predisposing gene for early-onset prostate cancer, localized on chromosome 1q42.2-43. *Am J Hum Genet.* 62(6):1416-1424.

Blachere, N.E., Li, Z., Chandawarkar, R.Y., Suto, R., Jaikaria, N.S., Basu, S., Udono, H., Srivastava, P.K. 1997. Heat shock protein-peptide complexes, reconstituted in vitro, elicit peptide specific cytotoxic T lymphocyte response and tumor immunity. *J Exp Med.* 186:1315–1322.

Blumenfeld, A.J., Fleshner, N., Casselman, B. 2000. Trachtenberg J. Nutritional aspects of prostate cancer: a review. *Can J Urol.* 7:927-935.

Boccon-Gibod, L., Davin, J.L., Coulange, C., Culine, S., Coloby, P., Soulié, M., Richaud, P. 2010. Les nouvelles perspectives de prise en charge du cancer de la prostate. *Prog Urol.* 20(7):491–497.

Boelens, W.C., Croes, Y., de Ruwe, M., de Reu, L., de Jong, W.W. 1998. Negative charges in the C-terminal domain stabilize the alphaB-crystallin complex. *J Biol Chem.* 273(43):28085-28090.

Bok, R. A., Small, E. J. 2002. Bloodborne biomolecular markers in prostate cancer development and progression. *Nat Rev Cancer.* 2(12):918–926.

Bova, M.P., McHaourab, H.S., Han, Y., Fung, B.K. 2000. Subunit exchange of small heat shock proteins. Analysis of oligomer formation of alphaA-crystallin and Hsp27 by fluorescence resonance energy transfer and site-directed truncations. *J Biol Chem.* 275(2):1035-1042.

- Brandi, M.L., Agarwal, S.K., Perrier, N.D., Lines, K.E., Valk, G.D., Thakker, R.V. 2021. Multiple Endocrine Neoplasia Type 1: Latest Insights. *Endocr Rev.*42(2):133-170.
- Brennan, P. 2014. Breast cancer risk in MEN1-a cancer genetics perspective. *Clin. Endocrinol.* 82:327–229.
- Brown, T.R. 2003. Androgen action. In *Contemporary Endocrinology: Androgen in Health and Disease*, Edt. Bagatell, C.J., Bremner, W.J. Humana Totowa, NJ. pp.23-44.
- Bruey, J.M., Ducasse, C., Bonniaud, P., Ravagnan, L., Susin, S.A., Diaz-Latoud, C., Gurbuxani, S., Arrigo, A.9., Guido, K., Eric, S. 2000. Hsp27 negatively regulates cell death by interacting with cytochrome c. *Nat Cell Biol.* 2(9):645-652.
- Brzezinka, K., Nevedomskaya, E., Lesche, R., Haegebarth, A., ter-Laak, A., Fernández-Montalván, A.E., Eberspaecher, U., Werbeck, N.D., Moenning, U., Siegel, S., Haendler, B., Eheim, A.H., Stresemann, C. 2020. Characterization of the Menin-MLL Interaction as Therapeutic Cancer Target. *Cancers.* 12(1):201.
- Bubendorf, L., Kolmer, M., Kononen, J., Koivisto, P., Mousses, S., Chen, Y. 1999. Hormone therapy failure in human prostate cancer: analysis by complementary DNA and tissue microarrays. *J Natl Cancer Inst.* 91:1758–1764.
- Busygina, V., Bale, A.E. 2006. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) as a cancer predisposition syndrome: Clues into the mechanisms of MEN1-related carcinogenesis. *Yale. J. Biol. Med.* 79:105–114.
- Butt, E., Immler, D., Meyer, H.E., Kotlyarov, A., Laass, K., Gaestel, M. 2001. Heat shock protein 27 is a substrate of cGMP-dependent protein kinase in intact human platelets: phosphorylation-induced actin polymerization caused by HSP27 mutants. *J Biol Chem.* 276(10):7108-7113.
- Cadiot, G., Mignon, M., Genem G. 2000. Néoplasie endocrine multiple de type 1 : aspects cliniques, implications pour la prise en charge des tumeurs endocrines duodéno-pancréatiques. *Hépto-Gastro Oncol Dig.* 7(5):357-364.
- Cairns, J., Qin, S., Philp, R., Tan, Y.H., Guy, G.R. 1994. Dephosphorylation of the small heat shock protein Hsp27 *in vivo* by protein phosphatase 2A. *J Biol Chem.* 269(12):9176–9183.
- Cancer de la prostate en Algérie. Algeria/French. 2018. Disponible sur: <https://algerie360.com/wp-content/uploads/2018/04/Infographie-FR.pdf> Consulté le 20/01/2023.
- Cao, Y., Liu, R., Jiang, X., Lu, J., Jiang, J., Zhang, C., Li, X., Ning, G. 2009. Nuclear-cytoplasmic shuttling of menin regulates nuclear translocation of {beta}-catenin. *Mol. Cell. Biol.* 29:5477–5487.

- Carretero, R., Gil-Julio, H., Vázquez-Alonso, F., Garrido, F., Castineiras, J., Cózar, J.M. 2014. Involvement of HLA class I molecules in the immune escape of urologic tumors. *Actas Urol Esp.* 38(3):192-199.
- Carson, C., Rittmaster, R. 2003. The role of dihydrotestosterone in benign prostatic hyperplasia. *Urology.* 61(4):2-7.
- Céraline, J., Erdmann, E., Erbs, P., Deslandres-Cruchant, M., Jacqmin, D., Duclos, B. 2003. A yeast-based functional assay for the detection of the mutant androgen receptor in prostate cancer. *Eur J Endocrinol.* 148(1):99–110.
- Chandrasekharappa, S.C. 1997. Positional Cloning of the Gene for Multiple Endocrine Neoplasia-Type 1. *Science.* 276:404–407.
- Chang, C.C., Campoli, M., Ferrone, S. 2003. HLA class I defects in malignant lesions: what have we learned? *Keio J Med.* 52(4):220–229.
- Chanson, P., Murat, A., Cadiot, G., Calender, A. 2009. Néoplasie endocrinienne multiple de type 1. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris) Endocrinologie-Nutrition. 10:036-05.
- Charrette, S.J., Landry, J. 2000. The interaction of HSP27 with Daxx identifies a potential regulatory role of HSP27 in Fas-induced apoptosis. *Ann N Y Acad Sci.* 926 :126-131.
- Charrette, S.J., Lavoie, J.N., Lambert, H., Landry, J. 2000. Inhibition of Daxx-mediated apoptosis by heat shock protein 27. *Mol Cell Biol.* 20(20):7602-7612.
- Chauhan, D., Li, G., Auclair, D., Hideshima, T., Podar, K., Mitsiades, N., Mitsiades, C., Chen, L.B., Munshi, N., Saxena, S., Anderson, K.C. 2004. Methoxyestradiol and bortezomib/proteasome-inhibitor overcome dexamethasone-resistance in multiple myeloma cells by modulating Heat Shock Protein-27. *Apoptosis.* 9(2):149-155.
- Chávez-Galán, L., Arenas-Del Angel, M.C., Zenteno, E., Chávez, R., Lascrain, R. 2009. Cell death mechanisms induced by cytotoxic lymphocytes. *Cell Mol. Immunol.* 6(1):15-25.
- Chen, Y.X., Yan, J., Keeshan, K., Tubbs, A.T., Wang, H., Silva, A., Brown, E.J., Hess, J.L., Pear, W.S., Hua, X. 2006. The tumor suppressor menin regulates hematopoiesis and myeloid transformation by influencing Hox gene expression. *Proc Nat Acad Sci.* 103(4):1018–1023.
- Chen, H., Jing, Y., Ziping, Q., Hong, W., Beilei, W., Fengming, Z., Husheng, M., Jing, L., Wenchao, W., Qingsong L. 2022. Heat shock proteins: Biological functions, pathological roles, and therapeutic opportunities. *MedComm.* 3: e161.

Cherif, C., Nguyen, D.T., Paris, C., Le, K.T., Thibaud, S., Carbuccia, N., Finetti, P., Chaffanet, M., El Kaoutari, A., Vernerey, J. 2022. Menin inhibition suppresses castration-resistant prostate cancer and enhances chemosensitivity. *Oncogene*. 41:125–137.

Choi S.K., Kam H., Kim K.Y., Park S.I. and Lee Y.S. Targeting Heat Shock Protein 27 in Cancer: A Druggable Target for Cancer Treatment? *Cancers* 2019. 11:1195-1112.

Ciocca, D.R., Adams, D.J., Edwards, D.P., Bjercke, R.J., McGuire, W.L. 1983. Distribution of an estrogen-induced protein with a molecular weight of 24,000 in normal and malignant human tissues and cells. *Cancer Res*. 43(3):1204-1210.

Ciocca, D.R., Calderwood, S.K. 2005. Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications. *Cell Stress Chaper*. 10:86-103.

Clinton, S. K., Giovannucci, E. 1998. Diet, nutrition, and prostate cancer. *An Rev Nutr*. 18(1):413–440.

Colaco C.A., Bailey C.R., Walker K.B., Keeble J. 2013. Heat shock Proteins: Stimulators of Innate and Acquired Immunity. *Biomed Res Int*. 2013: 461230

Concannon, C.G., Orrenius, S., Samali, A. 2001. Hsp27 inhibits cytochrome c-mediated caspase activation by sequestering both pro-caspase-3 and cytochrome c. *Gene Expr*. 9(4-5):195-201.

Concha-Benavente, F., Srivastava, R., Ferrone, S. & Ferris, R. L. 2016. Immunological and clinical significance of HLA class I antigen processing machinery component defects in malignant cells. *Oral Oncol*. 58:52-58.

Conroy, S.E., Sasieni, P.D., Amin, V., Wang, D.Y., Smith, P., Fentiman, I.S., Latchman, D.S. 1998. Antibodies to heat-shock protein 27 are associated with improved survival in patients with breast cancer. *Br J Cancer*. 77(11):1875–1879.

Cryo-therapy Australia. Understanding prostate cancer. 2007..disponible sur : http://cryotherapy.com.au/prostate_cancer.html. (Consulté le 20/01/2023).

Cuesta, R., Laroia, G., Schneider, R.J. 2000. Chaperone hsp27 inhibits translation during heat shock by binding eIF4G and facilitating dissociation of cap-initiation complexes. *Genes Dev*. 14(12):1460-1470.

Cuesta, R., Laroia, G., Schneider, R.J. 2000. Chaperone Hsp27 inhibits translation during heat shock by binding eIF4G and facilitating dissociation of cap-initiation complexes. *Genes Develop*. 14:1460–1470.

Dai C. The heat-shock, or HSF1-mediated proteotoxic stress, response in cancer: from proteomic stability to oncogenesis. *Philos. Trans. R. Soc*. 373(1738):20160525.

- David, J.C., Grongnet, J.F. 2001. Les protéines de stress. *INRA Prod. Anim.* 14(1) :29-40.
- Davidof, A.M., Iglehart, J.D., Marks, J.R. 1992. Immune response to p53 is dependent upon p53/HSP70 complexes in breast cancers. *Proc Natl Acad Sci.* 89:3439-3442.
- De Jong, W.W., Caspers, G.J., Leunissen, J.A. 1998. Genealogy of the alpha-crystallin--small heat-shock protein superfamily. *Int J Biol Macromol.* 22:151-162.
- Dean, P.G., van-Heerden. J.A., Farley, D.R., Geoffrey, B., Thompson, C.S., Grant, W., Harmsen, S., Duane, M.I. 2000. Are patients with multiple endocrine neoplasia type 1 prone to premature death? *World J Surg.* 24(11):1437-1441.
- Dendrou, C.A.; Petersen, J.; Rossjohn, J.; Fugger, L. 2018. HLA variation and disease. *Nat Rev Immunol.* 18:325–339.
- De Petris, L.; Bergfeldt, K.; Hising, C.; Lundqvist, A.; Tholander, B.; Pisa, P.; van der Zanden, H.G.; Masucci, G. 2004. Correlation between HLA-A2 gene frequency, latitude, ovarian and prostate cancer mortality rates. *Med. Oncol.* 21:49–52.
- Descotes, J.L. 2019. Diagnosis of prostate cancer. *Asian J. Urol.* 6:129–136.
- Dhall, A.; Patiyal, S.; Kaur, H.; Bhalla, S.; Arora, C.; Raghava, G.P.S. 2020. Computing Skin utaneous Melanoma Outcome from the HLA-Alleles and Clinical Characteristics. *Front Genet.* 11:221.
- Doerwald, L., van Genesen, S.T., Onnekink, C., Marín-Vinader, L., de Lange, F., de Jong, W.W., Lubsen, N.H. 2006. The effect of alphaB-crystallin and Hsp27 on the availability of translation initiation factors in heat-shocked cells. *Cell Mol Life Sci.* 63(6):735–743.
- Drake, R.L., Duparc, F., Adam W.M. Mitchell, A.W.M., Vogl, A.W. 2018. Gray's Anatomie - Les fondamentaux. 2ème Ed. Elsevier Masson, (France). pp: 235.
- Dreijerink, K.M.A., Mulder, K.W., Winkler, G.S., Höppener, J.W.M., Lips, C.J.M., Timmers, H.T.M. 2006. Menin links estrogen receptor activation to histone H3K4 trimethylation. *Cancer Res.* 66(9):4929–4935.
- Dreijerink, K.M.A., Goudet, P., Burgess, J.R., Valk, G.D. 2014. Breast-Cancer Predisposition in Multiple Endocrine Neoplasia Type 1. *New Engl J Med.* 371(6):583–584.
- Dreijerink, K.M.A., Timmers, H.T.M., Brown, M., 2017. Twenty years of menin: emerging opportunities for restoration of transcriptional regulation in MEN1. *Endocr Relat Cancer.* 24:T135-T145.

- Ehrnsperger, M., Graber, S., Gaestel, M., Buchner, J. 1997. Binding of non-native protein to Hsp25 during heat shock creates a reservoir of folding intermediates for reactivation. *Embo J.* 16:221-229.
- Enomoto, Y., Bharti, A., Khaleque, A.A., Song, B., Liu, C., Apostolopoulos, V., Xing, P., Calderwood, S.K., Gong, J. 2006. Enhanced Immunogenicity of heat shock protein 70 peptide complexes from dendritic cell-tumor fusion cells. *J Immunol.* 177:5946–5955.
- Epstein, J.I., Egevad, L., Amin, M.B., Delahunt, B., Srigley, J.R., Humphrey, P.A. 2016. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus conference on gleason grading of prostatic carcinoma: definition of grading patterns and proposal for a new grading system. *Am J Surg Pathol.* 40(2):244-252.
- Escamilla-Tilch, M., Filio-Rodríguez, G., García-Rocha, R., Mancilla-Herrera I., Mitchison N.A., Ruiz-Pacheco, J.A., Sánchez-García, F.J., Sandoval-Borrego, D., Vázquez-Sánchez, E.A. 2013. The interplay between pathogen-associated and danger-associated molecular patterns: an inflammatory code in cancer? *Immunol Cell Biol.* 91(1):601-610.
- Farley, S. M., Chen, G., Guo, S., Wang, M., Jingbo, A., Lee, F., Lee, F., Sawicki, M. 2006. Menin Localizes to Chromatin Through an ATR-CHK1 Mediated Pathway After UV-Induced DNA Damage. *J Surg Res.* 133(1):29–37.
- Feng, Z.J., Gurung, B., Jin, G.H., Yang, X.L., Hua, X.X. 2013. SUMO modification of menin. *Am J Cancer Res.* 3:96-106.
- Feng, Z., Ma, J., Hua, X. 2017. Epigenetic regulation by the menin pathway. *Endoc Relat Cancer.* 24(10):T147–T159.
- Ferns, G., Shams, S., Shafi, S. 2006. Heat shock protein 27: its potential role in vascular disease. *Int J Exp Pathol.* 87(4):253–274.
- Fourcade, R.O., 1997. La prostate. Édit. John Libbey EUROTEXT. (Paris). pp:16-22.
- Fournier, G., Valeri, A., Mangin, P., Cussenot, O. 2004. Cancer de la prostate. Épidémiologie. Facteurs de risques. Anatomopathologie. *Annales d’Urologie.* 38(5):187-206.
- Francis, J., Lin, W., Rozenblatt-Rosen, O., Meyerson, M. 2011. The menin tumor suppressor protein is phosphorylated in response to DNA damage. *PLoS One.* 6:e16119.
- Fridman, W.H.; Zitvogel, L.; Sautes-Fridman, C.; Kroemer, G. 2017. The immune contexture in cancer prognosis and treatment. *Nat Rev Clin Oncol.* 14:717–734.
- Frohli, E., Aoyama, A., Klemenz, R. 1993. Cloning of the mouse hsp25 gene and an extremely conserved hsp25 pseudogene. *Gene.* 128:273-277.

- Garcia-Higuera, I., Taniguchi, T., Ganesan, S., Meyn, M. S., Timmers, C., Hejna, J., Grompe, M., D'Andrea, A.D. 2001. Interaction of the Fanconi Anemia Proteins and BRCA1 in a Common Pathway. *Molec Cell*.7(2):249–262.
- Garrido, C., Ottavi, P., Fromentin, A., Hamman, A., Arrigo, A.P., Chauffer, B., Mehlen, P. 1997. Hsp27 as a mediator of confluence-dependent resistance to cell death induced by anticancer drugs. *Cancer Res*. 57:2661-2667.
- Garrido, C., Bruey, J.M., Fromentin, A., Hammann, A., Arrigo, A.P., Solary, E. 1999. HSP27 inhibits cytochrome c-dependent activation of procaspase-9. *Faseb J*. 13(14):2061-2070.
- Garrido, F., Cabrera, T. & Aptsiauri, N. 2010. "Hard" and "soft" lesions underlying the HLA class I alterations in cancer cells: implications for immunotherapy. *Int J Cancer*. 127:249-256.
- Giona, S. 2021. The Epidemiology of Prostate Cancer. In Prostate Cancer; Bott, S.R.J., Ng, K.L., Eds. Exon Publications: Brisbane, Australia. pp:1–15.
- Glaessgen, A., Jonmarker, S., Lindberg, A., Nilsson, B., Lewensohn, R., Ekman, P., Valdman, A., Egevad, V.L. 2008. Heat shock proteins 27, 60 and 70 as prognostic markers of prostate cancer. *APMIS*. 116(10):888–895.
- Globocan , 2020. <https://gco.iarc.fr/> (Consulté le 20/01/2023).
- Gobbo. J., Gaucher-Di-Stasio, C., Weidmann, S., Guzzo, J., Garrido, C. 2011. Quantification of HSP27 and HSP70 molecular chaperone activities. *Methods Mol Biol*. 787:137-143.
- Gourou, S.C., Orfèvre, P.K., Brûlures, A.L., Marx, S.J., Spiegel, A.M., Collins, F.S., Chandrasekharappa, S.C. 1998. Menin, le produit du gène MEN1, est une protéine nucléaire. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 95:1630–1634.
- Guillonneau, B., El-fettouh, H., Baumert, H., Cathelineau, X., Doublet, J.D., Fromont, G., Vallancien, G. 2003. Laparoscopic radical prostatectomy: oncological evaluation after 1,000 cases a Montsouris Institute. *J Urology*. 169(4):1261-1266.
- Guo, K., Kang, N.X., Li, Y., Sun, L., Gan, L.J., Cui, F., Dong Gao, M., Liu, k.y. 2009. Regulation of HSP27 on NF-κB pathway activation may be involved in metastatic hepatocellular carcinoma cells apoptosis. *BMC Cancer*. 9(1), 100–109.
- Guo, S.S., Sawicki, M.P. 2001. Molecular and Genetic Mechanisms of Tumorigenesis in Multiple Endocrine Neoplasia Type-1. *Molec Endocr*. 15(10):1653–1664.
- Guru, S.C., Crabtree, J.S., Brown, K.D., Dunn, K.J., Manickam, P., Prasad, N.B., Chandrasekharappa, S.C. 1999. Isolation, genomic organization, and expression analysis of Men1, the murine homolog of the MEN1 gene. *Mammalian Genome*. 10(6):592–596.

- Gusev, N.B., Bogatcheva, N.V., Marston, S.B. 2002. Structure and properties of small heat shock proteins (sHsp) and their interaction with cytoskeleton proteins. *Biochem Biokhimiia*. 67(5):511–519.
- Haffner, J., Lemaitre, L., Puech, P., Haber, G.P., Leroy, X., Jones, J.S. 2011. Role of magnetic resonance imaging before initial biopsy: comparison of magnetic resonance imaging-targeted and systematic biopsy for significant prostate cancer detection. *Int BJU*. 108(8):E171–178.
- Hammerich, K.H., Ayala, G.E., Wheeler, T.M. 2009. Anatomy of the prostate gland and surgical pathology of prostate cancer. In *Prostate cancer*. Ed. Cambridge Uni. Cambridge. pp:1-14.
- Haslbeck, M. 2002. sHsp and their role in the chaperone network. *Cell Mol Life Sci*. 59:1649-1657.
- Havasi, A., Li, Z., Wang, Z., Martin, J.L., Botla, V., Ruchalski, K., Schwartz, J.H., Borkan, S.C. 2008. Hsp27 inhibits Bax activation and apoptosis via a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent mechanism. *J Biol Chem*. 283(18):12305-12313
- Hayes, D., Napoli, V., Mazurkie, A., Stafford, W.F., Graceffa, P. 2009. Phosphorylation dependence of hsp27 multimeric size and molecular chaperone function. *J Biol Chem*. 284(28):1880.
- He, X., Wang, L., Yan, J., Yuan, C., Witze, E.S., Hua, X. 2016. Menin localization in cell membrane compartment. *Cancer Biol Ther*. 17:114-122.
- Hearn, J.W.D., AbuAli, G., Reichard, C.A., Reddy, C.A., Magi-Galluzzi, C., Chang, K.H. 2016. HSD3B1 and resistance to androgen-deprivation therapy in prostate cancer: a retrospective, multicohort study. *Lancet Oncol*. 17(10):1435–1444.
- Heather, D., Hickman, M., Hildebrand, H.W., 2004. The immune response under stress: the role of HSP-derived peptides. *Trends Immunol*. 25(8):427-433.
- Hendy, G.N., Kaji, H., Canaff, L. 2009. Cellular Functions of Menin. *Advances in Experimental Med Biol*. 668:37–50.
- Heppner, C., Bilimoria, K.Y., Agarwal, S.K., Kester, M., Whitty, L.J., Guru, S.C., Chandrasekharappa, S.C., Collins, S., Spiegel, A.L., Marx, T.J. 2001. The tumor suppressor protein menin interacts with NF- κ B proteins and inhibits NF- κ B-mediated transactivation. *Oncogene*. 20(36):4917–4925.
- Hickey, E.D., Weber, L.A. 1982. Modulation of heat-shock polypeptide synthesis in HeLa cells during hyperthermia and recovery. *Biochemistry*. 21:1513-1521.

Hickey, E., Brandon, S.E., Potter, R., Stein, G., Stein, J., Weber, L.A. 1986. Sequence and organization of genes encoding the human 27 kDa heat shock protein. *Nucleic Acids Res.* 14(10):4127-4145.

HIFU Prostate. Gleason Score : définition et explications.2023. Disponible sur : <https://hifu-prostate.fr/informations-cancer-prostate/definition-gleason-score/?cn-reloaded=1>. (Consulté le 20/01/2023).

Hoerni, B. 2001. Cancérogénèse et hématologie. Edt. Masson S.A (Paris). pp:15-16.

Holmberg, L., Bill-Axelsson, A., Helgesen, F., Salo J.O., Folmerz, P., Haggman, M., Andersson, S.O., Spangberg, A., Busch, C., Nordling, S., Plamgren, J., Adami, H.O., Johansson, J.E., .., Norlen, B.J. 2002. A Randomized Trial Comparing Radical Prostatectomy with Watchful Waiting in Early Prostate Cancer. *New Engl J Med.* 347(11):781–789.

Hori, S., Butler, E., McLoughlin, J. 2011. Prostate cancer and diet: food for thought. *Int BJU.* 107:1348-1359.

Huang, J., Gurung, B., Wan, B., Matkar, S., Veniaminova, N.A., Wan, K., Merchant J.L., Hua, X., Lei, M. 2012. The same pocket in menin binds both MLL and JUND but has opposite effects on transcription. *Nature.* 482:542-546.

Huang, Q., Ye, J.; Huang, Q., Chen, W.; Wang, L., Lin, W., Lin, J., Lin, X. 2010. Heat shock protein 27 is over-expressed in tumor tissues and increased in sera of patients with gastric adenocarcinoma. *Clin Chem Lab Med.* 48:263–269.

Huang, S. 2007. Regulation of metastases by signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathway: clinical implications. *J Am Clin Cancer Res.* 13(5):1362–1366.

Hugosson, J.; Roobol, M.J.; Månsson, M.; Tammela, T.L.J.; Zappa, M.; Nelen, V.; Nalen, V.; Kwiatkowski, M.; Luja, M.; Carlsson, S.V. 2019. A 16-yr follow-up of the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer. *Eur. Urol.* 76:43–51.

Ibitayo, A.I., Sladick, J., Tuteja, S., Louis-Jacques, O., Yamada, H., Groblewski, G., Welsh, M., Bitar, K.N. 1999. HSP27 in signal transduction and association with contractile proteins in smooth muscle cells. *Am J Physiol.* 277(2):G445-454.

Ikeo, Y., Sakurai, A., Hashizume, K. 1999. Characterization of the MEN1 Gene Product, Menin, by Site-specific Polyclonal Antibodies. *Japan J Cancer Res.* 90(10):1088–1095.

Imachi, H., Murao, K., Dobashi, H., Bhuyan, M.M., Cao, X., Kontani, K., Niki, S., Murazawa, C., Nakajima, H., Kohno, N., Yamashita, H., Iwase, H., Hayashi, S., Ishida, T., Yamauchi, A. 2010. Menin, a product of the MEN1 gene, binds to estrogen receptor to enhance its activity in

breast cancer cells: possibility of a novel predictive factor for tamoxifen resistance. *Breast Cancer Res Treat.* 122(2):395–407.

Institut National du Cancer. 2010. Les traitements du cancer de la prostate, Cancer info. Disponible sur : <https://www.e-cancer.fr>. (Consulté le 30/05/2023).

Itakura, Y., Sakurai, A., Katai, M., Ikeo, Y., Hashizume, K. 2000. Enhanced sensitivity to alkylating agent in lymphocytes from patients with multiple endocrine neoplasia type 1. *Biomed Pharmacoth.* 54:187s–190s.

Jackson, D.O.; Trappey, F.A.; Clifton, G.T.; Vreeland, T.J.; Peace, K.M.; Hale, D.F.; Litton, J.K.; Murray, J.L.; Perez, S.A.; Papamichail, M.; et al. 2018. Effects of HLA status and HER2 status on outcomes in breast cancer patients at risk for recurrence—Implications for vaccine trial design. *Clin Immunol.* 195:28–35.

Jakob, U., Gaestel, M., Engel, K., Buchner, J. 1993. Small heat shock proteins are molecular chaperones. *J Biol Chem.* 268(3):1517–1520.

Jenster, G. 1999. The role of the androgen receptor in the development and progression of prostate cancer. *Semin Oncol.* 26(4):407–421.

Jensen, P.E. 2007. Recent advances in antigen processing and presentation. *Nat Immunol.* 8:1041-8.

Jewett, M.A., Fleshner, N., Klotz, L.H., Nam, R.K., Trachtenberg, J. 2003. Radical prostatectomy as treatment for prostate cancer. *CMAJ.* 168:44-45.

Jia, Y., Wu, S.L., Isenberg, J.S., Dai, S., Sipes, J.M., Field, L., Zeng, B., Bandle, R.D., Ridnour, L.A., Wink, D.A., Ramchandran, R., Karger, B.L., Roberts, D.D. 2010. Thiolutin inhibits endothelial cell adhesion by perturbing Hsp27 interactions with components of the actin and intermediate filament cytoskeleton. *Cell Stress Chaperones.* 15(2):165–181.

Jiang, B., Liang, P., Deng, G., Tu, Z., Liu, M., Xiao, X. 2011 Increased stability of Bcl-2 in HSP70-mediated protection against apoptosis induced by oxidative stress. *Cell Stress Chaper.* 16(2):143–152.

Jiménez, P., Cabrera, T., Méndez, R., Esparza, C., Cozar, J.M., Tallada, M., et al. 2001. A nucleotide insertion in exon 4 is responsible for the absence of expression of an HLA-A*0301 allele in a prostate carcinoma cell line. *Immunogenetics.* 53:606-10.

Jin, S., Mao, H., Schnepf, R.W., Sykes, S.M., Silva, A.C., D’Andrea, A.D., Xianxin, H. 2003. Menin associates with FANCD2, a protein involved in repair of DNA damage. *Cancer Res.* 63(14):4204–4210.

- Jo, Y.S., Lee, J.C., Li, S., Choi, Y.S., Bai, Y.S., Kim, Y.J., Lee, I.S., Rha, S.Y., Ro, H.K., Kim, J.M., et al. 2008. Significance of the expression of major histocompatibility complex class II antigen, HLA-DR and -DQ, with recurrence of papillary thyroid cancer. *Int J Cancer*. 122:785-90;
- Kaji, H., Canaff, L., Lebrun, J.J., Goltzman, D., Hendy, G.N. 2001. Inactivation of menin, a Smad3-interacting protein, blocks transforming growth factor type beta signaling. *Proc Natl Acad Sci*. 98(7):3837–3842.
- Kaneko, K., Ishigami, S., Kijima, Y., Funasako, Y., Hirata, M., Okumura, H., Shinchi, H., Koriyama, C., Ueno, S., Yoshinaka, H., Natsugoe, S. 2011. Clinical implication of HLA class I expression in breast cancer. *BMC Cancer*. 11:454.
- Kappe, G., Franck, E., Verschuure, P., Boelens, W.C., Leunissen, J.A., De Jong, W.W. 2003. The human genome encodes 10 alpha-crystalline-related small heat shock proteins: HspB1-10. *Cell Stress Chaper*. 8:53-61.
- Kappe, G., Boelens, W.C., De Jong, W.W. 2010. Why proteins without an alpha-crystallin domain should not be included in the human small heat shock protein family HSPB. *Cell Stress Chaper*. 15:457-461.
- Katsogiannou, M., Andrieu, C., Baylot, V., Baudot, A., Dusetti, N. J., Gayet, O., Finetti, P., Garrido, C., Birnbaum, D., Bertucci, C., Brun, F., and Rocchi, P. 2014. The Functional Landscape of Hsp27 Reveals New Cellular Processes such as DNA Repair and Alternative Splicing and Proposes Novel Anticancer Targets. *Molec Cell Proteom*. 13(12):3585-3601.
- Katsogiannou, M., Andrieu, C., Rocchi, P. 2014. Heat shock protein 27 phosphorylation state is associated with cancer progression. *Frontiers in Genetics*, 5:346.
- Kaulanjan, K., Thenault, R., Leroy, V., Khene, Z., & Mathieu, R. 2020. Hormonothérapie dans le cancer de la prostate : quel rôle pour l'IDE en 2020. *Progrès En Urologie*. 30(15):958–963.
- Keo, Y., Sakurai, A., Suzuki, R., Zhang, M., Koizumi, S., Takeuchi, Y., Yumita, W., Nakayama, J., Hashizume, K. 2000. Proliferation-Associated Expression of the MEN1 Gene as Revealed by In Situ Hybridization: Possible Role of the Menin as a Negative Regulator of Cell Proliferation Under DNA Damage. *Lab Invest*. 80(6):797–804.
- Kerr, J.F.R., Wyllie, A.H., Currie, A.R. 1972. Apoptosis: A Basic Biological Phenomenon with Wideranging Implications in Tissue Kinetics. *Brit J Cancer*. 26(4):239–257.
- Khalil, A.A., Kabapy, N.F., Deraz, S.F., Smith, C. 2011. Heat shock proteins in oncology: Diagnostic biomarkers or therapeutic targets? *Biochim Biophys Acta*. 1816:89–104.

- Kheirandish, P., Chinegwundoh, F. 2011. Ethnic differences in prostate cancer. *Brit J Cancer*. 105(4):481–485.
- Kho, J., Pham, P.C., Kwon, S., Huang, A.Y., Rivers, J.P., Wang, H., McAlpine, S.R. 2021. De Novo Design, Synthesis, and Mechanistic Evaluation of Short Peptides That Mimic Heat Shock Protein 27 Activity. *Med Chem Letters*, 12(5):713-719.
- Kim, K.K., Kim, S.H. 1998. Crystal structure of small heat shock protein. *Nature*. 394:595-599.
- Kim, Y.J., Shuman, J., Sette, M., Przybyla, A. 1984. *Mol Cell Biol*. 4:468-474.
- Kim, Y.S., Burns, A.L., Goldsmith, P.K., Heppner, C., Park, S.Y., Chandrasekharappa, S.C., Collins, F.S., Spiegel, A.M., Marx, S.J. 1999. Stable overexpression of MEN1 suppresses tumorigenicity of RAS. *Oncogene*. 18(43):5936 -5942.
- Kitamura, H., Torigoe, T., Asanuma, H., Honma, I., Sato, N., Tsukamoto, T. 2007. Down-regulation of HLA class I antigens in prostate cancer tissues and up-regulation by histone deacetylase inhibition. *J Urol*. 178:692-6.
- Knapinska, A.M., Gratacos, F.M., Krause, C.D., Hernandez, K., Jensen, A.G., Bradley, J.J., Wu, X., Pestka, S., Brewer, G. 2011. Chaperone Hsp27 Modulates AUF1 Proteolysis and AU-Rich Element-Mediated mRNA Degradation. *Mol Cell Biol*.31(7):1419–1431.
- Kostenko, S., Moens, U., 2009. Heat shock protein 27 phosphorylation: kinases, phosphatases, functions and pathology. *Cell Mol Life Sci*. 66:3289-3307.
- Kral, M., Rosnska, V., Student, V., Gred, M., Hrabec, M., Bouchal, J. 2011. Genetic determinants of prostate cancer. Biomed Pap Med Fac, Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 155:3-9.
- La, P., Schnepf, R.W., Clark, D.P., Albert, C.S., Hua, X. 2004. Tumor suppressor menin regulates expression of insulin-like growth factor binding protein 2. *Endocrinology*. 145:3443–3450.
- La, P., Desmond, A., Hou, Z., Silva, A.C., Schnepf, R.W., Hua, X. 2006. Tumor suppressor menin: The essential role of nuclear localization signal domains in coordinating gene expression. *Oncogene*. 25:3537–3546.
- Lambert, H., Charrette, S.J., Bernier, A.F., Guimond, A., Landry, J. 1999. HSP27 multimerization mediated by phosphorylation-sensitive intermolecular interactions at the amino terminus. *J Biol Chem*. 274(14):9378-9385.
- Lampros, M., Vlachos, N., Voulgaris, S., Alexiou, G.A. 2022. The Role of Hsp27 in Chemotherapy Resistance. *Biomedicines*. 10:897.

- Landis G, Shen J, Tower J. 2012. Gene expression changes in response to aging compared to heat stress, oxidative stress and ionizing radiation in *Drosophila melanogaster*. *Aging*. 4(11):768.
- Landry, J., Lambert, H., Zhou, M., Lavoie, J.N., Hickey, E., Weber, L.A., Anderson, C.W. 1992. Human HSP27 is phosphorylated at serines 78 and 82 by heat shock and mitogen-activated kinases that recognize the same amino acid motif as S6 kinase II. *J Biol Chem*. 267(2) :794-803.
- Larousse Medicale.encyclopédie.Vésicule Séminalé.. Disponible sur : [:https://larousse.fr/encyclopedia/medical/v%C3%A9sicule_s%C3%A9minale/16928](https://larousse.fr/encyclopedia/medical/v%C3%A9sicule_s%C3%A9minale/16928). (Consulté le 21/01/2023).
- Laskowska, E. 2007. Small heat shock proteins--role in apoptosis, cancerogenesis and diseases associated with protein aggregation. *Postepy Biochem* 53(1):19–26.
- Laskowska, E., Matuszewska, E., Kuczynska-Wisnik, D. 2010. Small heat shock proteins and protein-misfolding diseases. *Curr Pharm Biotechnol*. 11(2):146–157.
- Lazzaro, B., Anderson, A.E., Kajdacsy-Balla, A., Hessner, M.J. 2001. Antigenic characterization of medullary carcinoma of the breast: HLA-DR expression in lymph node positive cases. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 9:234-41.
- Lebret, T., Watson, R.W., Fitzpatrick, J.M. 2003. Heat shock proteins: Their role in urological tumors. *J Urol*. 169:338–346.
- Lee, K.L., Peehl, D.M. 2004.Molecular and cellular pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. *J Urol*.172:1784-1791.
- Lelj-Garolla, B., Mauk, A.G. 2005. Self-association of a small heat shock protein. *J Mol Biol*. 345:631-642.
- Lelj-Garolla, B., Mauk, A.G. 2012. Roles of the N- and C-terminal sequences in Hsp27 self-association and chaperone activity. *Sci Publ Protein Soc*. 21(1):122–133.
- Li, J., Fu, X., Cao, S., Li, J., Xing, S., Li, D., Dong, Y., Cardin, D., Park, H.W., Mauvais-jarvis, F., Zhang, H. 2018. Membrane-Associated Androgen Receptor (AR) Potentiates Its Transcriptional Activities by Activating Heat Shock Protein 27 (HSP27). *J Biol Chem*. 293(33):12719-1229.
- Li, Z., Menoret, A., Srivastava, P. 2002. Roles of heat-shock proteins in antigen presentation and cross-presentation. *Curr Opin Immunol*. 14:45–51.
- Lindquist, S., Craig, E.A. 1988. The heat shock proteins. *Annu Rev Genet*. 22:631–677.
- Liu, C., Welsh, M.J. 1999. Identification of a site of Hsp27 binding with Hsp27 and alpha Bcrystallin as indicated by the yeast two-hybrid system. *Biochem Biophys Res Commun*. 255(2):256-261.

Liu, Y., Yin, T., Feng, Y., Cona, M.M., Huang, G., Liu, J., Song, S., Jiang, Y., Xia, Q., Swinnen, J.V., Bormans, G., Himmelreich, U., Oyen, R., Ni, Y. 2015. Mammalian models of chemically induced primary malignancies exploitable for imaging-based preclinical theragnostic research. *Quant Imag Med Surg.* 5(5):708-729.

Ltzkowitz, S. 1992. Carbohydrates changes in colon carcinoma. *APMIS.* Suppl 27, 100:173-180.

Luo, X., Budihardjo, I., Zou, H., Slaughter, C., Wang, X. 1998. Bid, a Bcl2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors. *Cell.* 94:481-490.

Madjd, Z., Spendlove, I., Pinder, S.E., Ellis, I.O., Durrant, L.G. 2005. Total loss of MHC class I is an independent indicator of good prognosis in breast cancer. *Int J Cancer.* 117(2):248–255.

Malik, R. Khan, A.P., Asangani, I.A., Cieřlik, M., Prensner, J.R., Wang, X., Iyer, M.K., et al., 2015. Targeting the MLL complex in castration-resistant prostate cancer. *Nat med.* 21(4):344–352.

Marcelli, M., Weigel, N.L, Lamb, D.J. 2000. Steroid Receptors in Prostate Cancer Development and Progression. In *Endocrine Oncology, Contemporary Endocrinology*, Ed. Totowa, NJ: Humana Press, pp:255-275.

Marincola, F.M., Jaffee, E.M., Hicklin, D.J., Ferrone, S. 2000. Escape of human solid tumors from T-cell recognition: molecular mechanisms and functional significance. *Adv Immunol* 74: 181–273.

Marx, S.J., Spiegel, A.M., Skarulis, M.C., Doppman, J.L., Collins, F.S., Liotta, L.A. 1998. Multiple endocrine neoplasia type 1: clinical and genetic topics. *Ann Intern Med.* 129:484–494.

Marx, S.J., Vogelstein, B., Kinzler, K.W. 2002. *The Genetic Basis of Human Cancer: Multiple endocrine neoplasia type 1.* Edt. McGraw Hill. New York, pp:475-450.

Matillon, X., Crouzet S., Murat FJ., Cherasse A., Martin, X. 2012. Cryothérapie de rattrapage pour récidence de cancer de prostate après radiothérapie externe. *Progrès en Urologie.* 22(13):801.

Matkar, S., Thiel, A., Hua, X. 2013. Menin: a scaffold protein that controls gene expression and cell signaling. *Trends Biochem Sci.* 38(8):394–402.

Mc Claren, M., Isseroff, R.R. 1994. Dynamic changes in intracellular localization and isoforms of the 27-kD stress protein in human keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 102:375–381.

McClaren, M., Isseroff, R.R. 1994. Dynamic changes in intracellular localization and isoforms of the 27-kD stress protein in human keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 102(3):375-381.

- McDonald, E.T., Bortolus, M., Koteiche, H.A., McHaourab, H.S. 2012. Sequence, structure, and dynamic determinants of Hsp27 (HspB1) equilibrium dissociation are encoded by the N-terminal domain. *Biochemistry*. 51:1257–1268.
- McNeal, J.E. 1972. The prostate and prostatic urethra: a morphologic synthesis. *J Urol*. 107(6):1008-1016.
- McNeal, J.E. 1988. Normal histology of the prostate. *Am J Surg Pathol*. 12(8):619-633.
- Marciel M.P., Hoffmann, P.R. 2019. Molecular Mechanisms by Which Selenoprotein K Regulates Immunity and Cancer. *Biol Trace Elem Res*. 192(1):60-68.
- Medioni, J., Dionysopoulos, D., Banu, E., Scotté, F., Beuzeboc, P., Oudard, S. 2008. Chimiothérapie du cancer de la prostate. *La Presse Médicale*. 37(5):814–820.
- Mehlen, P., Schulze-Osthoff, K., Arrigo, A.P. 1996. Small stress proteins as novel regulators of apoptosis. Heat shock protein 27 blocks Fas/APO-1- and staurosporine-induced cell death. *J Biol Chem*. 271(28):16510-16514.
- Menon, A.G., Morreau, H., Tollenaar, R.A., Alphenaar, E., Van Puijenbroek, M., Putter, H., Janssen-Van Rhijn, C.M., Van De Velde, C.J., Fleuren, G.J., Kuppen, P.J. 2002. Down-regulation of HLA-A expression correlates with a better prognosis in colorectal cancer patients. *Lab Invest*. 82(12):1725–1733.
- Miller, H., Poon, S., Hibbert, B., Rayner, K., Chen, Y.X., O'Brien, E.R. 2005. Modulation of estrogen signaling by the novel interaction of heat shock protein 27, a biomarker for atherosclerosis, and estrogen receptor beta: mechanistic insight into the vascular effects of estrogens. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 25:e10–4.
- Miller-Graziano, C.L., De, A., Laudanski, K., Herrmann, T., Bandyopadhyay, S. 2008. HSP27: an anti-inflammatory and immunomodulatory stress protein acting to dampen immune function. *Novartis Found. Symp*. 291:196–208.
- Miyazaki, T., Kato, H., Faried, A., Sohda, M., Nakajima, M., Fukai, Y., Masuda, N., Manda, R., Fukuchi, M., Ojima, H., Tsukada, K., Kuwano, H. 2005. Predictors of response to chemoradiotherapy and radiotherapy for esophageal squamous cell carcinoma. *Anticancer Res*. 25(6C):4439-4444.
- Mizutani, H., Okano, T., Minegishi, Y., Matsuda, K., Sudoh, J., Kitamura, K., Noro, P., Soeno, C., Yoshimura, A., Seike, M., Gemma, A. 2010. HSP27 modulates epithelial to mesenchymal transition of lung cancer cells in a Smad-independent manner. *Oncol Lett*. 1(6):1011-1016.
- Mombelli, S. 2014. Cancers du sein et Immunologie anti-tumorale. *Thèse de Doctorat*. Université de Reims, France. pp: 66.

- Morabito, A., Dozin, B., Salvi, S., Pasciucco, G., Balbi, G., Laurent, S., Pastorino, S., Carli, F., Truini, M., Bruzzi, P., Del Mastro, L., Pistillo, M.P. 2009. Analysis and clinical relevance of human leukocyte antigen class I, heavy chain, and beta2-microglobulin downregulation in breast cancer. *Hum Immunol.* 70(7):492–495.
- Mottet, N., Cornford, P., van den Bergh R.C.N., Briers E., De Santis, M., Fanti, S., Gillessen, J., Grummet, A.M. Henry, T.B., Lam, M.D., Mason, T.H., van der Kwast, H.G., van der Poel, O., Rouvière, I.G., Schoots. D., Tilki, T., Van den Broeck, M., Cumberbatch, N., Fossati, G., Gandaglia, N., Grivas, M., Lardas, M., Liew, L., Moris, D.E. 2020. EAU - EANM - ESTRO - ESUR - SIOG Guidelines on Prostate Cancer. *Europ Assoc Urol.* pp:21.
- Mounier, N., Arrigo, A.P. 2002. Actin cytoskeleton and small heat shock proteins: how do they interact? *Cell Stress Chaper.* 7(2):167–176.
- Moyer, V.A. 2012. Screening for prostate cancer: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. *Ann. Inter. Med.* 157:120–134.
- Multhoff, G., Botzler C., Issels, R. 1998. The role of heat shock proteins in the stimulation of an immune response. *Bio Chem.* 379:295-300.
- Multhoff, G., Botzler, C., Jennen, L., Schmidt, J., Ellwart, J., Issels, R. 1997. Heat shock protein 72 on tumor cells. *J Immunol.* 158:4341-4350.
- Murai, M.J., Chruszcz. M., Reddy, G., Grembecka, J., Cierpicki, T. 2011. Crystal structure of menin reveals binding site for mixed lineage leukemia (MLL) Protein. *J Biol Chem.* 286:31742-31748.
- Mymrikov, E.V., Seit-Nebi, A.S., Gusev, N.B. 2011. Large potentials of small heat shock proteins. *Physiol Rev.* 91(4):1123–1159.
- Nagata, Y.; Hanagiri, T.; Mizukami, M.; Kuroda, K.; Shigematsu, Y.; Baba, T.; Ichiki, Y.; Yasuda, M.; So, T.; Takenoyama, M.; et al. 2009. Clinical significance of HLA class I alleles on postoperative prognosis of lung cancer patients in Japan. *Lung Cancer.* 65:91–97.
- Nandeesh, H. 2008. Benign prostatic hyperplasia: dietary and metabolic risk factors. *Int Urol Nephrol.* 40:649-656.
- Nelakurti, D.D., Pappula, A.L., Rajasekaran, S., Miles, W.O., Petreaca, R.C. 2020. Comprehensive Analysis of MEN1 Mutations and Their Role in Cancer. *Cancers.* 12(9):2616.
- Ojima, N., Oohara, I. 2008. Isolation and characterization of a genomic fosmid clone containing hspb1 (hsp27) from the Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis*. *Marine Genomics.* 1(3-4):87–93.
- Ono, A., Kumai, T., Koizumi, H., Nishikawa, H., Kobayashi, S., Tadokoro, M. 2009. Overexpression of heat shock protein 27 in squamous cell carcinoma of the uterine cervix: A

proteomic analysis using archival formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Hum Pathol.* 40:41–49.

Parcellier, A., Brunet, M., Schmitt, E., Col, E., Didelot, C., Hammann, A., Nakayama, K., Nakayama, K., Khochbin, S., Solary, E., Garrido, C. 2006. HSP27 favors ubiquitination and proteasomal degradation of p27Kip1 and helps S-phase re-entry in stressed cells. *J Publ Fed Am Soc Exp Biol.* 20(8):1179–1181.

Parcellier, A., Schmitt, E., Gurbuxani, S., Seigneurin-Berny, D., Pance, A., Chantome, A., Plenchette, S., Khochbin, S., Solary, E., Garrido, C. 2003. HSP27 Is a Ubiquitin-Binding Protein Involved in I- B Proteasomal Degradation. *Mol Cell Biol.* 23(16):5790–5802.

Parham, P.; Ohta, T. 1996. Population biology of antigen presentation by MHC class I molecules. *Science.* 272:67–74.

Paris, P.L., Sridharan, S., Hittelman, A.B., Kobayashi, Y., Perner, S., Huang, G., Simko, J., Carroll, P., Rubin, M.A., Collins, C. 2009. An oncogenic role for the multiple endocrine neoplasia type 1 gene in prostate cancer. *Prost Cancer Prostatic Dis.* 12(2):184–191.

Paul, C., Simon, S., Gibert, B., Virost, S., Manero, F., Arrigo, A.P. 2010. Dynamic processes that reflect anti-apoptotic strategies set up by HspB1 (Hsp27). *Exp Cell Res.* 316(9):1535–1552.

Pavan, S., Musiani, D., Torchiano, E., Migliardi, G., Gai, M., Di, C., Jessica E.F., Olivero, M., Di, R.M.F. 2013. HSP27 is required for invasion and metastasis triggered by hepatocyte growth factor. *Int J Cancer.* 134:1289–1299.

Pfeifer, P. 2006. Docteur, c'est la prostate. Eds. Alpen, (France). pp:14-16.

Plesofsky-Vig, N., Vig, J., Brambl, R. 1992. Phylogeny of the alphacrystallin-related heat-shock proteins. *J Mol Evol.* 35:537-545.

Pommie M. 2000. Protéines du choc thermique (HSP70, HSP27) et tumeurs. *Thèse de Doctorat.* Faculté de Pharmacie, Université Joseph Fourier, Grenoble (France).

Porter, W., Wang, F., Wang, W., Duan, R., Safe, S. 1996. Role of estrogen receptor/Sp1 complexes in estrogen-induced heat shock protein 27 gene expression. *Mol Endocrinol.* 10(11):1371-1378.

Powell, A.G., Horgan, P.G., Edwards, J. 2012. The bodies fight against cancer: is human leucocyte antigen (HLA) class I the key? *J Cancer Res Clin Oncol.* 138(5):723–728.

Ramnath, N., Tan, D., Li, Q., Hylander, B.L., Bogner, P., Ryes, L., Ferrone, S. 2006. Is downregulation of MHC class I antigen expression in human non-small cell lung cancer associated with prolonged survival? *Cancer Immunol Immunother.* 55(8):891–899.

- Rauch, J. N., Tse, E., Freilich, R., Mok, S.A., Makley, L.N., Southworth, D.R., Gestwicki, J. E. 2017. BAG3 is a modular, scaffolding protein that physically links heat shock protein 70 (Hsp70) to the small heat shock proteins. *J Mol Biol.* 429:128–141.
- Richard, F. 1994. Epidemiology of prostate cancer and its implication in public health. *Rev Prat.* 44:575-579.
- Richter, E., Srivastava, S., Dobi, A. 2007. Androgen Receptor and Prostate Cancer. *Prost Cancer Prost Dis.* 10(2):114-118.
- Rocchi, P., So, A., Kojima, S., Signaevsky, M., Beraldi, E., Fazli, L., Hurtado-Coll, A., Yamanka, K., Gleave, M.E. 2004. Heat shock protein 27 increases after androgen ablation and plays a cytoprotective role in hormone refractory prostate cancer. *Cancer Res.* 64:6595–6602.
- Rocchi, P., Beraldi, E., Ettinger, S., Fazli, L., Vessella, R.L., Nelson, C., Gleave, M. 2005. Increased Hsp27 after androgen ablation facilitates androgen-independent progression in prostate cancer via signal transducers and activators of transcription 3-mediated suppression of apoptosis. *Cancer Res.* 65(23):11083–11093.
- Rocchi, P., Jugpal, P., So, A., Sinneman, S., Ettinger, S., Fazli, L., Nelson, C., Gleave, M. 2006. Small interference RNA targeting heat-shock protein 27 inhibits the growth of prostatic cell lines and induces apoptosis via caspase-3 activation in vitro. *BJU Int.* 98:1082–1089.
- Rogalla, T., Ehrnsperger, M., Preville, X., Kotlyarov, A., Lutsch, G., Ducasse, C., Paul, C., Wieske, M., Arrigo, A.P., Buchner, J., Gaestel, M. 1999. Regulation of Hsp27 oligomerization, chaperone function, and protective activity against oxidative stress/tumor necrosis factor alpha by phosphorylation. *J Biol Chem.* 274(27):18947-18956.
- Rohit, M., Khan, A.P., Asangani, I.A., Cieřlik, M., Prensner, J.R., Wang, X., Iyer, M.K., Jiang, X., Borkin, D., Escara-Wilke, J., Stender, R., Wu, Y., Niknafs, Y.S., Jing, X., Qiao, Y., Palanisamy, N., Kunju, L.P., Krishnamurthy, P.M., Yocum, A.K., Mellacheruvu, D., Nesvizhskii, A.I., Cao, X., Dhanasekaran, S.M., Feng, F.Y., Grembecka, J., Cierpicki, T., Chinnaiyan, A.M. 2015. Targeting the MLL complex in castration-resistant prostate cancer. *Nature Med.* 21(4):344–352.
- Ross, J.S.; Sheehan, C.E.; Dolen, E.M.; Kallakury, B.V. 2002. Morphologic and molecular prognostic markers in prostate cancer. *Adv Anat Pathol.* 9:115–128.
- Rozet, F., Hennequin, C., Beauval, J.B., Beuzeboc, P., Cormier, L., Fromont-Hankard, G., Méjean, A. 2019. Recommandations françaises du Comité de Cancérologie de l'AFU – Actualisation 2018–2020 : cancer de la prostate. *Progrès En Urologie.* S1166708718305141.
- Saad F. Eisenberger MA. 2014. Introduction—castration resistant prostate cancer: a rapidly expanding clinical state and a model for new therapeutic opportunities. In: Saad F, Eisenberger

MA, Eds. Management of Castration Resistant Prostate Cancer. 1st ed. New York, NY: Springer, pp:3-8.

Saini, S. 2016. PSA and beyond: Alternative prostate cancer biomarkers. *Cell Oncol.* 39:97–106

Sakamoto, K., Urushidani, T., Nagao, T. 1998. Translocation of HSP27 to cytoskeleton by repetitive hypoxia-reoxygenation in the rat myoblast cell line, H9c2. *Biochem Biophys Res Commun.* 251(2):576-579.

Salomon, L., Azria, D., Bastide, C., Beuzeboc, P., Cormier, L., Cornud, F., Eiss, D., Eschwège, P., Gaschignard, N., Hennequin, C., Molinié, V., Mongiat Artus, P., Moreau, J.L., Péneau, M., Peyromaure, M., Ravery, V., Rebillard, X., Richaud, P., Rischmann, P., Rozet, F., Staerman, F., Villers A., Soulié, M., et les membres du CCAFU. 2010. Recommandations en Onco-Urologie. Cancer de la prostate. *Progrès en Urologie.* 20(4):S217-S252.

Schild, H., Rötzscgke, O., Kalbacher, H., Rammensee, H.G. 1990. Limit of T cell tolerance to self proteins by peptide presentation. *Science.* 247:1587-1597.

Schlesinger, M.J. 1990. Heat shock proteins. *J Biol Chem.* 265:12111-12114.

Schulman, C. 2004. Intérêt des inhibiteurs de la 5- α -réductase dans la prévention du cancer de la prostate. *Annales d'Urologie.* 38:S35–S42.

Seisen, T., Rouprêt, M., Faix, A., Droupy, S. 2012. La prostate: une glande au carrefour urogénital. *Progrès en urologie.* 22:S2-S6.

Seliger, B. 2016. Molecular mechanisms of HLA class I-mediated immune evasion of human tumors and their role in resistance to immunotherapies. *HLA.* 88:213-220.

Shafi, A.A., Yen, A.E., Weigel, N.L. 2013. Androgen Receptors in Hormone-Dependent and Castration-Resistant Prostate Cancer. *Pharmacol Therap.* 140(3):223-238.

Shashidharamurthy, R., Koteiche, H.A., Dong, J., McHaourab, H.S. 2005. Mechanism of chaperone function in small heat shock proteins: Dissociation of the HSP27 oligomer is required for recognition and binding of destabilized T4 lysozyme. *J Biol Chem.* 280:5281-5289.

Shin, K.D., Lee, M.Y., Shin, D.S., Lee, S., Son, K.H., Koh, S., Paik, Y.K., Kwon, B.M., Han, D.C. 2005. Blocking tumor cell migration and invasion with biphenyl isoxazole derivative KRIBB3, a synthetic molecule that inhibits Hsp27 phosphorylation. *J Biol Chem.* 280:41439-41448.

Shiota, M., Bishop, J.L., Nip, K.M., Zardan, A., Takeuchi, A., Cordonnier, T., Beraldi, E., Bazov, J., Fazli, L., Chi, K. 2013. Hsp27 regulates epithelial mesenchymal transition, metastasis, and circulating tumor cells in prostate cancer. *Cancer Res.* 73(10):3109–3119.

- Seliger, B., Stoehr, R., Handke, D., Mueller, A., Ferrone, S., Wullich, B., et al. 2010. Association of HLA class I antigen abnormalities with disease progression and early recurrence in prostate cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 59:529-40.
- Silke, A., Kindas-Mügge, I., Trautinger, F., Fröhlich, I., Gsur, A., Herbacek, I., Berger, W., Micksche, M. 2003. Overexpression of Hsp27 in a Human Melanoma Cell Line: Regulation of E-Cadherin, MUC18/MCAM, and Plasminogen Activator (PA) System. *Cell Stress Chaper.* 8(3):249-225.
- Simmons, M.N., Berglund, R.K., Jones, J.S. 2011. A practical guide to prostate cancer diagnosis and management. *Cleve Clin J Med.* 78:321-331.
- Singh-Jasuja, H., Hilf, N., Arnold-Schild, D., Schild, H. 2001. The role of heat shock proteins and their receptors in the activation of the immune system. *Biol Chem.* 382, 629–636.
- Sinsimer, K.S., Gratacos, F.M., Knapinska, A.M., Lu, J., Krause, C.D., Wierzbowski, A.V., Maher, L.R., Scudato, S., Rivera, Y.M., Gupta, S., Turrin, D.K., De La Cruz, M.P., Pestka, S., Brewer, G. 2008. Chaperone Hsp27, a Novel Subunit of AUF1 Protein Complexes, Functions in AU-Rich Element-Mediated mRNA Decay. *Mol Cell Biol.* 28(17):5223–5237.
- So, T.; Takenoyama, M.; Sugaya, M.; Yasuda, M.; Eifuku, R.; Yoshimatsu, T.; Osaki, T.; Yasumoto, K. 2001. Unfavorable prognosis of patients with non-small cell lung carcinoma associated with HLA-A2. *Lung Cancer.* 32:39–46.
- Solary, E., Droin, N., Bettaieb, A., Corcos, L., Dimanche-Boitrel, M.T., Garrido, C. 2000. Positive and negative regulation of apoptotic pathways by cytotoxic agents in hematological malignancies. *Leukemia.* 14: 833-1849.
- Somara, S., Bitar, K.N. 2004. Tropomyosin interacts with phosphorylated HSP27 in agonist-induced contraction of smooth muscle. *Am J Physiol Cell Physiol.* 286(6):C1290-1301.
- Speetjens, F.M., de Bruin, E.C., Morreau, H., Zeestraten, E.C., Putter, H., van Krieken, J.H., van Buren, M.M., van Velzen, M., Dekker-Ensink, N.G., van de Velde, C.J., Kuppen, P.J. 2008. Clinical impact of HLA class I expression in rectal cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 57(5):601–609.
- Srivastava, P.K., Maki, R.G. 1991. Stress-induced proteins in immune response to cancer. *Curr Topics Microbiol Immunol.* 167:109-123.
- Srivastava, P. 2002. Roles of heat-shock proteins in innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol.* 2:185–194.
- Stern, J.A., Schaeffer, A.J. 2000. Chronic prostatitis. *West J Med.* 172:98-101.

- Stetler RA, Gao Y, Signore A, Cao G, Chen J. 2009 HSP27: mechanisms of cellular protection against neuronal injury. *Curr Mol Med.* 9(7):863–872.
- Stock, A.D., Spallone, P.A., Dennis, T.R., Netski, D., Morris, C.A., Mervis, C.B., Hobart, H.H. 2003. Heat shock protein 27 gene: chromosomal and molecular location and relationship to Williams syndrome. *Am J Med Genet.* 120A(3):320-325.
- Stokidis, S.; Fortis, S.P.; Kogionou, P.; Anagnostou, T.; Perez, S.A.; Baxevanis, C.N. 2020. HLA Class I Allele Expression and Clinical Outcome in De Novo Metastatic Prostate Cancer. *Cancers.* 12:1623.
- Stolzenburg, J.U., Truss, M.C., Rabenalt, R., Do, M., Pfeiffer, H., Bekos, A., Neuhaus, J., Stief, C.G., Jonas, U., Dorschner, W. 2004. Endoscopic extraperitoneal radical prostatectomy. Results after 300 procedures. *Urologe A,* 43(6):698-707.
- Sukhodolets, K.E., Hickman, A.B., Agarwal, S.K., Sukhodolets, M.V., Obungu, V.H., Novotny, E.A., Crabtree, J.S., Chandrasekharappa, S.C., Collins, F.S., Spiegel, A.M., Burns, A.L., Marx, S.J. 2003. The 32-Kilodalton Subunit of Replication Protein A Interacts with Menin, the Product of the MEN1 Tumor Suppressor Gene. *Mol Cell Biol.* 23(2):493–509.
- Sumanasuriya, S., De Bono, J. 2018. Treatment of Advanced Prostate Cancer-A Review of Current Therapies and Future Promise. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 8(6):a030635.
- Talscharller, C. 2015. La prise en charge de la prostate par la médecine holistique. Ed. Lanore poche (Paris).pp:139.
- Tanaka, Y., Fujiwara, K., Tanaka, H., Maehata, K., Kohno, I. 2004. Paclitaxel inhibits expression of heat shock protein 27 in ovarian and uterine cancer cells. *Int J Gynecol Cancer.* 14(4):616-620.
- Taramelli, D., Fossati, G., Mazzocchi, A., Delia, D., Ferrone, S., Parmiani, G. 1986. Classes I and II HLA and melanoma-associated antigen expression and modulation on melanoma cells isolated from primary and metastatic lesions. *Cancer Res.* 46:433-9.
- Thakker, R.V. 2014. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) and type 4 (MEN4). *Molec Cell Endocr.* 386(1-2):2–15.
- Thakker, R.V. 2001. Multiple endocrine neoplasia. *Horm. Res.*56 (Suppl. 1):67–72.
- Benjamin, G. 2010. La protéine de stress Hsp27 / HspB1, une cible de choix en thérapie anti-cancéreuse. Sciences agricoles. *Thèse de Doctorat.* Université Claude Bernard, Lyon I (France).
- Tortora, G.J., Derrickson, B. 2018. Anatomie et physiologie.5^{ème} Ed. Deboeck Supérieur (France). pp:1066.
- Tubiana-Mathieu, N. 2002. Cancers : prévention et dépistage. Ed. Masson S.A (Paris). pp:16-20.

- Tweedle, E.M., Khattak, I., Ang, C.W., Nedjadi, T., Jenkins, R., Park, B.K., Kalirai, H., Dodson, A., Azadeh, B., Terlizzo, M., Grabsch, H., Mueller, W., Myint, S., Clark, P., Wong, H., Greenhalf, W., Neoptolemos, J.P., Rooney, P.S., Costello, E. 2010. Low molecular weight heat shock protein HSP27 is a prognostic indicator in rectal cancer but not colon cancer. *Gut*. 59(11):1501–1510.
- Udono, H., Yamano, T., Kawabata, Y., Ueda, M., Yui, K. 2001. Generation of cytotoxic T lymphocytes by MHC class I ligands fused to heat shock cognate protein 70. *Int Immunol*. 13:1233–1242.
- Uozaki, H., Ishida, T., Kakiuchi, C., Horiuchi, H., Gotoh, T., Iijima, T. 2000. Expression of heat shock proteins in osteosarcoma and its relationship to prognosis. *Pathol Res Pract*. 196(10):665–673.
- Van de Klundert, F.A.J.M., Gijzen, M.L.J., van den Ijssel, P.R.L.A., Snoeckx, L.H.E.H., de Jong, W.W. 1998. α B-crystallin and hsp25 in neonatal cardiac cells — differences in cellular localization under stress conditions. *Europ J Cell Biol*. 75(1):38–45.
- Van Luijn, M.M., Chamuleau, M.E., Thompson, J.A., Ostrand-Rosenberg, S., Westers, T.M., Souwer, Y., Ossenkoppele, G.J., Van Ham S.M., Van de Loosdrecht, A.A. 2010. Class II-associated invariant chain peptide downmodulation enhances the immunogenicity of myeloid leukemic blasts resulting in increased CD4C T-cell responses. *Haematologica*. 95:485-93;
- Van Montfort, R.L., Basha, E., Friedrich, K.L., Slingsby, C., Vierling, E. 2001. Crystal structure and assembly of eukaryotic small heat shock protein. *Nat Struct Biol*. 8:1025-1030.
- Vargas-Roig, L.M., Fanelli, M.A., Lopez, L.A., Gago, F.E., Tello, O., Aznar, J.C., Ciocca, D.R. 1997. Heat shock proteins and cell proliferation in human breast cancer biopsy samples. *Cancer Detect Prev*. 21:441–451.
- Vickman, R.E., Franco, O.E., Moline, D.C., Vander Griend, D.J., Thumbikat, P., Hayward, S.W. 2020. The role of the androgen receptor in prostate development and benign prostatic hyperplasia: A review. *Asian J Urol*. 7(3):191-202.
- Vidyasagar A, Wilson N.A. and Djamali A. Heat shock protein 27 (HSP27): biomarker of disease and therapeutic target. *Fibrogenesis & Tissue Repair* 2012, 5:7.
- Voorhees, P.M., Chen, Q., Kuhn, D.J., Small, G.W., Hunsucker, S.A., Strader, J.S., Corringham, R.E., Zaki, M.H., Nemeth, J.A., Orłowski, R.Z. 2007. Inhibition of interleukin-6 signaling with CNTO 328 enhances the activity of bortezomib in preclinical models of multiple myeloma. *Clin Cancer Res*.13(21):6469-6478.
- Vyas JM, Van der Veen AG, Ploegh HL. 2008. The known unknowns of antigen processing and presentation. *Nat Rev Immunol*. 8:607- 18.

- Wadhwa, P. 2013. An introduction to acinar pressures in BPH and prostate cancer. *Nature Reviews Urology*, 10(6):358–366.
- Wang, X., Chen, M., Zhou, J., Zhang, X. 2014. HSP27, 70 and 90, anti-apoptotic proteins, in clinical cancer therapy. *Int J Oncol*. 45(1):18–30.
- Watson, N.F., Ramage, J.M., Madjd, Z., Spendlove, I., Ellis, I.O., Scholefield, J.H., Durrant, L.G. 2006. Immunosurveillance is active in colorectal cancer as downregulation but not complete loss of MHC class I expression correlates with a poor prognosis. *Int J Cancer*. 118(1):6–10.
- Wautot, V., Vercherat, C., Lespinasse, J., Chambe, B., Lenoir, G.M., Zhang, C.X., Porchet, N., Cordier, M., Bérout, C., Calender, A. 2002. Germline mutation profile of MEN1 in Multiple Endocrine Neoplasia type 1: Search for correlation between phenotype and the functional domains of the MEN1 protein. *Human Mutation*. 20(1):35–47.
- Wei, L., Liu, T.T., Wang, H.H., Hong, H.M., Yu, A.L., Feng, H.P., Chang, W.W. 2011. Hsp27 participates in the maintenance of breast cancer stem cells through regulation of epithelial–mesenchymal transition and nuclear factor- κ B. *Breast Cancer Res*. 13:R101.
- Whitley D., Goldberg S.P., Jordan W.D. 1999. Heat shock proteins: a review of the molecular chaperones. *J Vasc Surg*. 29:748–751.
- Wu, G., Yuan, M., Shen, S., Ma, X., Fang, J., Zhu, L., Gao, P. 2017. Menin enhances c-Myc-mediated transcription to promote cancer progression. *Nature Commun*. 8:15278.
- Xu, B., Li, S.H., Zheng, R., Gao, S.B., Ding, L.H., Yin, Z.Y., Jin, G.H. 2013. Menin promotes hepatocellular carcinogenesis and epigenetically up-regulates Yap1 transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 110:17480–17485.
- Xu, B., Li, SH., Zheng, R., Gao, S.B., Ding, L.H., Yin, Z.Y., Jin, G.H. 2013. Menin promotes hepatocellular carcinogenesis and epigenetically up-regulates Yap1 transcription. *Procee Nat Acad Sciences*. 110(43):17480–17485.
- Xylinas, E., Ppeyromaure, M. 2012. Cancer de la prostate: traitement. 18-56-A-14.
- Yamaguchi, K., Kameya, T., Abe, K. 1980. Multiple endocrine neoplasia type 1. *J Clin Endocrinol Metab*. 9 :261–284.
- Yang, Y.J., Song, T.Y., Park, J., Lee, J., Lim, J., Jang, H., Kim, Y.N., Yang, J.H., Song, Y., Choi, A., Lee, H.Y., Jo, C.H., Han, J.W., Kim, S.T., Youn, H.D., Cho, E.J. 2013. Menin mediates epigenetic regulation via histone H3 lysine 9 methylation. *Cell Death Dis*. 4(4):e583–.
- Yang, F.; Kim, D.K.; Nakagawa, H.; Hayashi, S.; Imoto, S.; Stein, L.; Roth, F.P. 2019. Quantifying immune-based counterselection of somatic mutations. *PLoS Genet*. 15:e1008227

- Yap, T.A., Smith, A.D., Ferraldeschi, R., Al-Lazikani, B., Workman, P., de Bono, J.S. 2016. Drug discovery in advanced prostate cancer: translating biology into therapy. *Nat Rev Drug Discov.* 15(10):699–718.
- Yates, M., Chaiba, S., Zhang, C., Borson-Chazot, F., Selmi-Ruby, S., 2016. La réduction de l'expression du gène Men1 augmente la prolifération des cellules épithéliales de la thyroïde murine. *Ann d Endocrinol.* 77(4):304.
- Yokoyama, A., Somervaille, T.C.P., Smith, K.S., Rozenblatt-Rosen, O., Meyerson, M., Cleary, M.L. 2005. The Menin Tumor Suppressor Protein Is an Essential Oncogenic Cofactor for MLL-*Ass Leukemogen Cell.* 123:207–218.
- Yoshida, B.A., Sokoloff, M.M., Welch, D.R., Rinker-Schaeffer, C.W. 2000. Metastasis-suppressor genes: a review and perspective on an emerging field. *J Natl Cancer Inst.* 92:1717–1730.
- Zavialov, A., Benndorf, R., Ehrnsperger, M., Zav'yalov, V., Dudich, I., Buchner, J., Gaestel, M. 1998. The effect of the intersubunit disulfide bond on the structural and functional properties of the small heat shock protein Hsp25. *Int J Biol Macromol.* 22(3-4) :163-173.
- Zerbib, M., Perez, M. 2002. La Prostate: Tout ce qu'il faut savoir, Solar ed. pp: 227.
- Zhang, R., Tremblay, T.L., McDermid, A., Thibault, P., Stanimirovic, D. 2003. Identification of differentially expressed proteins in human glioblastoma cell lines and tumors. *Glia.* 42:194–208.
- Zhang, X. 2014. Biologie structurale, et génomique. Etude de complexes protéine-protéine impliquant la chaperonne de bas poids moléculaire hsp27 : implications dans le cancer de la prostate. *Thèse de doctorat*, Université d'Aix-Marseille, France.
- Zhang, Z., Bulur, P., Gustafson, M., Gastineau, D., Dietz, A., Lin, Y. 2014. Lymphoma monocyte crosstalk via HSP27 to promote immune suppression and chemotherapy resistance. *J Immu Ther Cancer.* 2(Suppl 3):222.
- Zhang, Y., Tao, X., Jin, G., Jin, H., Wang, N., Hu, F., Luo, Q., Shu, H., Zhao, F., Yao, M. 2016. Targetable Molecular Chaperone Hsp27 Confers Aggressiveness in Hepatocellular Carcinoma. *Theranostics.* 6:558–570.
- Zoodsma, M.; Nolte, I.M.; Schipper, M.; Oosterom, E.; van der Steege, G.; de Vries, E.G.; te Meerman, G.J.; van der Zee, A.G. 2005. Analysis of the entire HLA region in susceptibility for cervical cancer: A comprehensive study. *J Med Genet.* 42:e49