

TLEMCEN N° D'ORDRE



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE de TLEMCEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la
Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et Immunologie

MEMOIRE

Présenté par

BEDJEBOUDJA Fekhreddine

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER En Immunologie

Thème

**Effets des globules rouge sur la prolifération, le glucose et le calcium
dans l'immunité anti tumorale**

Soutenu le 9/7/2017, devant le jury composé de :

Membres du jury:

HADDOUCHE Mustapha	MCA	Président
TABET HELAL Sanaa	MCB	Examineur
HAMMOUDA Linda	MAB	Examineur
ARIBI Mourad	Professeur	Encadreur

Directeur du laboratoire :

Dr. Mourad ARIBI

Professeur

Université de Tlemcen

Avant-propos

Ce travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et Immunologie (BIOMOLIM), Université de Tlemcen, sous la direction du Professeur Mourad ARIBI.

A l'issue de ce travail, je tiens à remercier le Pr. Mourad ARIBI, le directeur du laboratoire Biologie Moléculaire Appliquée et immunologie, et mon encadreur de m'avoir donnée cette chance de travaillée dans les meilleures conditions et assurée une excellente formation. Merci du fond du cœur j'ai l'honneur et le privilège d'avoir effectué mes Travaux dans votre Laboratoire.

J'exprime ma sincère reconnaissance à toute l'équipe de formation d'immunologie ainsi que les membres du laboratoire pour leurs aides durant les deux ans d'étude en master.

J'exprime aussi ma sincère gratitude à tous les PHd du laboratoire, particulièrement à Mme HADJIDJ Zineb, Mr DAHMANY Zoheir et Mme DAHOU Sara, qui m'ont beaucoup aidé à réaliser ce travail.

Je tiens à remercier également les membres du jury pour leur ferveur et dévotion, ainsi que leur honorable présence.

Ce travail a pour objectif d'étudier l'effet du globule rouge sur la prolifération et le métabolisme des cellules de l'immunité anti tumorale.

Le présent mémoire est structuré en six chapitres : Revues de la littérature, Matériels et méthodes, Résultats, Discussion, Conclusions et Perspectives, Bibliographie. Il s'inscrit dans le cadre de ma formation universitaire pour l'obtention du grade de Master en Immunologie.

Je dédie ce travail à mes parents mon frère Aucas et ma sœur Nabila et à toute ma famille qui m'ont toujours encouragé

Mes amis: Rouda Sara Farah Soumia Marwa et toutes les personnes que j'estime.

Résumé	I
Abstract	II
Avant-propos	V
Table des matières	VI
Liste des figures	VIII
Liste des abbreviations	IX
Introduction	1
Chapitre 1: revues de littératures	3
1.1 Généralité sur Le cancer.....	Error! Bookmark not defined.
1.1.1 Les caractéristiques des cellules tumorales... Error! Bookmark not defined.	
1.1.1.1 Soutenir la signalisation proliférative. Error! Bookmark not defined.	
1.1.1.2 Échappement au suppresseur de tumeur. Error! Bookmark not defined.	
1.1.1.3 Résistance à la mort cellulaire..... Error! Bookmark not defined.	
1.1.1.4 Capacité d'invasion et de migration..... Error! Bookmark not defined.	
1.1.1.5 Induction de l'angiogenèse. Error! Bookmark not defined.	
1.1.1.6 Résistance à la mort cellulaire..... Error! Bookmark not defined.	
1.2 Le cancer colorectal.....	Error! Bookmark not defined.
1.2.1 Facteurs de risques..... Error! Bookmark not defined.	
1.3 Cancer et immunité.	Error! Bookmark not defined.
1.3.1 Le concept de l'immunosurveillance et l'immunoediting. Error! Bookmark not defined.	
1.3.1.1 L'élimination..... Error! Bookmark not defined.	
1312 Phase D'équilibre entre les tumeurs et le système immunitaire. Error!	
Bookmark not defined.	
1313 1.3.1.3. Phase d'échappement. Error! Bookmark not defined.	
1.4 Globule rouge et immunité anti tumorale.....	Error! Bookmark not defined.
1.4.1 Le globule rouge. Error! Bookmark not defined.	
1.4.2 Implications du globule rouge dans l'immunité. Error! Bookmark not defined.	
1.4.3 Effet de vieillesse sur le globule rouge..... Error! Bookmark not defined.	
1.5 Le Glucose.....	Error! Bookmark not defined.
1.5.1 L'effet Warburg..... Error! Bookmark not defined.	
1.5.1.1 Historique. Error! Bookmark not defined.	

1.5.1.2 Métabolisme.	Error! Bookmark not defined.
1.6 Le calcium	Error! Bookmark not defined.
Chapitre 2: Materials and Methods	Error! Bookmark not defined.
2.1 Préparation des solutions	Error! Bookmark not defined.
2.2 Récupération de l'échantillon	Error! Bookmark not defined.
2.2.1 Dissociation mécanique de la tumeur	Error! Bookmark not defined.
2.2.2 Dissociation enzymatique	Error! Bookmark not defined.
2.3 Récupération des PBMC	Error! Bookmark not defined.
2.4 Séparation des globules rouges	Error! Bookmark not defined.
2.5 Mise en culture	Error! Bookmark not defined.
2.6 Dosage du Calcium	Error! Bookmark not defined.
2.7 Dosage du Glucose	Error! Bookmark not defined.
2.8 Dosage BRDU	Error! Bookmark not defined.
Chapitre 3: Resultats et interpretations	24
Chapitre 4: Discussion	27
Chapitre 5: Conclusion et perspectives	Error! Bookmark not defined.30
Chapitre 6: Bibliographie	31

Liste des figures.

Figure 1.1. Caractéristiques des cellules tumorales	5
Figure 1.2. représentation schématique d'un cancer colorectale primaire et de sa métastase au niveau de l'hépatite	6
Figure1.3. schéma qui résume les différentes étapes de l'immunoediting.....	8
Figure 1.4. différent mode d'élimination des tumeurs par le système immunitaire	9
Figure 1.5. schéma représentent la phase d'équilibre dans l'immunoediting du cancer ...	10
Figure 1.6. mécanisme d'échappement tumorale a l'immunité.....	11
Figure 1.7. Représentation schématique des différences entre la phosphorylation oxydante, la glycolyse anaérobie et la glycolyse aérobie (effet Warburg).....	15
Figure 2.1. Biopsie de cancer colorectale fraiche dans un milieu de transport	17
Figure 2.2. La biopsie avant et après dissociation mécanique	18
Figure 2.3. Biopsie après dissociation enzymatique.....	18
Figure 2.4. Différente fraction d'âge du globule rouge après separation.....	19
Figure2.5 dosage du glucose et du calcium (plaque à 96 puits).....	21
Figure 2.6 dosage du BrdU (plaque à 96 puits).....	22
Figure2.7 schéma récapitulatif de la partie matériel et méthodes.....	23
Figure 3.1. L'effet des différentes fractions d'âge de globules rouges (âge1 les plus jeunes – âge4 les plus vieilles) sur la prolifération des cellules tumorales en co-culture avec les cellules PBMC	24
Figure 3.2. L'effet des différentes fractions d'âge de globules rouges (âge1 les plus jeune – âge4 les plus vieilles) sur le métabolisme du glucose intra cytoplasmique chez les cellules tumorale les cellules PBMC et la co-culture.....	24
Figure3.3. L'effet des différentes fractions d'âge de globules rouges (âge1 les plus jeunes – âge4 les plus vieilles) sur le métabolisme du Ca ²⁺ intra cytoplasmique chez les cellule tumorale en co-culture avec les PBMC, les PBMC seul et les cellules tumorale seul.....	25

ATP: adénosine triphosphate.

BRDU: Bromodésoxyuridine.

Ca: Calcium.

CD: Cluster of differentiation.

CHU: Centre hospitalier universitaire.

CMH: Complexe majeur d'histocompatibilité.

EDTA: Ethylène diamine tétra acétique.

Fas: Fatty Acid Synthase.

GR : Globule rouge.

GRM: Globules rouges du mouton.

HBSS: Hank's Balanced Salt Solution.

IgG: Immunoglobulin G.

iNOS: Oxyde nitrique synthase.

NAD⁺: Nicotinamide adénine dinucléotide.

NADH: Nicotinamide adénine dinucléotide réduit.

NKT : cellules tueuse naturelle de type T.

P53: protein 53.

PBMC : Peripheral Blood Mononuclear Cells (Cellule Mononucléaires sanguine périphérique).

PDL1 : Programmed death-ligand 1.

PH: Potentiel hydrogène.

pRB: Protéine du rétinoblastome

ROS: Dérivé réactif de l'oxygène

SVF: Sérum de veau fœtal.

TMB: Tétraméthylbenzidine.

TNF: tumor necrosis factor.

Introduction

Le cancer est une des causes majeures de décès dans le monde à l'origine de 8,2 millions de décès en 2012 (World Cancer Report 2014, IARC).

La cellule cancéreuse a illustré de nombreuses capacités plus différentes d'une cellule normale. Bien que le «cancer» comprenne un groupe hétérogène de maladies, une caractéristique et unificateur est la création de cellules anormales qui dépassent leurs limites naturelles. En 2000, Hanahan et Weinberg ont proposé six caractéristiques du cancer qui, ensemble, forment le principe fondamental de cette transformation maligne. (Soutenir la signalisation proliférative, Échappement au suppresseur de tumeur, Résistance à la mort cellulaire, Capacité d'invasion et de migration, Induction de l'angiogenèse)(Hanahan and Weinberg, 2000)

Le cancer colorectal (CRC) est l'un des tumeur maligne considéré comme étant le troisième néoplasme le plus fréquent dans le monde avec 1,4 million de cas diagnostiqués en 2012, et la deuxième malignité comme cause de mortalités (Ferlay *et al.*, 2015).

Le foie est reconnu comme le site le plus fréquent de métastases du CCR car la majeure partie du drainage intestinal mésentérique pénètre dans le système veineux hépatique. Plus de 50% des patients atteints de CCR développeront une métastatique hépatique au cours de leur vie, ce qui entraînera finalement la mort de plus de deux tiers de ces patients. (Palaghia *et al.*, 2014).

L'immunosurveillance ou l'immunoediting et l'un des méthodes de défense de l'hôte contre la tumeur théoriquement mais en réalité, Un travail approfondi au cours des 17 dernières années a révélé que cette fonction de surveillance de l'immunité n'était qu'une partie de l'histoire et a marqué l'initiation du concept en soi, l'immunoediting pour décrire plus précisément les nombreuses parties du système immunitaire. L'immunoediting un processus dynamique, dans lequel le système immunitaire protège non seulement contre le développement du cancer, mais aussi le caractère des tumeurs émergentes, se composant de trois phases (l'élimination, l'équilibre et l'évasion) autrement dit les trois E (Mittal *et al.*, 2014).

Des études ont montré récemment que le globule rouge, l'un des cellules les plus abondantes dans les vaisseaux sanguins, a des effets sur l'immunité anti tumorale que ça soit pour booster la réponse immunitaire ou améliorer l'efficacité des cellules immunitaires en prenant en considération l'âge des globules rouges et ses conséquences sur l'efficacité de ce dernier.

Le glucose est l'un des molécules les plus importantes pour fournir à la cellule de l'énergie en forme d'ATP, la glycolyse dans une cellule normale passe sous deux phases premières glycolyse indépendante à l'oxygène (anaérobie) résultent en la production de 2 ATP (se fait au niveau du cytoplasme) (Levine and Puzio-Kuter, 2010). Une deuxième glycolyse plus longue que l'a premier dépendante de l'oxygène (aérobie) se fait au niveau de la mitochondrie, résulte en la formation de 48 ATP (Shlomi *et al.*, 2011, Hermsen *et al.*, 2015). Les cellules tumorale dépende de l'énergie pour proliférais plus rapidement, c pour cela elle lyse le glucose mais modifie leur métabolisme de glycolyse (L'effet Warburg). Seule la première phase de glycolyse chez les cellules tumorales et réalisée cela l'aide a formée plus rapidement de l'ATP et indépendamment de l'oxygène (Boerner *et al.*, 1985, Hiraki *et al.*, 1988).

Notre étude cherche a trouvée l'effet du globule rouge sur le glucose le calcium dan l'immunité anti tumoral. Cela en prenant en compte les différents âges du globule rouge. Cette étude prend en considération aussi les taux de prolifération des cellules tumorales les PBMC en co-culture avec diffèrent fraction d'âge de globules rouges.

1.1. Généralité sur Le cancer

Le cancer solide appelé aussi tumeur maligne est une maladie caractérisée par une prolifération cellulaire anormalement due à des mutations ou instabilité génétique d'une cellule initialement normale. (Hanahan and Weinberg, 2000)

La majorité des cancers prennent plusieurs années à se former et peuvent apparaître à tout âge. (Jemal *et al.*, 2007)

Les produits cancérigènes tels que les produits chimiques mitogènes, l'exposition à des rayons ultraviolets(UV) peuvent affecter la cellule en causant de nombreuses lésions au génome. L'effet n'est pas direct sur l'ADN mais par le biais de différents mécanismes, par exemple, les espèces actives de l'oxygène (ROS) générées par un stress oxydatif. Il existe des virus capables d'induire le cancer, ils introduisent leurs génomes viraux (oncogènes) à l'intérieur du génome cellulaire provoquant une division cellulaire incontrôlée. Par contre la cellule, elle-même, a des gènes anti tumoraux ce qui veut dire que la cellule a la capacité de contrer sa transformation en cancer. La mort par apoptose est une des techniques qu'utilise la cellule pour empêcher sa transformation (Tubiana, 2008).

1.1.1. Les caractéristiques des cellules tumorales.

La cellule cancéreuse a démontré de nombreuses capacités plus différentes qu'une cellule normale. Bien que le «cancer» comprend un groupe hétérogène de maladies, une caractéristique unificatrice est la création de cellules anormales qui dépassent leurs limites naturelles. En 2000, Hanahan et Weinberg ont proposé six caractéristiques du cancer qui, ensemble, forment le principe fondamental de cette transformation maligne. (Soutenir la signalisation proliférative, Échappement au suppresseur de tumeur, Résistance à la mort cellulaire, Capacité d'invasion et de migration et Induction de l'angiogenèse..)(Hanahan and Weinberg, 2000)

1.1.1.1 Soutenir la signalisation proliférative.

Une des plus importantes caractéristiques est la prolifération chronique. Cette dernière a tendance à se multiplier constamment et en absence de facteur de croissance externe, les dérégulations aux niveaux des cascades de signalisation donnent aux cellules tumorales cette capacité d'indépendance aux stimuli, elle peut donc induire le signal de prolifération sans arrêt. (Hanahan and Weinberg, 2000)

1.1.1.2. Échappement au suppresseur de tumeur.

De nombreux gènes codant pour les protéines suppresseurs de tumeurs existent pour inhiber la croissance et la prolifération cellulaire, p.ex. P53, pRb, qui empêchent la réplication de gènes endommagés et dirigent la cellule en voie **de mort**. Cependant la cellule tumorale a acquis des capacités pour déjouer les signaux de suppression des tumeurs ; Effectivement divers cellules tumorales perdent complètement leurs gènes anti tumoraux ou des mutations peuvent toucher ces gènes et inhiber leurs fonctions. Ce qui pourrait aider à déjouer les signaux suppresseurs de tumeur.

1.1.1.3. Résistance à la mort cellulaire.

Contrairement aux cellules normales qui ont un nombre limité de divisions cellulaires, les cellules tumorales ont une capacité à se multiplier sans arrêt et devenir pratiquement immortelles. Par contre, Les cellules normales, après un nombre de cycles cellulaires déterminés, arrêtent leur multiplication et s'orientent vers une voie de senescence. (Shay and Wright, 2000) Cela est du aux télomères, des séquences d'ADN composées de répétitions multiples de "TTAGGG", ces dernier se trouve aux extrémités des chromosomes et les protèges des fusions de bout en bout. Cependant ils raccourcissent après chaque division, ce qui mène la cellule à une voie de senescence. (Blasco, 2005) Par ailleurs les cancers humains expriment une enzyme spécialisée, appelée télomérase, qui peut ajouter des répétitions télomériques à la fin des chromosomes. (Shay and Bacchetti, 1997)

1.1.1.4. Capacité d'invasion et de migration.

La quatrième caractéristique des cellules tumorales est la capacité d'envahir et de former des métastases éloignées. Cette caractéristique sous-tend une multitude d'interactions complexes et de mécanismes de régulation très difficile. Il a été noté il y a des décennies que les carcinomes épithéliaux de grade supérieur présentent un phénotype plus invasif et des métastases à distance et la plupart des patients meurent de ces métastases et non de la tumeur primaire. Souvent, les cellules cancéreuses subissent des altérations morphologiques ou matricielles et modifient leurs interactions cellule-cellule. Tout cela leur permet de franchir avec succès les premières étapes du processus d'invasion et de métastase à plusieurs étapes. Cette cascade d'invasion-métastase comprend des changements biologiques multiples qui permettent aux cellules cancéreuses d'envahir des tissus sains, suivies d'une injection intravasculaire dans le sang et des vaisseaux lymphatiques. Pendant leur transit par le système lymphatique et la circulation sanguine, les

cellules cancéreuses doivent échapper à la surveillance immunitaire et montrer une croissance et une survie indépendantes de l'ancrage. Ensuite, les cellules cancéreuses doivent être extravasées à partir des vaisseaux dans leurs tissus cibles pour former des micros métastases et éventuellement plus tard donner une tumeur secondaire.

1.1.1.5. Induction de l'angiogénèse.

Après échappement, la cellule tumorale a tendance à coloniser les tissus et à croître sans arrêt pour sa elle a besoin de nutriment et d'oxygène et d'éliminée tous les déchéé cellulaire. Les tumeurs favorisent la vascularisation générée par un processus d'angiogénèse (Hanahan and Folkman, 1996), cela aboutie à la formation de nouveaux vaisseaux sanguin ou élongation d'autre déjà existante. Les processus de vasculogénèse et d'angiogénèse sont habituellement limités au développement embryonnaire, mais peuvent être réactivés dans des conditions spécifiques chez les adultes. Par exemple, l'angiogénèse est un processus important dans la cicatrisation des plaies et le cycle reproducteur féminin. Un «interrupteur angiogénique» est également activé pendant la progression de la tumeur (Gutschner and Diederichs, 2012), Ce qui conduit à la formation continue de nouveaux vaisseaux qui aident à soutenir la croissance tumorale. (Hanahan and Folkman, 1996)

1.1.1.6. Résistance à la mort cellulaire.

les cellules tumorales ont acquis une capacité à résister à la mort cellulaire et a déjouer les voies de signalisation induisant une mort cellulaire programmée (Lowe *et al.*, 2004), effectivement plus de 50% des cellules tumorales perdent leurs gènes anti tumoraux ou subissent des mutations, cela les rend plus résistantes et leur acquièrent l'immortalité cellulaire. (Hollstein *et al.*, 1991, Gutschner and Diederichs, 2012)

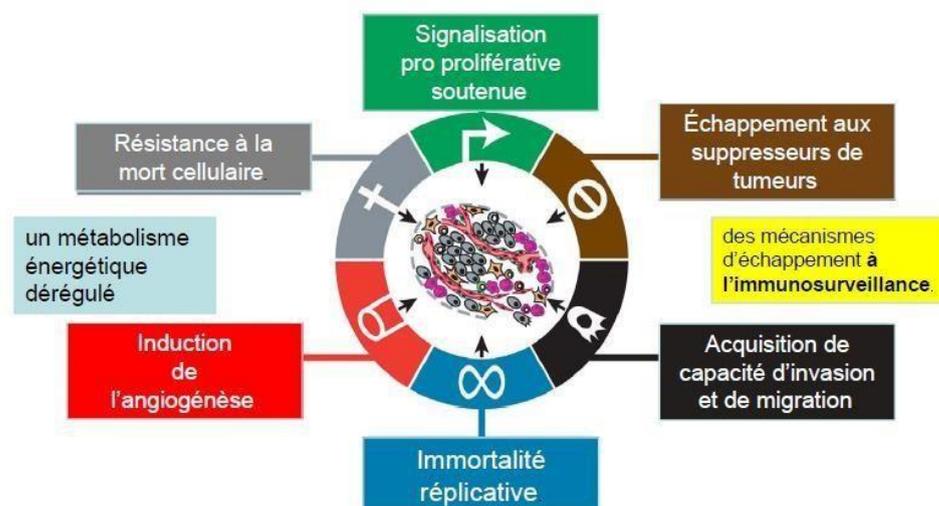


Figure 1.1 Caractéristiques des cellules tumorales (Hanahan and Weinberg, 2000)

1.2. Le cancer colorectal.

Le cancer colorectal (CCR) est actuellement considéré comme étant le troisième néoplasme le plus fréquent dans le monde 1,4 million de cas diagnostiqués en 2012, et la deuxième malignité comme cause de mortalités (Ferlay *et al.*, 2015). Les pays ayant les taux d'incidence les plus élevés sont l'Australie, la Nouvelle-Zélande, le Canada, les États-Unis et certaines parties de l'Europe. Les pays les plus pauvres incluent la Chine, l'Inde et certaines régions d'Afrique et d'Amérique du Sud (Boyle and Langman, 2000). Le terme cancer colorectal se réfère à un cancer qui se développe lentement, il débute étant une croissance tumorale ou tissulaire sur le revêtement intérieur du rectum ou du côlon. Si cette croissance anormale, connue sous le nom de polype, devient cancéreuse, elle peut former une tumeur sur la paroi du rectum ou du côlon, puis elle se développe dans les vaisseaux sanguins ou les vaisseaux lymphatiques, ce qui augmente les chances de métastase vers d'autres sites anatomiques. (Valastyan and Weinberg, 2011, Marley and Nan, 2016.)

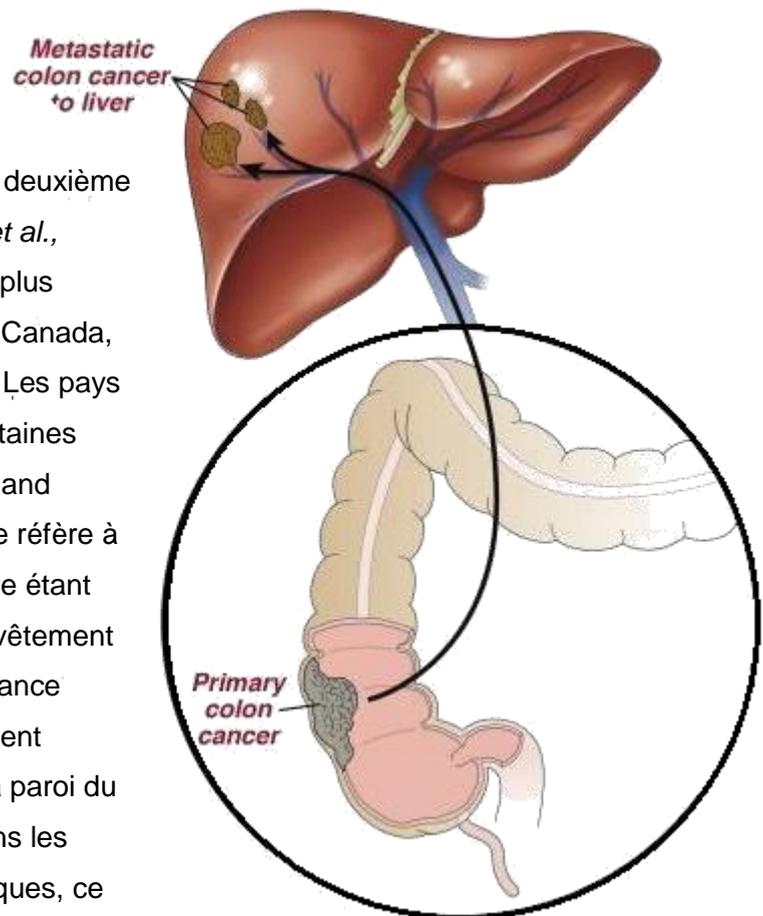


Figure 1.2 représentation schématique d'un cancer colorectale primaire et de sa métastase au niveau de l'hépatite. (Zarour *et al.*, 2017)

Le foie est reconnu comme le site le plus fréquent de métastases du CCR car la majeure partie du drainage intestinal mésentérique pénètre dans le système veineux hépatique. Plus de 50% des patients atteints de CCR développeront une métastase hépatique au cours de leur vie, ce qui entraînera finalement la mort de plus de deux tiers de ces patients. (Palaghia *et al.*, 2014)

1.2.1. Facteurs de risques.

La forte teneur en calorie et en gras, un régime alimentaire basé sur les viandes, l'obésité en générale, augmente le risque de formation d'un CRC. L'hypothèse est alors que la graisse alimentaire, par son influence sur la flore bactérienne, a un effet sur la pathogenèse du cancer du côlon. La consommation d'alcool et le tabagisme augmentent également les risques de cancer colorectal. (Botteri *et al.*, 2008, Pelucchi *et al.*, 2011) La recherche a depuis révélé que, par rapport aux buveurs non occasionnels, les personnes

qui consomment au moins 4 boissons par jour courent 52% de risque accru de développer cette maladie (Pelucchi *et al.*, 2011). Sur le plan mécanique, ce processus cancérogène peut refléter l'impact de l'alcool sur la synthèse des acides folique, Étant donné que ce dernier est nécessaire pour la synthèse et la réparation de l'ADN, La carence en folate peut entraîner une rupture des chromosomes, déséquilibres subit a l'ADN, qui peuvent tous contribuer à la carcinogènèse (Duthie, 1999, Giovannucci, 2001). En ce qui concerne la cigarette, la recherche a révélé que la fumée du tabac augmente de manière significative l'incidence et la mortalité du cancer colorectal et a été associée à une augmentation de deux fois à trois fois plus de risque de développer un adénome colorectal (Botteri *et al.*, 2008) . Ceci est dû à la capacité du système gastro-intestinal et circulatoire à répandre les cancérogènes de la cigarette dans la muqueuse colorectale, en augmentant le risque d'inflammation, de mutagenèse et de carcinogènèse (Harris, 2016).

En plus des facteurs de risque environnementaux ci-dessus, les taux sanguins élevés d'insuline, l'inflammation gastro-intestinale et certaines méthodes de cuisson de la viande peuvent également augmenter le risque de carcinogènèse colorectale (Harris, 2016).

1.3. Cancer et immunité.

1.3.1. Le concept de l'immunosurveillance et l'immunoediting.

La théorie de l'immunosurveillance a été invoquée dans les années 1960 (Burnet, 1970). Elle a déterminé la capacité d'identifier et de détruire les tumeurs naissantes comme un atout central du système immunitaire, Les cellules néoplasique naissante peuvent initialement être détruite par une réponse immunitaire innée telle que les cellules tueuses naturelles (NK) ou adaptative par les lymphocytes T cytotoxique (LTc) (Herberman and Holden, 1978). Jusqu'à que sa changée quand des expériences sur des souris présentant une immunodéficiences complètes des lymphocytes T et B sont plus sujettes à la carcinogènèse contrairement aux souris sauvages. Des défauts génétiques supplémentaires affectant les réponses immunitaires innées augmentent le risque de tumeurs plus agressives et précoce (Shankaran *et al.*, 2001). D'où la naissance de la théorie de l'immunoediting,

Un travail approfondi au cours des 17 dernières années a révélé que cette fonction de surveillance de l'immunité n'était qu'une partie de l'histoire et a marqué l'initiation du concept en soi, l'immunoediting pour décrire plus précisément les nombreuses parties du système immunitaire. L'immunoediting un processus dynamique, dans lequel le système immunitaire protège non seulement contre le développement du cancer, mais aussi le caractère des tumeurs émergentes, se composant de trois phases (l'élimination, l'équilibre et l'évasion) autrement dit les trois E (Mittal *et al.*, 2014).

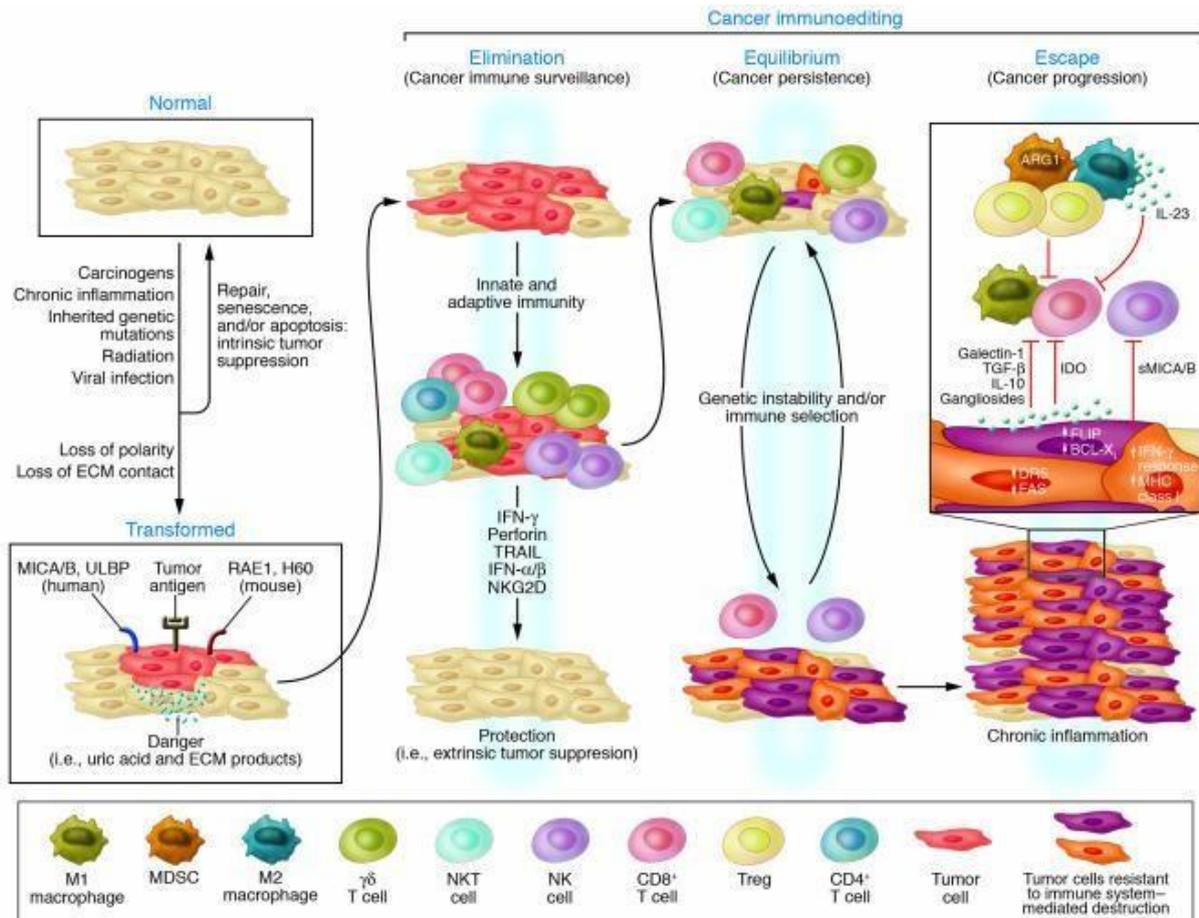


Figure1.3 : schéma qui résume les différentes étapes de l'immunoediting (Mittal *et al.*,

1.3.1.1. L'élimination.

L'élimination est une phase d'immunoediting du cancer où le système immunitaire inné et adaptatif ensemble détecte et détruit les tumeurs précoces avant de devenir cliniquement visibles (Vesely *et al.*, 2011). Les cellules normales sont transformées en cellules tumorales par des agents cancérigènes et d'autres facteurs génotoxiques ainsi que par l'échec des mécanismes intrinsèques de suppression des tumeurs (p53, ATM) (Hollstein *et al.*, 1991). Ces cellules tumorales expriment des molécules induites par le stress telles que la calréticuline de surface (joue un rôle important dans la prolifération cellulaire,

l'apoptose et les réponses immunitaires.) (Hanahan and Folkman, 1996), les antigènes tumoraux dans le contexte des molécules CMH de classe I et / ou des ligands NKG2D reconnus par des cellules effectrices CD8⁺ et des cellules NK, respectivement. Les cellules dendritiques(DC) peuvent également absorber et présenter des antigènes tumoraux présents dans des cellules T, y compris des cellules NKT (présentation d'antigène lipidique via CD1d). Ces cellules effectrices activées libèrent IFN- γ qui peut médier les effets anti tumoraux en inhibant la prolifération des cellules tumorales et l'angiogénèse (Diamond *et al.*, 2011).

Les cellules T CD8⁺ peuvent induire une apoptose des cellules tumorales en interagissant avec les récepteurs Fas et TRAIL sur les cellules tumorales, ou en sécrétant la perforine et les granzymes. Les cellules Effectrices T expriment des molécules co-stimulatrices telles que CD28, CD137, GITR, OX40 qui augmente leur prolifération et leur survie. (Fuertes *et al.*, 2011)

Les cellules T $\gamma\delta$ peuvent également reconnaître et tuer les tumeurs exprimant les ligands NKG2D (MIC-A/B chez l'homme). Les cellules immunitaires innées telles que les macrophages (M1) et les granulocytes contribuent également à l'immunité anti-tumorale en sécrétant TNF- α , IL-1, IL-12 et ROS. Dans la phase d'élimination, l'équilibre vire vers l'immunité anti-tumorale due à une augmentation de l'expression des antigènes tumoraux, du

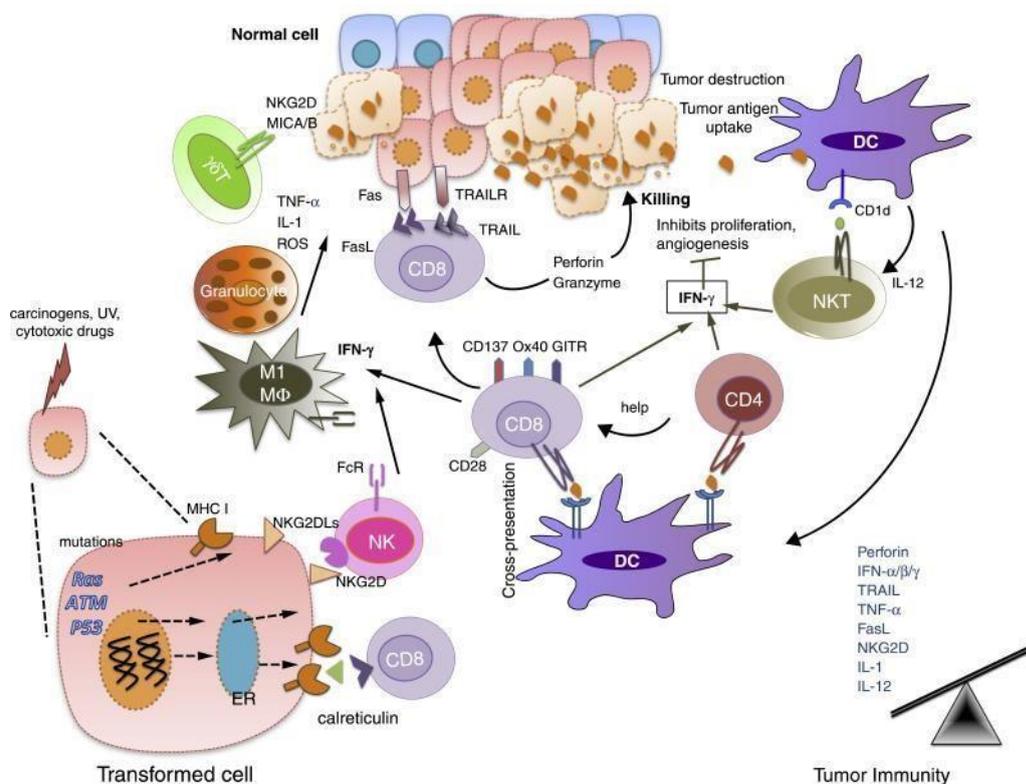


Figure1.4 différent mode d'élimination des tumeurs par le système immunitaire (Mittal *et al.*, 2014)

CMH de classe I, du récepteur Fas et TRAIL sur les cellules tumorales et de la perforine (Mittal *et al.*, 2014).

1.3.1.2. Phase D'équilibre entre les tumeurs et le système immunitaire.

Dans la phase d'équilibrage de l'immunoediting du cancer, le système immunitaire maintient la tumeur dans un état de dormance fonctionnelle (Koebel *et al.*, 2007). Certaines cellules tumorales subissent des modifications génétiques et épigénétiques et, en raison de la pression immunitaire constante, des variantes de cellules tumorales évoluent en résistant à la reconnaissance immunitaire (perte d'antigène ou défauts dans la présentation de l'antigène) et induisent une immunosuppression (PDL1) (Rabinovich *et al.*, 2007) (McDermott and Atkins, 2013). La phase d'équilibre est un équilibre entre les cytokines anti-tumorales (IL-12, IFN- γ) et les promoteurs de tumeurs (IL-10, IL-23). Le système immunitaire adaptatif est nécessaire pour maintenir la tumeur dans un état fonctionnellement dormant, tandis que

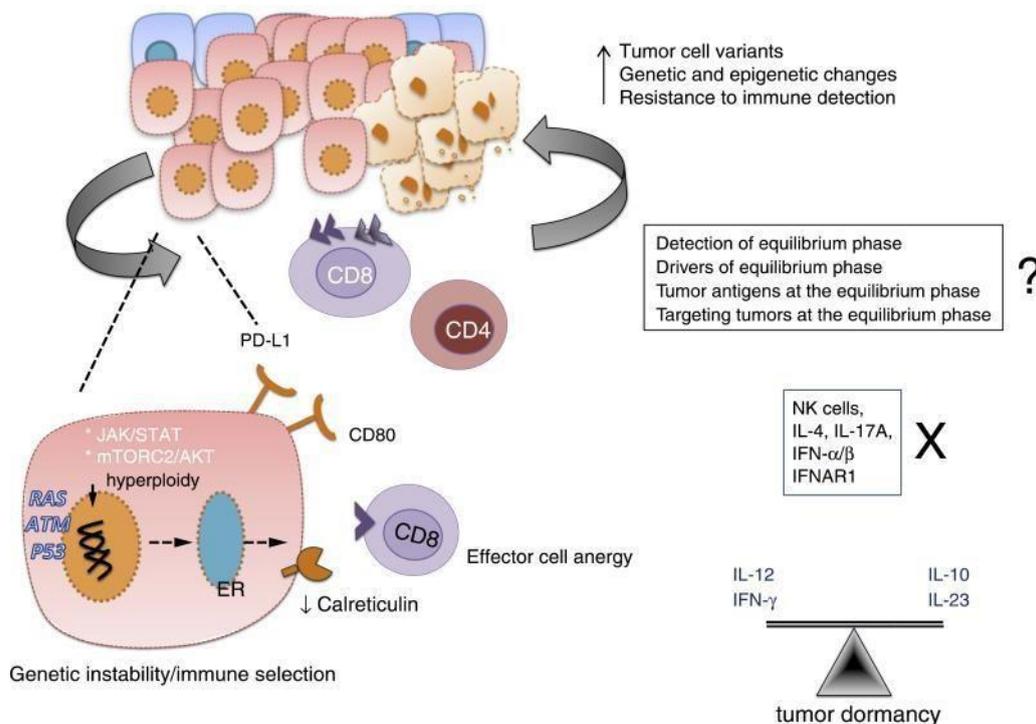


Figure1.5 schéma représentent la phase d'équilibre dans l'immunoediting du cancer (Mittal *et al.*, 2014). les cellules NK et les cytokines telles que IL-4, IL-17A et IFN- α/β sont dispensables (Wu *et al.*, 2013).

1.3.1.3. Phase d'échappement.

Au cours de la phase d'Évasion de l'immunoediting du cancer, le système immunitaire ne parvient pas à restreindre la prolifération tumorale et les cellules tumorales émergentes provoquant une maladie cliniquement apparente (Dunn *et al.*, 2004). Dans cette phase, les cellules tumorales évitent la reconnaissance immunitaire (perte d'antigènes tumoraux, CMH

de classe I ou molécules co-stimulatrices), expriment des molécules de résistance accrue (STAT-3), de survie (molécule anti-apoptotique bcl2) et d'immunosuppression (PD-L1, récepteurs d'adénosine) et sécrètent des cytokines, TGF- β , IL-6, M-CSF qui améliorent l'angiogénèse. En outre, les macrophages M2 et les DC peuvent également exprimer des molécules immunorégulatrices telles que l'arginase, l'iNOS et sécrètent des cytokines immunosuppressives IL-10 et TGF- β qui peuvent inhiber la prolifération de CD8⁺ ou provoquer une apoptose.

Les lymphocytes T, y compris les Tregs, peuvent exprimer des récepteurs inhibiteurs tels que PD-1, CTLA-4, Tim-3 et LAG-3 qui suppriment la réponse immunitaire anti-tumorale et favorisent la prolifération tumorale. Dans la phase d'Évasion, l'équilibre est virée vers la progression de la tumeur en raison de la présence de cytokines immunosuppressives et de molécules telles que IL-10, TGF- β , VEGF, PD-L1. CD39 et CD73 sont des enzymes immunorégulatrices (Beavis et al., 2012) (Dunn et al., 2004) (Vesely et al., 2011).

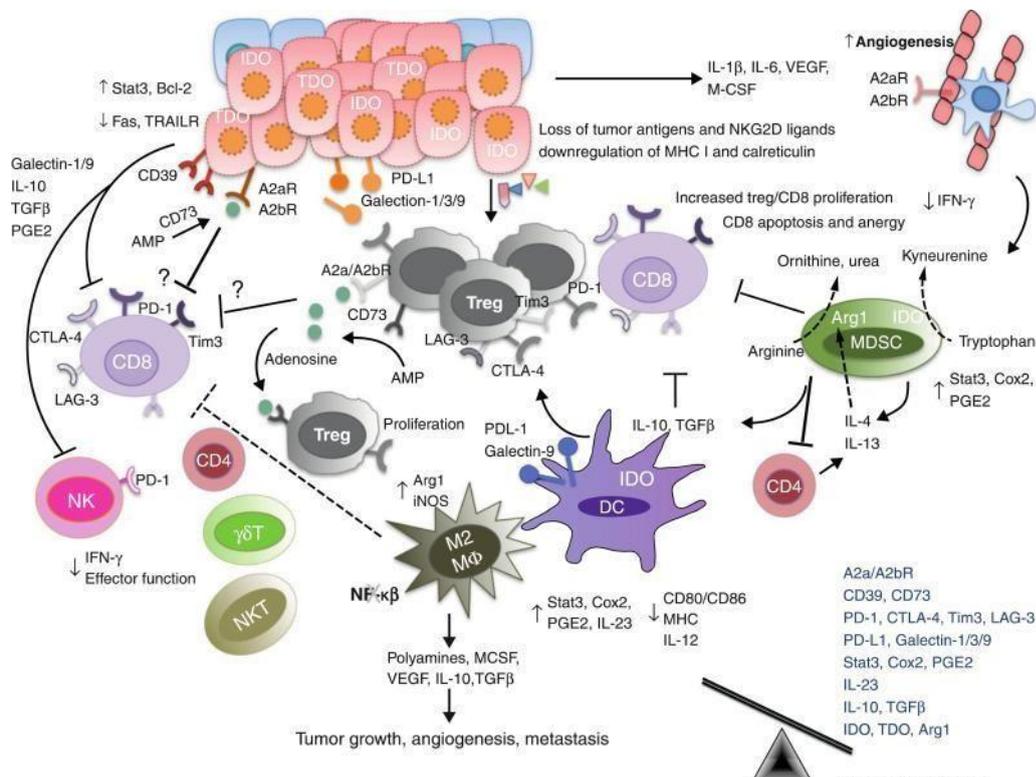


Figure1.65 : mécanisme d'échappement tumorale a l'immunité (Mittal et al., 2014).

1.4. Globule rouge et immunité anti tumorale.

1.4.1. Le globule rouge.

Les érythrocytes, communément appelés globules rouges (GR), sont les éléments cellulaires du sang qui remplissent la fonction unique d'assurer une bonne délivrance

d'oxygène aux tissus (Gonzales *et al.*, 1984). Le volume sanguin moyen pour un adulte est de 5 litres (55-75 mL / Kg de poids corporel) et le sang contient environ 10^9 globules rouges par millilitre. Les globules rouges ne contiennent généralement pas de noyau et ne peuvent pas proliférer (Migliaccio, 2010). Ils ont une durée de vie limitée (~ 120 jours chez l'homme) et sont reconstitués par la génération constante de nouvelles cellules à partir de compartiments de cellules souches progénitrices hématopoïétiques (Knutson and Wessling-Resnick, 2003). Le processus de l'érythropoïèse comprend deux phases: Une première phase d'engagement dans laquelle les cellules souches progénitrices sont induites par des facteurs extrinsèques (facteurs de croissance) et intrinsèques (facteurs de transcription) pour développer et activer les programmes de différenciation et une deuxième phase de maturation dans laquelle la première cellule érythroïde morphologiquement reconnaissable (la Pro-érythroblaste) devient incapable de proliférer et subit des altérations cytoplasmiques et nucléaires. La maturation cytoplasmique comprend la perte de mitochondrie, la réduction du nombre de ribosomes et la réorganisation de la structure du microfilament et est médiée par le programme autophagique, une voie de protéolyse dépendante des protéines développée par les cellules eucaryotes pour survivre à la famine (mais qui peut entraîner la mort) (Migliaccio, 2010b).

1.4.2. Implications du globule rouge dans l'immunité.

Etant en contact permanent avec les autres cellules immunitaire du sang, son implication au system immunitaire ne peut être négligée. Effectivement Nelson a constaté que l'hématie pourrait avoir un rôle dans l'amélioration de l'action des cellules phagocyté le macrophage plus spécifiquement (Nelson, 1953). Les globules rouges présentent des agents pathogènes aux phagocytes et favorisent leur élimination par les macrophages lorsqu'ils adhèrent à eux. Le globule rouge pourrait également induire la sécrétion de cytokines ou de molécules marqueurs spéciales et régulent ainsi la réponse immunitaire (Duthie, 1999, Yu *et al.*, 2014).

Des études récentes ont démontré une amélioration de l'expansion clonale de lymphocytes T en présence de globule rouges La caractérisation phénotypique des cellules T a révélé que, en présence de globules rouges, les cellules en expansion étaient préférentiellement des cellules CD8+ (Porto *et al.*, 2001). Une autre étude avec des globules rouges de moutons (GRM) a démontré aussi une amélioration de prolifération de cellule T activait avec des antigènes, l'effet n'a pas touché les lymphocytes T en repos, seul le LT activé a montré une prolifération améliorée.

1.4.3. Effet de vieillesse sur le globule rouge.

Comme toute autre cellule le globule rouge vieillie au cours du temps subissant différent changement métabolique structurel et fonctionnel (Antonelou *et al.*, 2010), Le vieillissement de la RBC comprend des changements dans de nombreuses propriétés: diminution de l'activité métabolique, altérations morphologiques, y compris la diminution du volume cellulaire et les changements de forme de la cellule, ainsi que des modulations quantitatives et qualitatives de la surface (Bratosin *et al.*, 1998). Les modulations de surface comprennent l'exposition externe de la phosphatidylsérine membranaire (PS), la fluidité de la membrane diminuée, la diminution des niveaux d'acide sialique et CD47 et la liaison des immunoglobulines et des opsonines autologues (Bratosin *et al.*, 1998, Oldenburg *et al.*, 2000, Pantaleo *et al.*, 2008). En outre, Les RBC sont naturellement endommagés par l'oxydation au cours du vieillissement et un certain nombre de modifications moléculaires induites par un stress oxydatif telles que l'extériorisation du PS ont été observées dans le sRBC (Bratosin *et al.*, 1998, Pantaleo *et al.*, 2008). Ses modification pourraient avoir un effet sur les différents rôles du globule rouge aux différents âges de ce dernier.

1.5. Le Glucose.

1.5.1. L'effet Warburg.

1.5.1.1. Historique.

Dans les années 1920, Otto Warburg et ses collègues ont fait observer que les tumeurs prenaient d'énormes quantités de glucose par rapport à ce qui était observé dans le tissu environnant. En outre, le glucose a été fermenté pour produire du lactate même en présence d'oxygène, donc le terme glycolyse aérobie (Warburg, 1925). Cependant, on a également noté que la respiration seule pouvait maintenir la viabilité tumorale. Par conséquent, il a été conclu que, pour tuer les cellules tumorales en les privant d'énergie, le glucose et l'oxygène devaient être éliminés (Warburg *et al.*, 1927). Par la suite, en 1929, un biochimiste anglais, Herbert Crabtree, a étendu le travail de Warburg et a étudié l'hétérogénéité de la glycolyse dans les types de tumeurs. Il a confirmé les constatations de Warburg, Mais a encore découvert que l'ampleur de la respiration dans les tumeurs était variable avec de nombreuses tumeurs présentant une quantité importante de respiration (Crabtree, 1929). Par conséquent, Crabtree a conclu que non seulement les cellules tumorales présentent une glycolyse aérobie, mais qu'il existe également une variabilité de la fermentation vraisemblablement due à des influences environnementales ou génétiques.

Contrairement aux résultats de ces travaux antérieurs et pour des raisons qui ne sont pas claires, Warburg a ensuite proposé que les mitochondries dysfonctionnelles soient la racine de la glycolyse aérobie (Warburg, 1956). Warburg a encore émis l'hypothèse que cet événement est la principale cause du cancer. Ce phénomène a été appelé « l'effet

Warburg » au début des années 1970 par Efraim Racker, qui a également souligné que les données antérieures montrent une capacité respiratoire des tumeurs. Racker a développé, quant à lui, ses propres théories sur les origines de l'effet Warburg allant des déséquilibres du pH intracellulaire aux défauts de l'activité ATPase (Racker, 1972). Plus tard, il a été observé par Racker, Jeffrey Flier et Morris Birnbaum que la glycolyse aérobie était un processus contrôlable qui peut être directement réglementé par la signalisation du facteur de croissance. À ce moment, La découverte d'oncogènes a conduit à la conclusion que la régulation aberrante de la signalisation du facteur de croissance est un événement initiateur de l'oncogenèse. Ainsi, leurs observations ont apporté une nouvelle importance à l'hypothèse de Warburg dans la biologie du cancer (Boerner *et al.*, 1985, Hiraki *et al.*, 1988). Néanmoins, il n'est pas encore clair si l'effet Warburg était un spectateur de la pathogenèse du cancer jusqu'à plus récemment, lorsque les études génétiques et pharmacologiques ont démontré de façon concluante que l'effet Warburg était requis pour la croissance tumorale (Shim *et al.*, 1998, Fantin *et al.*, 2006). En revenant aux résultats originaux sur le métabolisme tumoral, il est maintenant évident que le ciblage à la fois de la glycolyse aérobie et du métabolisme mitochondrial peut être nécessaire (Viale *et al.*, 2014, Birsoy *et al.*, 2015). Tout au long de cette histoire, Ses fonctions sont demeurées controversées. Ici, nous discutons plusieurs des principales propositions et soutiennent que les fonctions de l'effet Warburg pour la croissance de la tumeur demeurent aujourd'hui encore inconnues.

1.1.5.2. Métabolisme.

En présence d'oxygène, les cellules normales métabolisent d'abord le glucose vers le pyruvate via la glycolyse puis oxydent complètement la majeure partie du pyruvate dans les mitochondries en CO_2 lors du processus de phosphorylation oxydante (Levine and Puzio-Kuter, 2010).

Étant donné que l'oxygène est nécessaire en tant qu'accepteur d'électrons final pour oxyder complètement le glucose, l'oxygène est essentiel pour ce processus. Lorsque l'oxygène est limitatif, les cellules peuvent réorienter le pyruvate généré par la glycolyse loin de la phosphorylation oxydante mitochondriale en générant du lactate (glycolyse anaérobie). (Shlomi *et al.*, 2011, Hermsen *et al.*, 2015).

Cette génération de lactate pendant la glycolyse anaérobie permet à la glycolyse de continuer (en boucle du NADH à NAD^+), mais les résultats dans la production d'ATP et minime par rapport à la phosphorylation oxydative. Warburg a observé que les cellules cancéreuses tendent à convertir la plupart du glucose en lactate, que l'oxygène soit ou non présent (glycolyse aérobie). Cette propriété est partagée par des tissus prolifératifs

normaux. Les mitochondries restent fonctionnelles et une certaine phosphorylation oxydante se poursuit dans les cellules cancéreuses. Néanmoins, la glycolyse aérobie est moins efficace que la phosphorylation oxydante pour générer de l'ATP. Dans les cellules tumorales, 10% du glucose est détourné vers des voies de biosynthèse en amont de la production de pyruvate. (Liberti and Locasale, 2016)

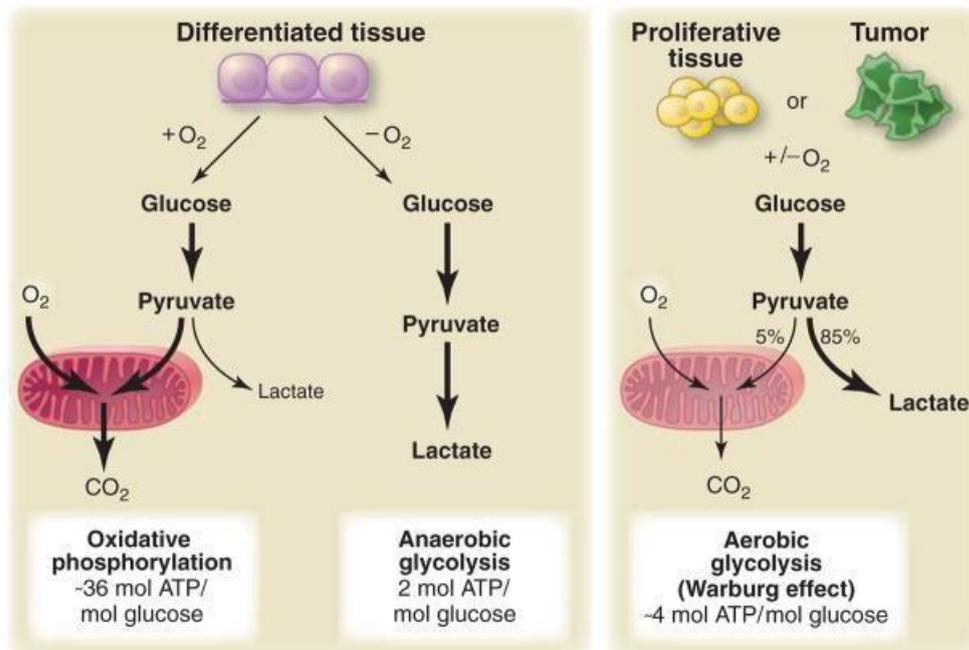


Figure1.7 : Représentation schématique des différences entre la phosphorylation oxydante, la glycolyse anaérobie et la glycolyse aérobie (effet Warburg). (Vander Heiden et al., 2009)

1.6. Le calcium.

Le calcium est un élément de transduction du signal essentiel impliqué dans la régulation de nombreuses fonctions cellulaires eucaryotes, y compris la progression du cycle cellulaire (Mariot et al., 2002). Le contrôle du Ca^{2+} intracellulaire est crucial pour la progression ordonnée du cycle cellulaire et joue un rôle essentiel dans la régulation de la prolifération cellulaire et de la croissance (Ciapa et al., 1994); Cependant, un excès de calcium ou une perte de contrôle dans la signalisation calcique peut conduire à la mort cellulaire (Choi, 1987). Par conséquent, un contrôle minutieux de la signalisation du calcium est nécessaire pour la survie cellulaire. Lors de la stimulation, la concentration de calcium intracellulaire peut augmenter considérablement, atteignant souvent des quantités micromolaires. Cette augmentation du calcium cytoplasmique peut se produire par la libération des magasins intracellulaires ou l'afflux par une variété de canaux ioniques à membrane plasmatique. Les canaux de Ca^{2+} à gradation de tension et à ligand dans la

membrane plasmique, ainsi que les récepteurs de ryanodine (RynR) et les récepteurs d'inositol triphosphate (InsP3R) dans les magasins de calcium intracellulaires, fournissent des flux de Ca^{2+} au cytoplasme. La force motrice pour l'entrée du calcium est le résultat d'un gradient électrochimique entre la concentration extracellulaire de calcium et la concentration intracellulaire.

Les cellules cancéreuses utilisent les mêmes canaux calciques, les pompes et les échangeurs que les cellules non malignes. Cependant, il existe souvent des modifications importantes dans les cellules cancéreuses, de tels changements peuvent inclure l'expression de canaux ou de pompes calciques (ou leurs isoformes spécifiques) qui ne sont pas normalement présents dans des cellules non malignes du même type de cellules, des changements prononcés dans le niveau d'expression, modifiés La localisation cellulaire, l'activité altérée par des changements dans la modification post-traductionnelle, les mutations génétiques et les changements d'activité ou d'expression associés à des processus spécifiques liés au cancer. Ces changements se reflètent souvent dans les altérations du flux de Ca^{2+} à travers la membrane plasmique ou à travers les organites intracellulaire. (Bose et al., 2015).

Bibliographies.

A

Antonelou, M.H., Kriebardis, A.G., and Papassideri, I.S. (2010). Aging and death signalling in mature red cells: from basic science to transfusion practice. *Blood Transfus.* 8, s39–s47.

B

Beavis, P.A., Stagg, J., Darcy, P.K., and Smyth, M.J. (2012). CD73: a potent suppressor of antitumor immune responses. *Trends Immunol.* 33, 231–237.

Birsoy, K., Wang, T., Chen, W.W., Freinkman, E., Abu-Remaileh, M., and Sabatini, D.M. (2015). An Essential Role of the Mitochondrial Electron Transport Chain in Cell Proliferation Is to Enable Aspartate Synthesis. *Cell* 162, 540–551.

Blasco, M.A. (2005). Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. *Nat. Rev. Genet.* 6, 611–622.

Boerner, P., Resnick, R.J., and Racker, E. (1985). Stimulation of glycolysis and amino acid uptake in NRK-49F cells by transforming growth factor beta and epidermal growth factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 82, 1350–1353.

Bosch, F. H., J. M. Werre, B. Roerdinkholder-Stoelwinder, T. H. Huls, F. L. Willekens, and M. R. Halie. 1992. "Characteristics of Red Blood Cell Populations Fractionated with a Combination of Counterflow Centrifugation and Percoll Separation." *Blood* 79 (1): 254–60.

Bose, T., Cieślak-Pobuda, A., and Wiechec, E. (2015). Role of ion channels in regulating Ca²⁺ homeostasis during the interplay between immune and cancer cells. *Cell Death Dis.* 6, e1648.

Botteri, E., Iodice, S., Bagnardi, V., Raimondi, S., Lowenfels, A.B., and Maisonneuve, P. (2008). Smoking and colorectal cancer: a meta-analysis. *JAMA* 300, 2765–2778.

Boyle, P., and Langman, J.S. (2000). ABC of colorectal cancer: Epidemiology. *BMJ* 321, 805–808.

Bratosin, D., Mazurier, J., Tissier, J.P., Estaquier, J., Huart, J.J., Ameisen, J.C., Aminoff, D., and Montreuil, J. (1998). Cellular and molecular mechanisms of senescent erythrocyte phagocytosis by macrophages. A review. *Biochimie* 80, 173–195.

Burnet, F.M. (1970). The concept of immunological surveillance. *Prog. Exp. Tumor Res.* 13, 1–27.

C

Choi, D.W. (1987). Ionic dependence of glutamate neurotoxicity. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 7, 369–379.

Ciapa, B., Pesando, D., Wilding, M., and Whitaker, M. (1994). Cell-cycle calcium transients driven by cyclic changes in inositol trisphosphate levels. *Nature* 368, 875–878.

Crabtree, H.G. (1929). Observations on the carbohydrate metabolism of tumours. *Biochem. J.* 23, 536–545.

D

DeBerardinis, R.J., Lum, J.J., Hatzivassiliou, G., and Thompson, C.B. (2008). The biology of cancer: metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab.* 7, 11–20.

Diamond, M.S., Kinder, M., Matsushita, H., Mashayekhi, M., Dunn, G.P., Archambault, J.M., Lee, H., Arthur, C.D., White, J.M., Kalinke, U., et al. (2011). Type I interferon is selectively required by dendritic cells for immune rejection of tumors. *J. Exp. Med.* 208, 1989–2003.

Dunn, G.P., Old, L.J., and Schreiber, R.D. (2004). The Immunobiology of Cancer Immunosurveillance and Immunoediting. *Immunity* 21, 137–148.

Duthie, S.J. (1999). Folic acid deficiency and cancer: mechanisms of DNA instability. *Br. Med. Bull.* 55, 578–592.

E

Ebert, E.C. (1985). Sheep red blood cells enhance T-lymphocyte proliferation. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 37, 203–212.

F

Fantin, V.R., St-Pierre, J., and Leder, P. (2006). Attenuation of LDH-A expression uncovers a link between glycolysis, mitochondrial physiology, and tumor maintenance. *Cancer Cell* 9, 425–434.

Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkin, D.M., Forman, D., and Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in

GLOBOCAN 2012. *Int. J. Cancer* 136, E359-386.

Fuertes, M.B., Kacha, A.K., Kline, J., Woo, S.-R., Kranz, D.M., Murphy, K.M., and Gajewski, T.F. (2011). Host type I IFN signals are required for antitumor CD8⁺ T cell responses through CD8 α ⁺ dendritic cells. *J. Exp. Med.* 208, 2005–2016.

G

Giovannucci, E. (2001). An updated review of the epidemiological evidence that cigarette smoking increases risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol.* 10, 725–731.

Gonzales, R., Auclair, C., Voisin, E., Gautero, H., Dhermy, D., and Boivin, P. (1984). Superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in red blood cells from patients with malignant diseases. *Cancer Res.* 44, 4137–4139.

Gutschner, T., and Diederichs, S. (2012). The hallmarks of cancer. *RNA Biol.* 9, 703–719.

H

Hanahan, D., and Folkman, J. (1996). Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 86, 353–364.

Hanahan, D., and Weinberg, R.A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell* 100, 57–70.

Harris, R.E. (2016). *Global epidemiology of cancer* (Burlington, MA: Jones & Bartlett Learning).

Herberman, R.B., and Holden, H.T. (1978). Natural cell-mediated immunity. *Adv. Cancer Res.* 27, 305–377.

Hiraki, Y., Rosen, O.M., and Birnbaum, M.J. (1988). Growth factors rapidly induce expression of the glucose transporter gene. *J. Biol. Chem.* 263, 13655–13662.

Hollstein, M., Sidransky, D., Vogelstein, B., and Harris, C.C. (1991). p53 mutations in human cancers. *Science* 253, 49–53.

J

Jemal, A., Ward, E., and Thun, M.J. (2007). Recent trends in breast cancer incidence rates by age and tumor characteristics among U.S. women. *Breast Cancer Res. BCR* 9, R28.

K

Koebel, C.M., Vermi, W., Swann, J.B., Zerafa, N., Rodig, S.J., Old, L.J., Smyth, M.J., and Schreiber, R.D. (2007). Adaptive immunity maintains occult cancer in an equilibrium state. *Nature* 450, 903–907.

Kyewski, B., and Klein, L. (2006). A central role for central tolerance. *Annu. Rev. Immunol.* 24, 571–606.

L

Levine, A.J., and Puzio-Kuter, A.M. (2010). The control of the metabolic switch in cancers by oncogenes and tumor suppressor genes. *Science* 330, 1340–1344.

Liberti, M.V., and Locasale, J.W. (2016). The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? *Trends Biochem. Sci.* 41, 211–218.

Lowe, S.W., Cepero, E., and Evan, G. (2004). Intrinsic tumour suppression. *Nature* 432, 307–315.

M

Mariot, P., Vanoverberghe, K., Lalevee, N., Rossier, M.F., and Prevarskaya, N. (2002). Overexpression of an alpha 1H (Cav3.2) T-type calcium channel during neuroendocrine differentiation of human prostate cancer cells. *J. Biol. Chem.* 277, 10824–10833.

Marley, A.R., and Nan, H. (2016). Epidemiology of colorectal cancer. *Int. J. Mol. Epidemiol. Genet.* 7, 105–114.

McDermott, D.F., and Atkins, M.B. (2013). PD-1 as a potential target in cancer therapy. *Cancer Med.* 2, 662–673.

Migliaccio, A.R. (2010a). Erythroblast enucleation. *Haematologica* 95, 1985–1988.

Migliaccio, A.R. (2010b). Erythroblast enucleation. *Haematologica* 95, 1985–1988.

Mittal, D., Gubin, M.M., Schreiber, R.D., and Smyth, M.J. (2014). New insights into cancer immunoediting and its three component phases — elimination, equilibrium and escape. *Curr. Opin. Immunol.* 27, 16–25.

N

Nelson, R.A. (1953). The immune-adherence phenomenon; an immunologically specific reaction between microorganisms and erythrocytes leading to enhanced phagocytosis. *Science* 118, 733–737.

O

Oldenborg, P.A., Zheleznyak, A., Fang, Y.F., Lagenaur, C.F., Gresham, H.D., and Lindberg, F.P. (2000). Role of CD47 as a marker of self on red blood cells. *Science* 288, 2051–2054.

P

Palaghia, M., Prelipcean, C.C., Cotea, E., Vlad, N., Leneschi, L., Bejan, V., Perianu, L., Vasilescu, A., and Târcoveanu, E. (2014). Metastatic Colorectal Cancer: Review of Diagnosis and Treatment Options. *J. Surg. Jurnalul Chir.*

Pantaleo, A., Giribaldi, G., Mannu, F., Arese, P., and Turrini, F. (2008). Naturally occurring anti-band 3 antibodies and red blood cell removal under physiological and pathological conditions. *Autoimmun. Rev.* 7, 457–462.

Pelucchi, C., Tramacere, I., Boffetta, P., Negri, E., and La Vecchia, C. (2011). Alcohol consumption and cancer risk. *Nutr. Cancer* 63, 983–990.

Porto, B., Fonseca, A.M., Godinho, I., Arosa, F.A., and Porto, G. (2001). Human red blood cells have an enhancing effect on the relative expansion of CD8+ T lymphocytes in vitro. *Cell Prolif.* 34, 359–367.

Porto, B., Fonseca, A.M., Godinho, I., Arosa, F.A., and Porto, G. (2001). Human red blood cells have an enhancing effect on the relative expansion of CD8+ T lymphocytes in vitro. *Cell Prolif.* 34, 359–367.

R

Rabinovich, G.A., Gabrilovich, D., and Sotomayor, E.M. (2007). IMMUNOSUPPRESSIVE STRATEGIES THAT ARE MEDIATED BY TUMOR CELLS. *Annu. Rev. Immunol.* 25, 267–296.

Racker, E. (1972). Bioenergetics and the problem of tumor growth. *Am. Sci.* 60, 56–63.

Razungles, Julie, Vincent Cavailès, Stéphane Jalaguier, and Catherine Teyssier. 2013. “L’effet Warburg - De la théorie du cancer aux applications thérapeutiques en cancérologie.” *médecine/sciences* 29 (11): 1026–33. doi:10.1051/medsci/20132911020.

Riedhammer, Christine, Dagmar Halbritter, and Robert Weissert. 2016. “Peripheral Blood Mononuclear Cells: Isolation, Freezing, Thawing, and Culture.” *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* 1304: 53–61. doi:10.1007/7651_2014_99.

S

Schwarz, Eva C., Bin Qu, and Markus Hoth. 2013. “Calcium, Cancer and Killing: The Role of Calcium in Killing Cancer Cells by Cytotoxic T Lymphocytes and Natural Killer Cells.” *Biochimica Et Biophysica Acta* 1833 (7): 1603–11. doi:10.1016/j.bbamcr.2012.11.01

Shankaran, V., Ikeda, H., Bruce, A.T., White, J.M., Swanson, P.E., Old, L.J., and Schreiber, R.D. (2001). IFN γ and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity. *Nature* 410, 1107–1111.

Shay, J.W., and Bacchetti, S. (1997). A survey of telomerase activity in human cancer. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* 1990 33, 787–791.

Shay, J.W., and Wright, W.E. (2000). Hayflick, his limit, and cellular ageing. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 1, 72–76.

Shim, H., Chun, Y.S., Lewis, B.C., and Dang, C.V. (1998). A unique glucose-dependent apoptotic pathway induced by c-Myc. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 1511–1516.

Shlomi, T., Benyamini, T., Gottlieb, E., Sharan, R., and Ruppin, E. (2011). Genome-scale metabolic modeling elucidates the role of proliferative adaptation in causing the Warburg effect. *PLoS Comput. Biol.* 7, e1002018.

Swann, J.B., and Smyth, M.J. (2007). Immune surveillance of tumors. *J. Clin. Invest.* 117, 1137–1146.

T

Tubiana, M. (2008). Généralités sur la cancérogenèse☆☆Ce texte est très largement inspiré par l’appendice sur la cancérogenèse rédigé par R. Monier et moi-même pour le rapport sur les causes du cancer en France. L’auteur remercie beaucoup R. Monier pour les nombreuses et fructueuses discussions qu’il a eues avec lui. *C. R. Biol.* 331, 114–125.

V

Valastyan, S., and Weinberg, R.A. (2011). Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms. *Cell* 147, 275–292.

Vander Heiden, M.G., Cantley, L.C., and Thompson, C.B. (2009). Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. *Science* 324, 1029–1033.

Vander Heiden, M.G., Cantley, L.C., and Thompson, C.B. (2009). Understanding the Warburg Effect: The

Metabolic Requirements of Cell Proliferation. *Science* 324, 1029–1033.

Vesely, M.D., Kershaw, M.H., Schreiber, R.D., and Smyth, M.J. (2011). Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annu. Rev. Immunol.* 29, 235–271.

Viale, A., Pettazoni, P., Lyssiotis, C.A., Ying, H., Sánchez, N., Marchesini, M., Carugo, A., Green, T., Seth, S., Giuliani, V., et al. (2014). Oncogene ablation-resistant pancreatic cancer cells depend on mitochondrial function. *Nature* 514, 628–632.

W

Warburg, O. (1925). The Metabolism of Carcinoma Cells. *J. Cancer Res.* 9, 148–163.

Warburg, O. (1956a). On the origin of cancer cells. *Science* 123, 309–314.

Warburg, O. (1956b). On respiratory impairment in cancer cells. *Science* 124, 269–270.

Warburg, O., Wind, F., and Negelein, E. (1927). THE METABOLISM OF TUMORS IN THE BODY. *J. Gen. Physiol.* 8, 519–530.

Wu, X., Peng, M., Huang, B., Zhang, H., Wang, H., Huang, B., Xue, Z., Zhang, L., Da, Y., Yang, D., et al. (2013). Immune microenvironment profiles of tumor immune equilibrium and immune escape states of mouse sarcoma. *Cancer Lett.* 340, 124–133.

Y

Yeung, S.J., Pan, J., and Lee, M.-H. (2008). Roles of p53, MYC and HIF-1 in regulating glycolysis - the seventh hallmark of cancer. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 65, 3981–3999.

Yu, D., Yin, Z., Fu, C., and Yu, R. (2014). Impact on red blood cell immunity patterns in postoperative phase following total hip arthroplasty. *Cent.-Eur. J. Immun*