

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

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

Département de Biologie



MEMOIRE

Présenté par

ILYES AMAR

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER II en Biologie

Option : immunologie

Thème

Approche in silico de l'interaction entre les métabolites de la vitamine D3 et la bêta-caténine dans les cellules souches cancéreuses

Soutenu le, devant le jury composé de :

Présidente : Ahlem LAISSOUF	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant : Maroua MILIANI	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice : Wafa NOUARI	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2024/2025

Résumé

Les cellules souches cancéreuses (CSC) constituent une sous-population cellulaire minoritaire mais essentielle au sein de nombreuses tumeurs. Dotées d'une capacité d'auto-renouvellement et de différenciation, elles sont capables de régénérer une tumeur après traitement. Parmi les voies de signalisation impliquées dans leur maintien, la voie Wnt/ β -caténine occupe une place centrale. La bêta-caténine, élément clé de cette voie, est fréquemment surexprimée ou dérégulée dans les cellules tumorales, favorisant ainsi leur prolifération, leur survie et la conservation de leur état de souche.

Parallèlement, de nombreuses études ont mis en évidence le potentiel anticancéreux de la vitamine D, qui existe principalement sous deux formes : la 25-hydroxyvitamine D3, forme circulante de stockage, et la 1,25-dihydroxyvitamine D3, forme biologiquement active. Cette dernière est particulièrement reconnue pour sa capacité à moduler diverses voies de signalisation cellulaire impliquées dans la tumorigènes.

Dans ce contexte, notre étude a eu recours à la modélisation par Docking moléculaire afin d'évaluer l'affinité des métabolites de la vitamine D pour la protéine β -caténine et d'en estimer le potentiel inhibiteur. Les structures des molécules ont été extraites des bases de données PubChem et PDB, puis optimisées avec Chem3D. Les simulations ont été effectuées avec ArgusLab, et les complexes obtenus analysés à l'aide de Discovery Studio. Les résultats mettent en évidence une affinité marquée entre la vitamine D et la bêta-caténine, en particulier au niveau du site de liaison 2, une région clé impliquée dans l'interaction avec les facteurs de transcription TCF/LEF. Les énergies de liaison calculées indiquent des interactions stables, soutenues par des liaisons hydrogène et des interactions hydrophobes. En revanche, les métabolites de la vitamine D ne montrent aucune affinité notable pour le site 3 de la bêta-caténine, suggérant que cette région ne constitue pas un site d'ancrage favorable pour ces composés.

Ces observations suggèrent que la vitamine D pourrait agir comme un inhibiteur potentiel de la bêta-caténine en perturbant ses interactions transcriptionnelles, entraînant une inhibition de la signalisation Wnt/ β -caténine. Cette stratégie pourrait contribuer à l'éradication des CSC, offrant ainsi une piste thérapeutique prometteuse contre la récurrence, la résistance aux traitements et la dissémination métastatique.

Mots clés : vitamine D3, bêta-caténine, Docking moléculaire, cellules souches cancéreuses

Abstract

Cancer stem cells (CSCs) represent a minority but essential subpopulation within many tumors. Possessing the ability to self-renew and differentiate, they are capable of regenerating a tumor after treatment. Among the signaling pathways involved in their maintenance, the Wnt/ β -catenin pathway plays a central role. β -catenin, a key element of this pathway, is frequently overexpressed or deregulated in tumor cells, thereby promoting their proliferation, survival, and the preservation of their stem-like state.

At the same time, numerous studies have highlighted the anticancer potential of vitamin D, which exists primarily in two forms: 25-hydroxyvitamin D₃, the circulating storage form, and 1,25-dihydroxyvitamin D₃, the biologically active form. The latter is particularly recognized for its ability to modulate various cellular signaling pathways involved in tumorigenesis.

In this context, our study employed molecular docking modeling to assess the affinity of vitamin D metabolites for the β -catenin protein and to estimate their inhibitory potential. The molecular structures were retrieved from the PubChem and PDB databases, then optimized using Chem3D. Simulations were conducted with ArgusLab, and the resulting complexes were analyzed using Discovery Studio. The results reveal a strong affinity between vitamin D and β -catenin, particularly at binding site 2, a key region involved in interaction with TCF/LEF transcription factors. The calculated binding energies indicate stable interactions, supported by hydrogen bonds and hydrophobic interactions. Conversely, vitamin D metabolites showed no significant affinity for site 3 of β -catenin, suggesting that this region does not serve as a favorable anchoring site for these compounds.

These observations suggest that vitamin D could act as a potential inhibitor of β -catenin by disrupting its transcriptional interactions, leading to inhibition of Wnt/ β -catenin signaling. This strategy could contribute to the eradication of CSCs, thereby offering a promising therapeutic avenue against recurrence, treatment resistance, and metastatic spread.

Keywords: vitamin D₃, beta-catenin, molecular docking, cancer stem cells

المخلص

تشكل الخلايا الجذعية السرطانية (CSCs) أقلية ولكنها تشكل مجموعة فرعية أساسية للعديد من الأورام. تتمتع هذه الخلايا بالقدرة على تجديد نفسها والتمايز، وهي قادرة على تجديد الورم بعد العلاج. من بين مسارات الإشارات المشاركة في صيانتها، يحتل مسار Wnt/ β -catenin مكاناً مركزياً. بيتا كاتينين، وهو عنصر أساسي في هذا المسار، يتم التعبير عنه بشكل مفرط أو يتم تحريره في كثير من الأحيان في الخلايا السرطانية، وبالتالي تعزيز تكاثرها وبقائها والحفاظ على حالة إجهادها.

وفي الوقت نفسه، سلطت العديد من الدراسات الضوء على الإمكانيات المضادة للسرطان لفيتامين د، والذي يوجد بشكل رئيسي في شكلين: 25-هيدروكسي فيتامين د3، وهو شكل تخزين متداول، و1،25-ديهيدروكسي فيتامين د3، وهو شكل نشط بيولوجياً. هذا الأخير معروف بشكل خاص بقدرته على تعديل مسارات إشارات الخلايا المختلفة المشاركة في الأورام.

وفي هذا السياق، استخدمت دراستنا نمذجة الالتحام الجزيئي لتقييم تقارب مستقبلات فيتامين د لبروتين بيتا كاتينين وتقدير إمكاناتها المثبطة. تم استخراج الهياكل الجزيئية من قواعد بيانات PubChem و PDB، ثم تم تحسينها باستخدام Chem3D. تم إجراء عمليات المحاكاة باستخدام ArgusLab، وتم تحليل المجمعات التي تم الحصول عليها باستخدام Discovery Studio. تسلط النتائج الضوء على وجود تقارب واضح بين فيتامين د وبيتا كاتينين، وخاصة في موقع الارتباط 2، وهي منطقة رئيسية تشارك في التفاعل مع عوامل النسخ TCF/LEF. تشير طاقات الارتباط المحسوبة إلى تفاعلات مستقرة، مدعومة بروابط هيدروجينية وتفاعلات كارهة للماء. من ناحية أخرى، لا تظهر مستقبلات فيتامين د أي تقارب كبير لموقع بيتا كاتينين 3، مما يشير إلى أن هذه المنطقة لا تشكل موقع تثبيت مناسب لهذه المركبات.

تشير هذه الملاحظات إلى أن فيتامين د قد يعمل كمثبط محتمل لبيتا كاتينين عن طريق تعطيل تفاعلاته النسخية، مما يؤدي إلى تثبيط إشارات Wnt/ β -catenin. يمكن أن تساهم هذه الإستراتيجية في القضاء على الخلايا الجذعية السرطانية، وبالتالي تقديم نهج علاجي واعد ضد التكرار ومقاومة المرض والعلاجات وانتشار النقائل.

الكلمات المفتاحية: فيتامين د3، بيتا كاتينين، الالتحام الجزيئي، الخلايا الجذعية السرطانية

Remerciement

Avant toute chose, je rends grâce à **Dieu Tout-Puissant**, pour m'avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail. Sans Sa volonté et Sa miséricorde, rien de tout cela n'aurait été possible.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à **Mme Miliani Maroua**, qui m'a accompagnée avec bienveillance tout au long de mon parcours universitaire. Grâce à la qualité de son enseignement, à son encadrement attentif et à ses encouragements constants, j'ai pu progresser aussi bien sur le plan académique que personnel. Sa rigueur, sa disponibilité, ainsi que sa passion pour la transmission du savoir ont profondément marqué mon cheminement. Je la remercie chaleureusement pour la confiance qu'elle m'a accordée, la pertinence de ses conseils et le soutien précieux qu'elle m'a apporté tout au long de l'élaboration de ce mémoire.

Mes pensées les plus reconnaissantes vont également à **Mme NOUARI Wafa**, pour son soutien indéfectible, ses encouragements dans les moments de doute, et sa présence précieuse à mes côtés tout au long de ce parcours.

À Mme **Ahlem Aissouf**. Qui nous a fait l'immense honneur d'accepter d'être président de jury.

Dédicace

« Le progrès de la médecine passe par la recherche fondamentale »
Derrière chaque réussite, il y a des regards bienveillants,
Des mains tendues, et des cœurs qui soutiennent en silence.
Ce mémoire est pour vous.

À mes chers parents

Vous êtes les racines de mon arbre, la lumière de mon chemin et la force dans mes silences
Derrière chaque réussite, il y a des regards bienveillants, des mains tendues, et des cœurs qui
soutiennent en silence.
Sans vous, ce parcours n'aurait jamais été possible. Merci du fond du cœur
C le fruit de votre patience, de vos encouragements et de votre foi en moi.

À mon frère, mon modèle, et à sa merveilleuse épouse

Vous êtes un exemple d'amour, de patience et de sagesse
Merci pour votre affection, vos encouragements et votre présence

À ma douce petite sœur

Tu es une source de joie et de courage dans ma vie.
Que Dieu te protège et t'ouvre les portes d'un avenir radieux.
Ce travail est aussi pour toi, avec tout mon amour.

Dédicace pour tous les membres de l'université

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à l'ensemble du corps enseignant, au personnel
administratif et à toutes les personnes qui contribuent chaque jour à faire de cette institution un lieu de
savoir, de partage et d'excellence.
Merci pour votre disponibilité, votre engagement et votre dévouement tout au long de mon parcours
universitaire.

Ilyes Amar

LISTE D'ABREVIATION

LISTE D'ABREVIATION

ALDH-1 : Aldehydedehydrogenase 1
APC:Adenomatouspolyposis coli
Axin: Axis inhibition
BCL-2: regulatory protein
CAR-T: Chimeric antigen receptor (CAR)-engineered T
CDK: Cyclin-Dependent Kinase
CSCs: cancer stem cells
CD44: cluster of differentiation 44
CD24: cluster of differentiation 24
CD34: cluster of differentiation 34
CD38: cluster of differentiation 38
CD133: cluster of differentiation 133
CIP1: CDK-Interacting Protein 1
DNA: Deoxyribonucleic Acid
E2F1: E2F transcription factor
ERK: Extracellular Signal-Regulated Kinase
EpCAM: Epithelial cell adhesion molecule
ECM: Extracellular matrix
ESM1: Endothelial Cell-Specific Molecule 1
GSK3 β : Glycogen synthase kinase-3 beta
GLI: proteins are transcription factors
Hh: Hedgehog
HIFs: inducing factors of hypoxia
HSA: Human Serum Albumin
His: histidine
IFNs : Interferons
hh: Indian hedgehog
IDR: intrinsically disordered region
Ile: isoleucine
JAK: Janus kinase
KLF4: KLF transcription factor 4
LRP5/6: Low-density-lipoprotein-related protein5/6
MEK1-2: MAPK/ERK kinase 1-2
MDSCs: Myeloid-derived suppressor cells

LISTE D'ABREVIATION

mABs: Monoclonal antibodies

NF-kappa-B: nuclear factor-kappa B

NANOG: transcription factor

OCT4: Octamer-binding transcription factor 4

PI3K: Phosphatidylinositol-3-kinase

PORCN: Porcupine5-7

PDB: Protein Data Bank

PTCH: Patched

ROR1: Receptor tyrosine kinase-like orphan receptor

SOX2: SRY-Box transcription factor 2

Shh: Sonic hedgehog

SMO: Smoothened

STAT: Signal transducers and activators of transcription

TICs: Tumor-Initiating Cells

TAMs: tumor-associated macrophages

TME: tumor microenvironment

Tregs: regulatory T cells

TP53: tumor suppressor gene

TCF/Lef: T-cell/lymphoid enhancer

VEGF: vascular endothelial growth factor

VDR: Vitamin D Receptor

WNT: wntless-related integration site

1,25(OH)₂D₃ :1,25-Dihydroxyvitamin D₃

TABLE DES MATIERES

Résumé

Abstract

ملخص

Avant-propos

Liste des figures

Liste de tableaux

Liste des abréviations

Table des matières

Introduction 1

Chapitre 1. Revue de la littérature

1. Cellules souches cancéreuse

1.1. Historique des cellules souches cancéreuses 3

1.2. Définition des cellules souches cancéreuses 4

1.3. Origine des cellules souches cancéreuses 4

1.4. Microenvironnement tumoral 6

1.5. Plasticité des cellules souches cancéreuses

1.6. Biomarqueurs et identification des cellules souches cancéreuses (CSCs) 7

1.7. Principales Voies de signalisation impliquées dans les cellules souches cancéreuses 8

1.8. CSC dans le traitement du cancer 9

2. Bêta-caténine 11

2.1. Généralité et structure de La bêta-caténine 11

2.2. Rôle de La bêta-caténine dans les cellules souches cancéreuses 12

2.4. Voie de signalisation Wnt/ β -Catenin 12

3. Vitamine D

3.1. Définition 14

3.2. Structure de la vitamine D 14

3.3. Aliments riches en vitamine D 14

3.4. Métabolisme de la vitamine D 15

3.5. Vitamine D et le cancer 16

3.6. La vitamine D et la Voie de signalisation Wnt/ β -caténine 17

4. Docking Moléculaire

4.1. Définition 18

4.2. Types de Docking 19

4.2.1. Docking rigide 19

4.2.2. Docking flexible-rigide (semi-flexible) 19

TABLE DES MATIERES

4.2.3. Docking flexible	19
4.3. Outils de Docking	21
4.3.1. Récepteurs	21
4.3.2. Ligand	21
4.4. Fonctions de scoring	21
4.5. Logiciel de Docking moléculaire	22
Chapitre 2 : Matériel et Méthode	
1. Matériels	
1.1. Microordinateur	23
1.2. Programmes	23
1.2.1. Arguslab	23
1.2.2. Chems sketch	23
1.2.3. Chem 3D	24
1.2.4. Discovery studio	24
1.3. Banques de données :	24
1.3.1. Protein Data Bank (PDB)	24
1.3.2. PubChem	24
2. Méthodes	
2.1. Préparation de la protéine	25
2.2. Préparation du ligand	27
2.3. Docking Moléculaire	27
2.4. Règle de 5 de Lipinski	28
Chapitre 3 : Résultats et discussion	
1. Résultats	
1.1. L'analyse visuelle	
1.1.1. Interaction de la 25-hydroxyvitamine D3 avec le site de liaison 2 de la bêta caténine	31
1.1.2. Interaction de la 25-hydroxyvitamine D3 avec le site de liaison 3 de la bêta-caténine	31
1.1.3. Interaction de la 1,25-dihydroxyvitamine D3 avec le site de liaison 2 de la bêta-caténine	31
1.1.4. Interaction de la 1,25-dihydroxyvitamine D3 avec le site de liaison 3 de la bêta-caténine	32
2. Interactions entre les métabolites de la vitamine D et la protéine bêta-caténine	
2.1. Interaction de la 25-hydroxyvitamine D3 (25(OH) D3) forme de stockage avec le site 2 de la bêta-caténine	
34	

TABLE DES MATIERES

2.2. Interaction de la 1,25-dihydroxyvitamine D3 (1,25(OH)₂D3) La forme active avec le site 2 de la bêta-caténine 37

2.3 les différentes distances des interactions du site actif 2 de la protéine et les deux formes du ligand 40

2.4 Application de la règle de Lipinski 41

Chapitre4. Conclusion

Conclusion 42

Chapitre5. Références bibliographiques

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1. Développement de la théorie du CSC	4
Figure 1.2. Démontre L'Origine des cellules souches cancéreuses	5
Figure 1.3. Approches thérapeutiques ciblant les cellules souches cancéreuses	10
Figure 1.4. Montre la structure de la bêta -Caténine	11
Figure 1.5. Montrent Voies de signalisation Wnt canoniques et non canoniques	13
Figure 1.6. Structure chimique de la vitamine D2 (ergocalciférol) et de la vitamine D3	14
Figure 1.7. Structure chimique de la vitamine D au cours du métabolisme	16
Figure 1.8. Principales applications du Docking moléculaire	18
Figure 1.9. Différents types d'études de Docking basées sur la flexibilité des récepteurs/ligands considérés en interaction moléculaire	20
Figure 1.10. Types d'amarrage du modèle Lock-Key	22
Figure 2.1. Présentation de la protéine bêta-caténine (1G3J)	26
Figure 2.2. Présentation de la protéine bêta-caténine (1JDH)	26
Figure 3.1. Structure 2D de la 25-hydroxyvitamine D3 (forme de stockage), modélisée Avec le logiciel ChemSketch	29
Figure 3.2. Structure 2D de la 25-hydroxyvitamine D3 (forme de stockage), modélisée à l'aide du logiciel ChemSketch	29
Figure 3.3. Mode d'interaction de la 25-hydroxyvitamine D3 (25(OH) D3) forme de stockage avec le site 2 de la bêta-caténine	34
Figure 3.4. Interaction entre le ligand 25-hydroxyvitamine D3 (25(OH) D3) forme de stockage et site 2 par Discovery studio	34
Figure 3.5. Liaison hydrogène de type classique entre le ligand 25-hydroxyvitamine D3 (25(OH) D3) forme de stockage avec site 2 (colorée en bleu)	35
Figure 3.6. Liaison hydrophobique entre le ligand 25-hydroxyvitamine D3 (25(OH) D3) forme de stockage avec site 2 (colorée en jaune)	35
Figure 3.7. Liaison hydrophobique de type alkyl entre le ligand 25-hydroxyvitamine D3 (25(OH) D3) forme de stockage avec site 2 (colorée en jaune)	36
Figure 3.8. Liaison hydrophobique de type Mixed Pi/ alkyl entre le ligand 25-hydroxyvitamine D3 (25(OH) D3) forme de stockage avec site 2 (colorée en jaune)	36
Figure 3.9. Mode d'interaction de la 1,25-dihydroxyvitamine D3 (1,25(OH) ₂ D3) La forme active avec le site 2 de la bêta-caténine	37
Figure 3.10. Interaction entre le ligand 1,25-dihydroxyvitamine D3 (1,25(OH) ₂ D3) La forme active et site 2 par Discovery studio	37

LISTE DES FIGURES

Figure 3.11. Liaison hydrogène de type non-classique le ligand 1,25-dihydroxyvitamine D3 (1,25(OH) ₂ D3) La forme active avec site 2 (colorée en bleu)	38
Figure 3.12. Liaison hydrophobique entre le ligand 1,25-dihydroxyvitamine D3 (1,25(OH) ₂ D3) La forme active avec site 2 (colorée en jaune)	38
Figure 3.13. Liaison hydrophobique de type alkyl entre le ligand 1,25-dihydroxyvitamine D3 (1,25(OH) ₂ D3) La forme active avec site 2 (colorée en jaune)	39
Figure 3.14. Liaison hydrophobique de type Mixed Pi/ alkyl entre le ligand 1,25-dihydroxyvitamine D3 (1,25(OH) ₂ D3) La forme active avec site 2 (colorée en jaune)	39

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 3.1. Codes PDB des complexes (bêta-caténine -inhibiteur) avec leur résolution. 25	30
Tableau 3.2. Caractéristiques du calcul pour le site de liaison 2 (interactions entre les métabolites de la vitamine D et la bêta-caténine)	30
Tableau 3.3. Dix meilleures poses issues du docking moléculaire entre le site de liaison 2 de la bêta-caténine et la 25-hydroxyvitamine D3	31
Tableau 3.4. Dix meilleures poses par Docking moléculaire : forme actif et site 2 la bêta-caténine	32
Tableau 3.5. Types d'interactions entre binding site et le ligand et leurs distances	40
Tableau 3.6. Résultats de la règle de Lipinski sur la forme active de la vitamine D	41
Tableau 3.7. Résultats de la règle de Lipinski sur la forme De stockage de la vitamine D	41

Chapitre 1

Revue de la littérature

Cellules souches cancéreuses

1.1. Historique des cellules souches cancéreuses

L'idée que les tumeurs puissent émerger à partir de cellules normales ne date pas d'hier. Dès 1855, le pathologiste Rudolph Virchow formule l'hypothèse selon laquelle les cancers proviendraient de cellules déjà présentes dans l'organisme, initiant un débat scientifique qui durera plus d'un siècle. Cette intuition se renforce en 1937, lorsque Jacob Furth et Morton Kahn démontrent qu'une seule cellule leucémique est capable d'induire une leucémie chez la souris (Sampayo & Bissell, 2019).

C'est toutefois dans les années 1960 que le concept prend une tournure décisive : James Till et Ernest McCulloch observent que certaines cellules hématopoïétiques peuvent régénérer la moelle osseuse en formant des clones dans la rate. Ces travaux marquent les débuts de la compréhension moderne des cellules souches. En 1997, la recherche franchit un cap majeur avec les travaux de John Dick et Dominique Bonnet, qui identifient pour la première fois des cellules capables de réinitier la maladie dans la leucémie myéloïde aiguë. Puis en 2003, Al-Hajj et ses collègues isolent un sous-groupe de cellules issues de tumeurs mammaires, caractérisées par le marqueur CD44⁺/CD24⁻/faible, capables à elles seules de générer des tumeurs chez la souris. C'est ainsi que sont identifiées les cellules souches cancéreuses (Chu et al., 2024).

Aujourd'hui, la théorie des cellules souches cancéreuses repose sur une idée simple mais puissante : au sein d'une tumeur, seules certaines cellules, les CSCs, ont la capacité de se multiplier indéfiniment et de générer l'ensemble des populations cellulaires tumorales. Les autres cellules, plus différenciées, présentent un potentiel de prolifération limité et finissent par perdre leur capacité à se diviser. Ce petit contingent de cellules, à la fois résistant aux traitements et hautement proliférant, serait ainsi responsable de la croissance tumorale, des récurrences et de la dissémination métastatique (Bisht et al., 2022).

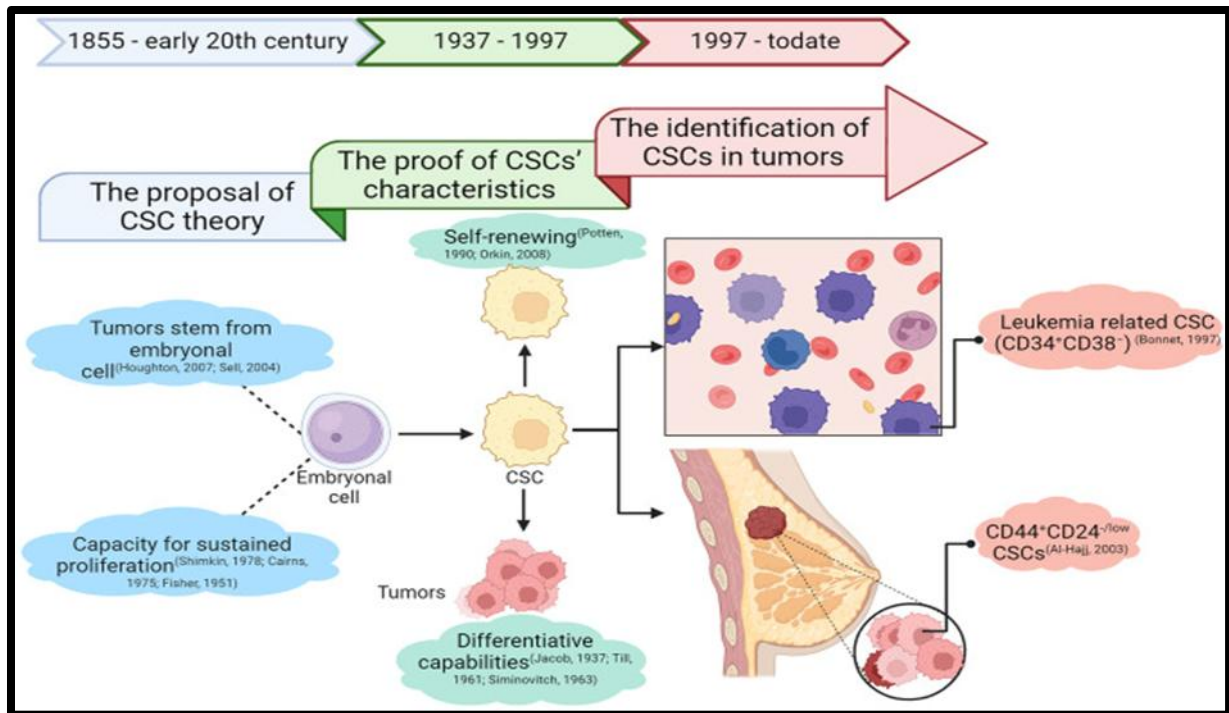


Figure 1.1. Développement de la théorie du cellule souche cancéreuse

1.2. Définition des cellules souches cancéreuses

Aujourd'hui, les cellules souches cancéreuses, également appelées cellules initiatrices de tumeur (TICs), sont définies comme des cellules néoplasiques quiescentes et pluripotentes, possédant des propriétés fondamentales telles que l'auto-renouvellement et la capacité d'initiation clonale de tumeurs (Yin et al., 2021a).

Les CSC jouent un rôle central dans des processus clés tels que l'initiation tumorale, la croissance, la formation de métastases et le développement de la résistance aux traitements. La composition des sous-populations de cellules tumorales évolue au cours du temps, notamment sous l'effet des pressions thérapeutiques (Li et al., 2023a).

Cette dynamique et leur rôle dans la résistance à la chimiothérapie et à la radiothérapie, ainsi que dans les rechutes tumorales, suscitent un intérêt croissant de la part de la communauté scientifique.

1.3. Origine des cellules souches cancéreuses

Les cellules souches, dans des conditions physiologiques normales, se divisent rarement. Par exemple, dans la moelle osseuse, seule une petite fraction environ 10 % est engagée dans le cycle cellulaire actif, malgré leur capacité de renouvellement illimité.

Les cellules souches cancéreuses peuvent émerger à partir de cellules souches normales, de cellules progénitrices partiellement différenciées, ou encore de cellules somatiques reprogrammées (Ruszkowska-Ciastek et al., 2024). Lorsqu'un certain seuil d'altérations

Chapitre 1. Revue de la littérature

génétiques est franchi, ces cellules peuvent acquérir un comportement tumoral agressif et évoluer vers un phénotype de CSC.

À l'instar des cellules souches normales, les CSC conservent la capacité de s'auto-renouveler et de se différencier. Toutefois, elles se distinguent par leur aptitude à générer une niche tumorale autonome, indépendante du tissu d'origine. Elles représentent ainsi la sous-population tumorale la plus agressive, capable de se propager et de former des métastases, y compris dans des sites distants (Verona et al., 2025). Ce potentiel invasif repose notamment sur leur capacité à s'ancrer dans de nouveaux microenvironnements.

La transformation des cellules en CSC s'accompagne de perturbations du cycle cellulaire et d'une accumulation de modifications génétiques et épigénétiques, telles que la méthylation de l'ADN (Batlle & Clevers, 2017). De plus, les CSC sont particulièrement résistantes aux traitements conventionnels. Elles restent souvent en état de quiescence (phase G0), possèdent des mécanismes renforcés de réparation de l'ADN, et activent des voies anti-apoptotiques. Ces caractéristiques leur permettent d'échapper aux chimiothérapies classiques, qui ciblent principalement les cellules en division rapide (Ruszkowska-Ciastek et al., 2024).

Pour mieux combattre les cancers à long terme, il est donc essentiel de comprendre en profondeur la biologie particulière des CSCs (Batlle & Clevers, 2017).

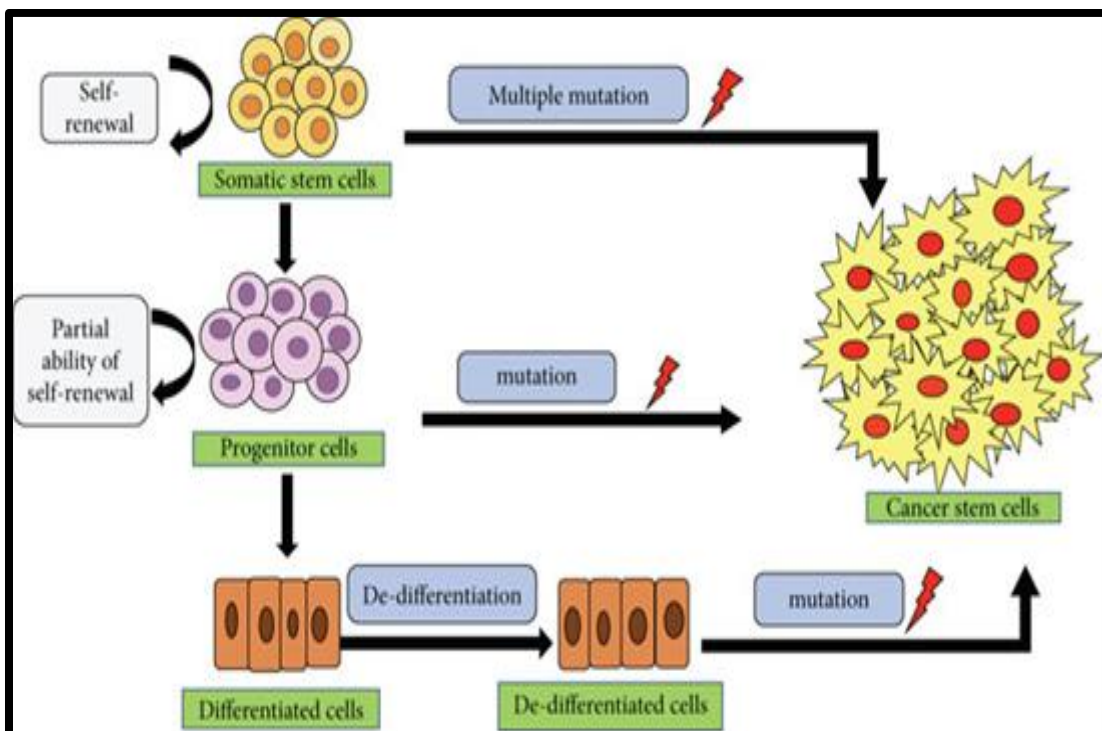


Figure 1.2. L'Origine des cellules souches cancéreuses

1.4. Microenvironnement tumoral

Le microenvironnement tumoral (TME) constitue un ensemble complexe et dynamique de cellules, comprenant à la fois des cellules néoplasiques et non transformées, influencées par divers facteurs internes et externes. Son développement débute avec la prolifération des cellules tumorales, en particulier des cellules souches cancéreuses, qui jouent un rôle central dans la formation de la niche tumorale (Yin et al., 2021b).

Au sein du TME, les cellules immunitaires, issues de l'immunité innée ou adaptative exercent une double fonction dans la régulation des processus tumoraux. Les cellules de l'immunité innée, telles que les macrophages associés aux tumeurs (TAMs) et les cellules myéloïdes suppressives (MDSCs), adoptent généralement des rôles immunosuppresseurs favorisant la progression tumorale. Du côté de l'immunité adaptative, les lymphocytes T régulateurs (Tregs) sont majoritairement représentés et participent également à l'immunosuppression locale.

Les cellules immunitaires, ainsi que les cytokines et chimiokines qu'elles sécrètent, influencent directement la croissance et les propriétés des CSC, notamment leur capacité d'auto-renouvellement, en modulant les caractéristiques des cellules tumorales différenciées. Ainsi, le TME joue un rôle fondamental dans la régulation du maintien et de l'expansion de la population de CSC, à travers des interactions cellulaires directes et des signaux solubles (Li et al., 2023b).

En parallèle, deux composantes clés du microenvironnement tumoral sont l'hypoxie et l'angiogenèse anormale. L'hypoxie, fréquente dans les tissus tumoraux en croissance rapide, constitue un puissant inducteur de l'angiogenèse via la stimulation de la production du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF). Cependant, l'angiogenèse qui en résulte est souvent désorganisée, aggravant l'hypoxie et installant un cercle vicieux. Cette situation active le système HIF (hypoxia-inducible factor), qui module l'expression de nombreux gènes associés à la plasticité cellulaire.

En conditions hypoxiques, on observe une surexpression de plusieurs facteurs de pluripotence, tels que SOX2, OCT4, KLF-4, Nanog et Lin28A, renforçant ainsi le phénotype des CSC et leur agressivité potentielle (Chu et al., 2024).

1.5. Plasticité des cellules souches cancéreuses

Les cellules souches cancéreuses présentent une remarquable capacité à alterner entre différents états phénotypiques, notamment entre un état « souche » (stem-like), caractérisé par l'auto-renouvellement et la prolifération, et un état plus différencié, généralement moins agressif. Ce phénomène, appelé plasticité phénotypique, n'est ni linéaire ni irréversible. Il est

Chapitre 1. Revue de la littérature

étroitement régulé par des signaux extrinsèques issus du microenvironnement tumoral, tels que l'hypoxie, les cytokines ou encore le stress oxydatif (Batlle & Clevers, 2017).

Cette plasticité est également modulée par des facteurs intrinsèques, notamment par l'activation de voies de signalisation clés comme Wnt/ β -caténine, Notch ou Hedgehog, ainsi que par l'expression de facteurs de transcription impliqués dans le maintien de la pluripotence, tels que SOX2, OCT4 et Nanog (Walcher et al., 2020).

Grâce à cette flexibilité, les CSC sont capables de s'adapter à des conditions hostiles, notamment face aux traitements chimiothérapeutiques ou aux réponses immunitaires. En modifiant leur phénotype, elles parviennent à échapper à l'élimination thérapeutique et peuvent même, après une phase de rémission, réactiver la croissance tumorale, favorisant ainsi les rechutes (Meacham & Morrison, 2013).

1.6. Biomarqueurs et identification des cellules souches cancéreuses

Les cellules souches cancéreuses se distinguent par l'expression de biomarqueurs spécifiques, classés en marqueurs de surface et marqueurs intracellulaires. Leur identification repose souvent sur la combinaison de plusieurs biomarqueurs, en raison de leur variabilité selon le type de cancer (Liu & Wang, 2024a).

Parmi les marqueurs de surface, CD133 (ou Prominin-1), une glycoprotéine transmembranaire à cinq passages, est l'un des plus étudiés. Il active plusieurs voies de signalisation, notamment PI3K/AKT, Src et β -caténine, et joue un rôle crucial dans l'initiation tumorale, la formation de métastases et la résistance aux traitements (Chu et al., 2024). CD133 est exprimé dans les CSC de nombreux cancers, dont ceux du cerveau, foie, côlon, poumon et pancréas (Walcher et al., 2020a). Son expression élevée est corrélée à un mauvais pronostic et à un risque accru de récurrence (Conde, Ribeiro & Paredes, 2022).

Le CD44 est un autre marqueur majeur, exprimé notamment dans les CSC du sein, de la prostate et des cancers de la tête et du cou (Walcher et al., 2020a). Il intervient dans des processus tels que l'adhésion cellulaire, la migration, l'interaction avec le microenvironnement tumoral, la résistance à la chimiothérapie et la formation de métastases (Conde et al., 2022).

La Co-expression CD44^{high}/CD133^{high} est associée à une augmentation de la tumorigénicité (Walcher et al., 2020b), tandis que son inhibition entraîne une diminution de la prolifération et de la migration dans certains cancers, notamment mammaires et gastriques.

Le CD24, également connu sous le nom d'antigène thermorésistant (HSA), est codé par le gène CD24 et impliqué dans l'adhésion, la prolifération, la migration, l'invasion et l'évasion immunitaire (Chu et al., 2024a). Il est surexprimé dans les CSC du pancréas, du sein et de l'ovaire. Dans le cancer du sein, le phénotype CD44⁺/CD24⁻ est couramment utilisé pour identifier les CSCs (Conde et al., 2022).

EpCAM (molecule d'adhésion épithéliale) est également largement exprimée à la surface des CSC. Elle intervient dans leur prolifération, différenciation et morphogenèse, et est associée à la formation de métastases osseuses dans le cancer du sein. Grâce à la cytométrie en flux, elle permet l'isolement des CSC pour l'étude de leur potentiel tumorigène (Walcher et al., 2020a ; Opara et al., 2025 ; Yang et al., 2020a).

Enfin, au niveau intracellulaire, l'aldéhyde déshydrogénase (ALDH) constitue un marqueur clé. Cette enzyme est fortement active dans les CSC, leur conférant une protection contre le stress oxydatif et une résistance accrue aux agents chimiothérapeutiques (Liu & Wang, 2024b ; Omran et al., 2024). Une activité élevée d'ALDH est associée à un pronostic défavorable dans plusieurs types de cancers, ce qui en fait un marqueur prédictif pertinent pour évaluer la progression tumorale et le risque de récurrence (Tsochantaridis et al., 2023).

1.7. Principales Voies de signalisation impliquées dans les cellules souches cancéreuses

Les cellules souches cancéreuses représentent une sous-population tumorale dotée de propriétés similaires à celles des cellules souches normales, notamment l'auto-renouvellement, la différenciation et une forte résistance aux traitements. Leur maintien est régulé par plusieurs voies de signalisation clés, dont Wnt/ β -caténine, Notch, Hedgehog (Hh) et JAK-STAT. La voie Wnt/ β -caténine joue un rôle central dans la régulation des fonctions des CSC, en particulier l'auto-renouvellement et la différenciation. Elle est activée par la liaison des ligands Wnt aux récepteurs Frizzled et aux co-récepteurs LRP5/6, entraînant l'accumulation de β -caténine dans le cytoplasme puis sa translocation nucléaire, où elle active la transcription de gènes favorisant la prolifération et la survie cellulaires, ainsi que l'expression de marqueurs CSC comme CD24, Prom1, CD44 et ALDH1 (Chu et al., 2024b ; Zeng et al., 2023 ; Bisht et al., 2022a). La voie Notch, hautement conservée, est impliquée dans la prolifération, la survie et l'auto-renouvellement des CSC. Elle repose sur l'interaction entre les récepteurs Notch1 à Notch4 et les ligands Delta-like ou Jagged, entraînant la libération du domaine intracellulaire NICD, qui migre dans le noyau et active des gènes cibles via RBP-J κ , tels que Hes1 et Hey1 (Yang et al., 2020 ; Bisht et al., 2022b ; Huang, Yan et Li, 2021 ; Borlongan et Wang, 2023). La voie Hedgehog (Hh), composée des ligands Shh, Ihh et Dhh, du récepteur PTCH, de la protéine SMO et des facteurs de transcription GLI, intervient dans la différenciation cellulaire et le développement embryonnaire ; son activation aberrante est associée à plusieurs cancers, notamment à travers le maintien du phénotype CSC (Sasai et al., 2019 ; Schulenburg et al., 2015 ; Yang et al., 2020 ; Borlongan et Wang, 2023). Enfin, la voie JAK-STAT est activée par des cytokines ou des interférons qui induisent la phosphorylation des kinases JAK, laquelle active les facteurs STAT. Ces derniers forment des dimères qui régulent l'expression génique après translocation nucléaire. Cette voie, régulée

négativement par des protéines telles que les SOCS, phosphatases et PIAS, lorsqu'elle est dérégulée, favorise la croissance, la survie et la dissémination des CSC (Chu et al., 2024a ; Yang et al., 2020 ; Matsui, 2016 ; Zeng et al., 2023). Ainsi, les voies Wnt/ β -caténine, Notch, Hedgehog et JAK-STAT constituent des cibles thérapeutiques prometteuses, compte tenu de leur rôle déterminant dans le maintien du phénotype des CSC et leur implication dans la résistance aux traitements et les rechutes.

1.8. Cellule souche cancéreuse dans le traitement du cancer

Au cours des dernières décennies, plusieurs stratégies thérapeutiques ont été développées pour lutter contre le cancer, principalement regroupées en trois approches classiques : la chirurgie, la chimiothérapie et la radiothérapie. Toutefois, en pratique clinique, ces traitements se heurtent à de nombreuses limites, notamment à l'un des principaux défis actuels : la résistance thérapeutique associée aux cellules souches cancéreuses (Zeng et al., 2023).

Face à cette problématique, le développement de thérapies ciblant spécifiquement les CSC est devenu une priorité. Les approches actuelles se concentrent sur les biomarqueurs associés aux CSC, comme CD20, CD52, CD44v6, CD123 ou EpCAM. Pour les cibler, les chercheurs ont recours à des anticorps monoclonaux ou à des cellules CAR-T (Chimeric Antigen Receptor T cells), modifiées pour reconnaître ces marqueurs. Le peptide ALDH, marqueur intracellulaire des CSC, est également exploité comme antigène tumoral dans des vaccins à base de cellules dendritiques.

Parallèlement, certaines stratégies visent les voies de signalisation essentielles au maintien et à la survie des CSC, telles que Wnt/ β -caténine, Notch, JAK-STAT, PI3K ou NF- κ B. Ces voies sont ciblées par des anticorps monoclonaux dirigés contre leurs ligands, ou par des inhibiteurs spécifiques, comme les inhibiteurs de la γ -sécrétase, de SMO, de la bêta-caténine ou encore de BCL-2, dans le but de perturber ces cascades moléculaires et d'induire l'apoptose des CSC. La perturbation des interactions entre les CSC et les autres cellules du microenvironnement tumoral est également une piste prometteuse pour limiter leur impact sur la progression tumorale (Li et al., 2023c) (voir figure 1-3).

Malgré ces avancées, les CSC conservent une plasticité phénotypique importante, leur permettant de s'adapter, de résister aux traitements et de recoloniser les tumeurs après rémission. Plusieurs mécanismes leur confèrent cette résistance, notamment l'état de quiescence (phase G0) qui les rend peu sensibles aux agents cytotoxiques, l'activité accrue des pompes d'efflux responsables de l'expulsion des médicaments, ou encore une reprogrammation adaptative face aux stress induits par les traitements. Les CSC au repos, souvent inactives mais persistantes, constituent ainsi un obstacle majeur dans la lutte contre les cancers avancés (Haddadin & Sun, 2025)

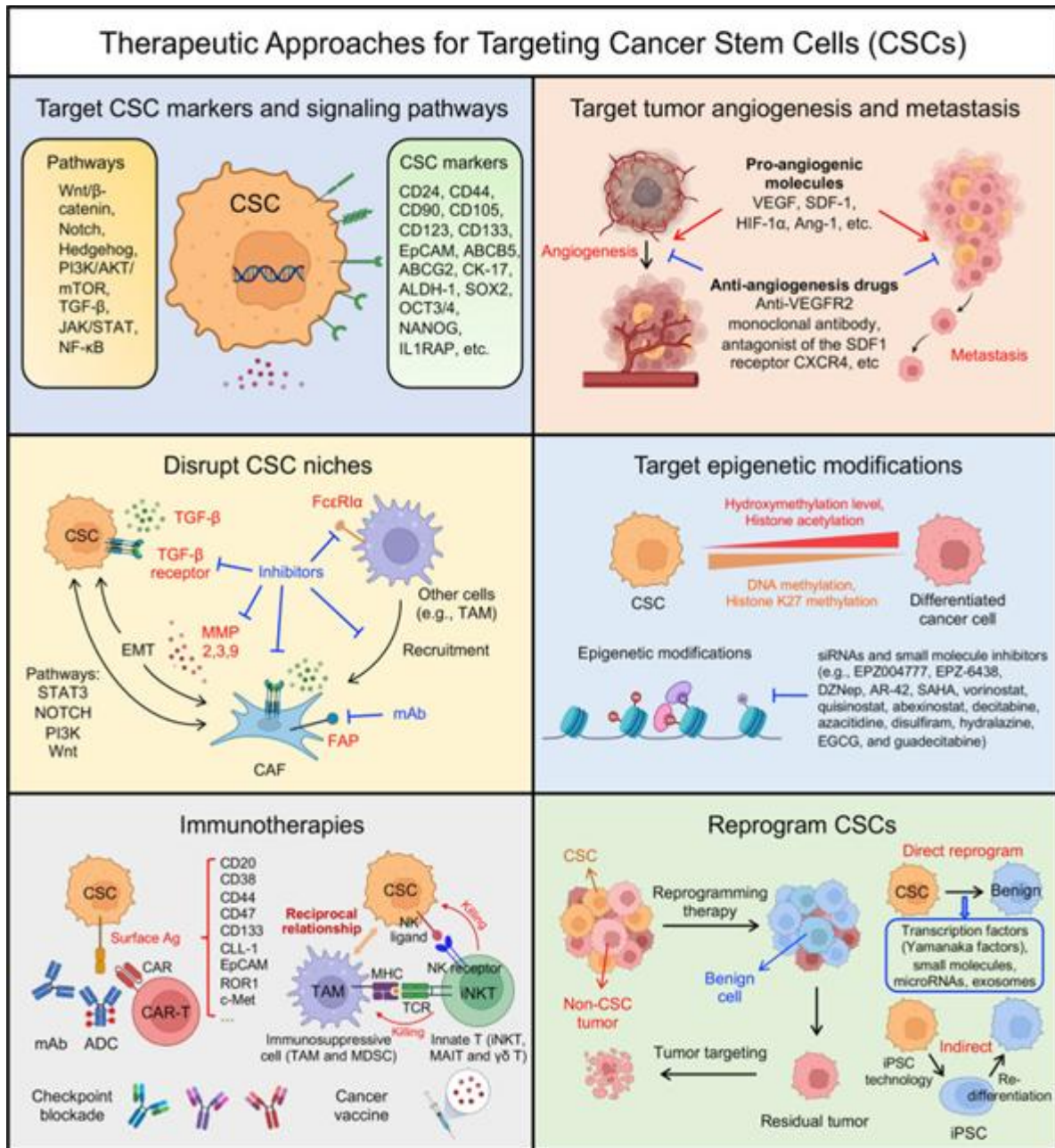


Figure 1.3. Approches thérapeutiques ciblant les cellules souches cancéreuses

2. Bêta-caténine

2.1. Généralité et structure de La bêta-caténine

La bêta-caténine est une protéine multifonctionnelle composée de 781 acides aminés. Elle se divise en trois domaines structuraux principaux : un domaine N-terminal désordonné (N-IDR), un domaine central structuré comprenant 12 répétitions de type Armadillo, et un domaine C-terminal également désordonné (C-IDR) (Stewart et al., 2024). Le domaine N-terminal, constitué d'environ 130 acides aminés, joue un rôle clé dans la régulation de la stabilité de la protéine, en particulier via une région d'interaction avec l' α -caténine. Il contient également des sites de phosphorylation essentiels à la dégradation de la bêta-caténine en l'absence de signal Wnt. La région centrale s'étend sur environ 550 acides aminés et comprend 12 répétitions de type Armadillo, chacune formée de 42 résidus. Ces motifs répétitifs, bien que parfois incomplets, forment un domaine compact impliqué dans les interactions protéine-protéine, notamment avec des partenaires transcriptionnels comme les facteurs TCF/LEF (Huber, Nelson et Weis, 1997). Enfin, la portion C-terminale, d'environ 100 acides aminés, est également désordonnée et intervient dans la régulation transcriptionnelle par le recrutement de coactivateurs ou de Co régulateurs. Ainsi, les trois domaines, N-terminal, Armadillo et C-terminal, confèrent à la bêta-caténine une plasticité fonctionnelle importante, lui permettant d'interagir avec de nombreux cofacteurs en fonction de sa localisation cellulaire et de l'activation de la voie Wnt (Pan et al., 2021b)

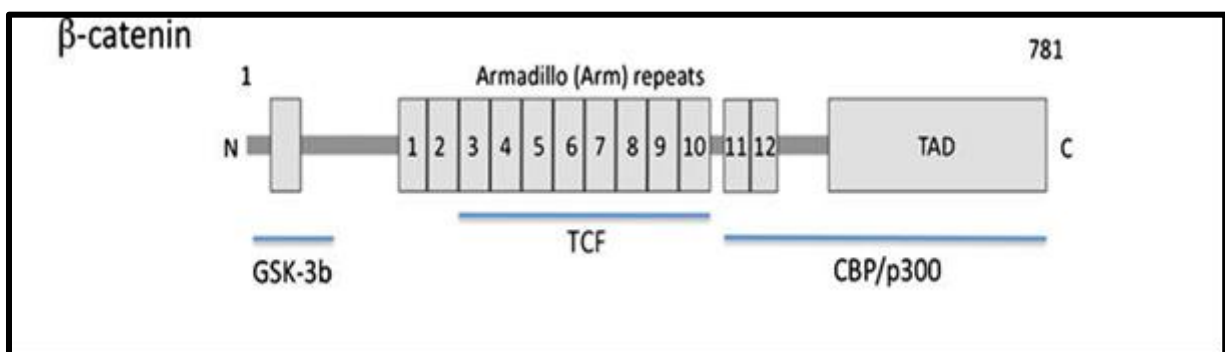


Figure 1.4. Montre la structure de la beta -Caténine

2.2. Rôle de La bêta-caténine dans les cellules souches cancéreuses

La bêta-caténine joue un rôle central dans la progression tumorale et dans le maintien des cellules souches cancéreuses (CSC). Des études ont montré que certaines mutations faux-sens du gène TP53, fréquemment retrouvées dans les cancers, peuvent stimuler la voie de signalisation Wnt/ β -caténine, favorisant ainsi l'envahissement tumoral, comme cela a été

Chapitre 1. Revue de la littérature

observé dans des modèles murins de cancer colorectal. À l'inverse, une surexpression de la forme sauvage de p53 entraîne une diminution de l'expression de la bêta-caténine dans des cellules humaines et murines, indiquant une régulation croisée entre les voies Wnt et p53 (Dev et Prasad, 2023). Certaines altérations génétiques spécifiques à un tissu donné influencent donc de manière synergique ces deux voies majeures.

Le laboratoire de Huelsken a mis en évidence des similitudes frappantes entre les cellules souches normales de la peau et les CSC isolées de tumeurs épidermiques murines induites par des agents carcinogènes. Ces CSC présentaient une activation élevée de la voie Wnt/ β -caténine, et une délétion conditionnelle de la bêta-caténine a permis d'éliminer cette population, entraînant une régression complète des tumeurs (Malanchi et al., 2008 ; Polakis, 2012). Ces observations soulignent l'importance fonctionnelle de la bêta-caténine dans la survie et l'auto-renouvellement des CSC.

Dans certaines tumeurs, l'activation anormale de la voie Wnt/ β -caténine peut résulter soit de mutations du gène APC, responsable de la dégradation de la bêta-caténine, soit de mutations activatrices de la bêta-caténine elle-même, la rendant plus stable et résistante à la dégradation protéasome (Behrens, 2000). Ces altérations contribuent à une accumulation nucléaire de la protéine, où elle active la transcription de gènes impliqués dans la croissance et la survie tumorales.

2.3. Voie de signalisation Wnt/ β -Catenin

La voie de signalisation Wnt/ β -caténine joue un rôle fondamental dans la régulation des propriétés des cellules souches, telles que l'auto-renouvellement, la prolifération et la différenciation, que ce soit dans un contexte physiologique ou tumoral (Chu et al., 2024b). Cette voie se divise en deux grandes branches : la voie canonique, dépendante de la bêta-caténine, et la voie non canonique, indépendante de cette protéine (Haddadin et Sun, 2025 ; Yang et al., 2020a).

La voie canonique Wnt/ β -caténine est impliquée dans le maintien de l'auto-renouvellement des cellules souches et dans la régulation de la prolifération et de la différenciation des cellules progénitrices. En revanche, les voies non canoniques Wnt sont impliquées dans la polarité cellulaire, la division asymétrique et la migration, jouant un rôle crucial dans l'homéostasie tissulaire et la dynamique tumorale (Matsui, 2016).

Dans le mécanisme canonique, l'activation commence par la liaison des ligands Wnt aux récepteurs de la famille Frizzled et aux co-récepteurs LRP5/6. Cette interaction inhibe le complexe de destruction constitué d'Axin, APC, GSK-3 β et CK1, ce qui permet la stabilisation de la bêta-caténine dans le cytoplasme. Une fois stabilisée, la bêta-caténine migre vers le noyau où elle s'associe aux facteurs de transcription TCF/LEF, activant l'expression de gènes

Chapitre 1. Revue de la littérature

impliqués dans la croissance, la survie et la maintenance des CSC. Plusieurs marqueurs de CSC, tels que CD24, CD44, PROM1 (CD133) et ALDH1, sont directement régulés par cette voie, contribuant à l'agressivité tumorale (Yang et al., 2020a).

L'activation aberrante de la voie Wnt/ β -caténine est fréquemment observée dans divers cancers humains. Pour cette raison, plusieurs approches thérapeutiques sont actuellement à l'étude, ciblant les différents éléments de la cascade Wnt. Ces stratégies incluent l'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-FZD, anti-ROR1, anti-RSPO3, ainsi que des inhibiteurs de petites molécules tels que les inhibiteurs de PORCN ou de β -caténine elle-même (Zeng et al., 2023 ; Bisht et al., 2022a).

Les médicaments ciblant cette voie peuvent être classés en deux grandes catégories : les inhibiteurs de petites molécules (SMI) et les anticorps monoclonaux (mAb). Ces traitements ciblés présentent une spécificité accrue et induisent généralement moins d'effets secondaires que les chimiothérapies conventionnelles, ce qui en fait des candidats prometteurs pour les futures thérapies anticancéreuses (Yu et al., 2021).

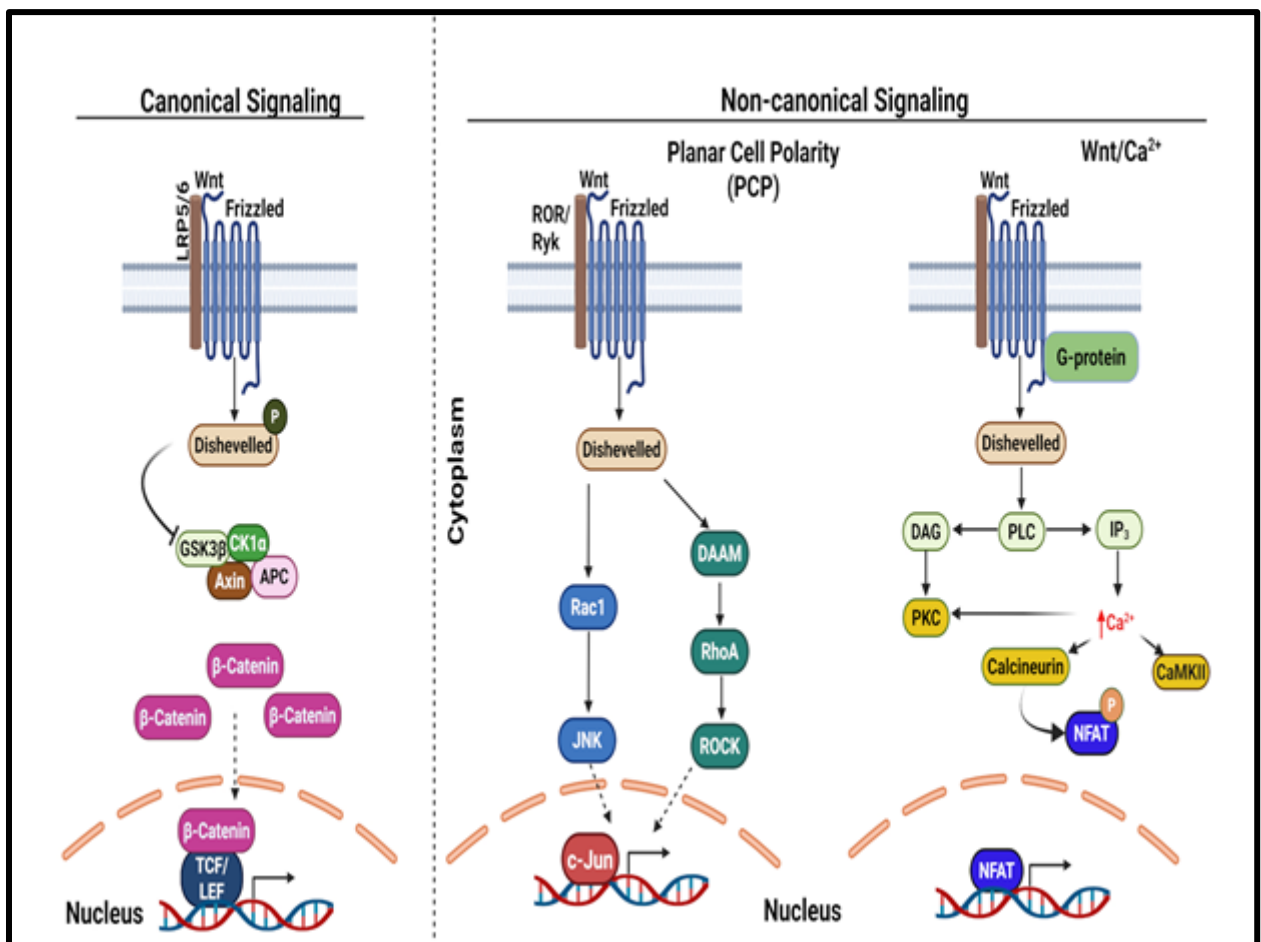


Figure 1.5. Montrent Voies de signalisation Wnt canoniques et non canoniques

3. Vitamine D

3.1. Définition

Découverte au début du XXe siècle et d'abord classée comme une vitamine, la vitamine D est aujourd'hui reconnue comme une pro-hormone. Un aspect distinctif de la vitamine D réside dans sa capacité à être synthétisée par l'organisme humain sous l'influence des rayons ultraviolets B (UVB) (Calcium et al., 2011). Il existe deux formes principales de vitamine D : la vitamine D2 (ergocalciférol) et la vitamine D3 (cholécalfiérol). La vitamine D3 est produite dans la peau humaine à partir du 7-déhydrocholestérol lorsqu'elle est exposée aux rayons UVB, tandis que la vitamine D2 provient de sources végétales, comme les champignons comestibles exposés aux UVB (Seraphin et al., 2023).

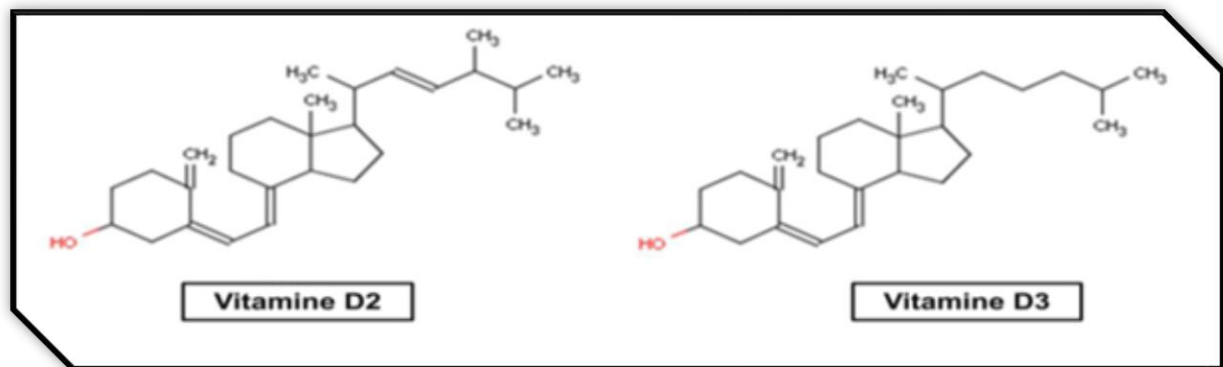


Figure 1.6. Structure chimique de la vitamine D2 (ergocalciférol) et de la vitamine D3

3.2. Structure de la vitamine D

La vitamine D est une molécule liposoluble appartenant à la famille des sécostéroïdes, caractérisés par une structure similaire à celle des stéroïdes, mais comportant une cassure dans l'un des cycles. (Jones, 2008) Sur le plan structural, la vitamine D dérive du cholestérol. Elle possède un noyau sécostéroïde composé de trois cycles fusionnés (A, C et D) et un cycle B ouvert, ce qui constitue une différence majeure par rapport aux stéroïdes classiques. La forme active, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, se distingue par la présence de deux groupes hydroxyles supplémentaires en position 1α et 25, qui sont essentiels pour son affinité avec le récepteur nucléaire VDR et pour ses fonctions régulatrices sur l'expression génétique (DeLuca, 2004). Les deux formes présentent une structure hydrophobe.

3.3. Aliments riches en vitamine D

Les sources alimentaires de vitamine D3 sont relativement limitées. Elle se retrouve principalement dans les huiles de foie de poissons, ainsi que dans certains poissons gras comme le saumon, la sardine et le hareng (Landrier, 2014). Le jaune d'œuf, ainsi que

Chapitre 1. Revue de la littérature

certains champignons tels que les girolles, les cèpes et les morilles, en contiennent également, de même que certaines céréales. Par ailleurs, les produits laitiers enrichis en vitamine D constituent une autre source importante.

3.4. Métabolisme de la vitamine D

La vitamine D se distingue des autres nutriments par sa double origine : elle peut être acquise par l'alimentation ou produite de manière endogène par l'organisme. Cette biosynthèse débute principalement dans la peau, où, sous l'effet des rayons ultraviolets B (UVB, 290 à 320 nm), le 7-déhydrocholestérol est transformé en prévitamine D, qui se convertit spontanément en vitamine D (Brannon et Fleet, 2011). Les formes D2 et D3 de la vitamine D sont biologiquement inactives et doivent subir deux hydroxylations successifs pour devenir actives. La première hydroxylation a lieu dans le foie, où des enzymes du cytochrome P450 situées dans le réticulum endoplasmique convertissent la vitamine D en 25-hydroxyvitamine D [25(OH)D], également appelée calcidiol. Il s'agit de la principale forme circulante de la vitamine D, avec une demi-vie de 2 à 3 semaines (Tissandié et al., 2006).

La seconde hydroxylation se déroule dans les reins, où la 25(OH)D est transformée en 1,25-dihydroxyvitamine D [1,25(OH)₂D], ou calcitriol, forme biologiquement active de la vitamine D. Ce processus est catalysé par l'enzyme 1-alpha-hydroxylase et régulé par plusieurs facteurs, dont l'hormone parathyroïdienne (PTH), l'hypophosphatémie et la FGF23 (Chang et Lee, 2019).

Une fois activée, la 1,25(OH)₂D agit comme une hormone stéroïdienne en se liant à son récepteur nucléaire, le VDR, qui forme un hétérodimère avec le récepteur des rétinoïdes RXR. Ce complexe se fixe sur des éléments de réponse à la vitamine D (VDRE) présents dans l'ADN, régulant ainsi l'expression de nombreux gènes. Grâce à ce mécanisme, la vitamine D joue un rôle central dans le maintien de l'homéostasie calcique et phosphorée, la minéralisation osseuse, ainsi que dans la régulation de la croissance cellulaire, de la différenciation et des fonctions immunitaires (Anilkumar et al., 2024). Une partie de la vitamine D est également stockée dans les tissus adipeux, contribuant à ses réserves corporelles (Calcium et al., 2011).

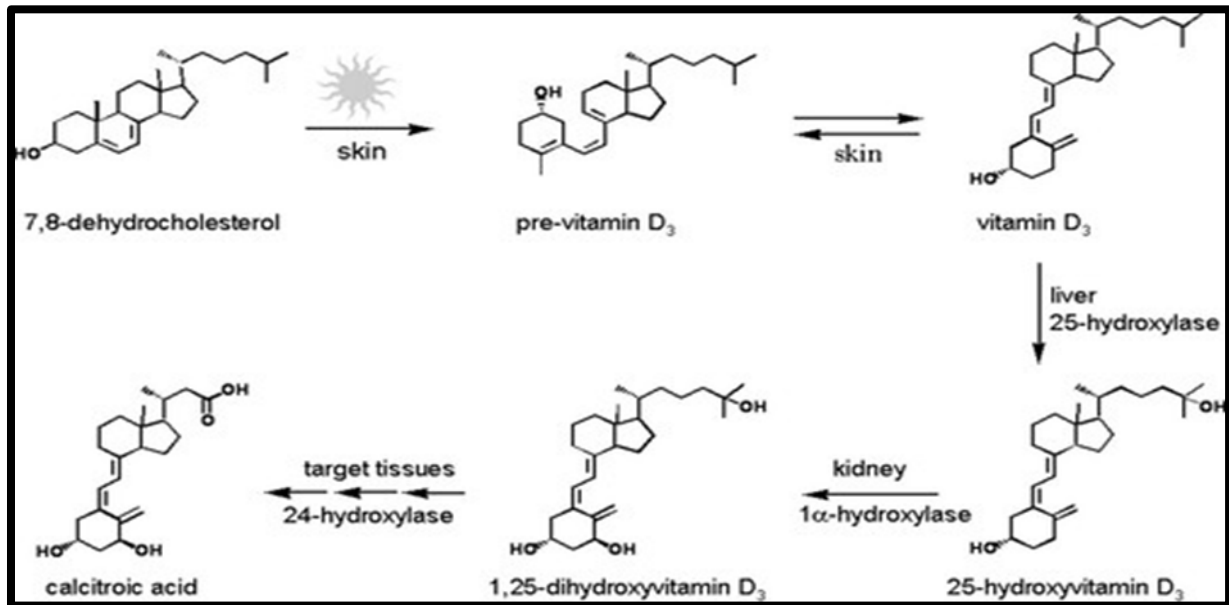


Figure 1.7. Structure chimique de la vitamine D au cours du métabolisme

3.5. Vitamine D et le cancer

Dans de nombreux types de cellules tumorales, la forme active de la vitamine D, le 1,25-dihydroxycholécalfiférol [1,25(OH)₂D₃], interrompt directement le cycle cellulaire au stade G0/G1 en modulant l'activité des kinases dépendantes des cyclines (CDK4, CDK6), en inhibant l'expression des gènes codant pour les cyclines D1 et C (CCND1, CCNC), et en régulant négativement les inhibiteurs de CDK tels que p21^{CIP1}/WAF1 (CDKN1A) (Dusso, Brown et Slatopolsky, 2005). Dans le cas du carcinome mammaire et des cellules cancéreuses anaplasiques de la thyroïde, le 1,25(OH)₂D₃ induit un arrêt du cycle au niveau de la phase G2/M, probablement par une réduction de l'activité de la CDK2, causée par le blocage du facteur E2F via la protéine Rb non phosphorylée (Muñoz et Grant, 2022a).

De plus, le 1,25(OH)₂D₃ exerce un effet antiprolifératif notable sur les cellules cancéreuses du sein en inhibant la production ainsi que la transmission des signaux œstrogéniques via le récepteur des œstrogènes α (ERα). Il régule également négativement l'expression de RAS et diminue la phosphorylation de ses effecteurs en aval, notamment MEK et ERK1/2 (Muñoz et Grant, 2022b).

Par ailleurs, le 1,25(OH)₂D₃ réduit la capacité des cellules tumorales à migrer et à envahir les tissus environnants. Cette action est en partie due à la régulation négative de la laminine, une protéine de la matrice extracellulaire, et à l'augmentation de l'expression de l'E-cadhérine, une molécule d'adhésion cellulaire qui limite les interactions entre cellules cancéreuses et cellules endothéliales, freinant ainsi leur dissémination. Enfin, cette forme active de la vitamine D

diminue l'expression de CEACAM1 (molécule d'adhésion cellulaire associée à l'antigène carcinoembryonnaire 1) par les cellules endothéliales, contribuant ainsi à réduire la capacité des cellules tumorales à se fixer sur l'endothélium vasculaire (Bikle, 2014).

3.6. Vitamine D et la Voie de signalisation Wnt/ β -caténine

Plusieurs études ont mis en évidence un lien important entre la vitamine D et la régulation de la voie de signalisation Wnt/ β -caténine, particulièrement dans les cellules cancéreuses. Zheng et ses collaborateurs ont observé que l'augmentation de l'expression du récepteur de la vitamine D (VDR) au sein d'une sous-population de cellules souches enrichies dans les cellules cancéreuses mammaires MCF-7 entraîne une inhibition de la voie Wnt/ β -caténine, tout en rendant ces cellules plus sensibles au traitement par le tamoxifène. Toutefois, de manière inattendue, une autre étude a montré que la diminution stable de l'expression de VDR dans les cellules mammaires MDA-MB-231 conduit également à une baisse de l'activité de cette même voie (González-Sancho, Larriba et Muñoz, 2020), suggérant que l'effet du VDR peut varier selon le contexte cellulaire.

La bêta-caténine, lorsqu'elle s'accumule dans le noyau, initie la transcription de gènes cibles tels que c-myc, les métalloprotéinases matricielles (MMPs) et la cycline D1, favorisant ainsi la prolifération et l'invasion tumorale. Une fois activé par son ligand, le VDR pourrait empêcher cette translocation nucléaire de la bêta-caténine, inhibant ainsi la croissance des cellules cancéreuses gastriques et limitant leur capacité à migrer et à envahir les tissus, notamment en régulant négativement l'expression de la bêta-caténine et en stimulant l'expression de l'E-cadhérine.

Par ailleurs, Zhang et ses collègues (2023) ont démontré que dans les cellules cancéreuses gastriques, la surexpression du VDR diminue l'expression de la bêta-caténine et inhibe significativement la prolifération cellulaire, tandis que la réduction du VDR induit l'effet inverse. De plus, la surexpression de VDR empêche l'accumulation nucléaire de la bêta-caténine, entraînant une réduction de l'expression de gènes prolifératifs tels que la cycline D1 et LEF-1, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*. Le mécanisme semble impliquer une interaction entre le VDR et la bêta-caténine, qui favorise l'exportation de cette dernière vers le cytoplasme, réduisant ainsi son activité transcriptionnelle. Ce phénomène confirme que la bêta-caténine agit en aval de la signalisation VDR, laquelle exerce un rôle inhibiteur direct sur la voie Wnt/ β -caténine (Yu et al., 2023)

4. Docking Moléculaire

4.1. Définition

Le docking moléculaire est une technique de modélisation computationnelle permettant de prédire la manière dont deux molécules interagissent, en générant un modèle de leur complexation (Meng et al., 2011). Cette méthode est particulièrement précieuse dans la découverte de nouveaux médicaments, notamment pour étudier les interactions entre une petite molécule, appelée ligand, et une macromolécule cible, telle qu'une protéine. Plus récemment, le docking a aussi été appliqué à l'analyse des interactions entre deux macromolécules, comme dans le cas du docking protéine-protéine (Mohanty et Mohanty, 2023).

Le processus de docking comporte généralement trois étapes principales. Tout d'abord, il est nécessaire de préparer le ligand et la macromolécule à l'aide de champs de force qui modélisent leur surface, leurs charges et les cavités susceptibles de servir de sites de liaison. Ensuite, le type d'amarrage est défini : il peut être rigide, où les structures des partenaires restent fixes, ou flexible, permettant des ajustements conformationnels pendant l'interaction. Enfin, une stratégie de recherche est mise en place pour explorer les différentes conformations du ligand, pouvant être systématique ou stochastique (Agoni et al., 2025). L'objectif de cette technique est d'identifier la meilleure orientation et conformation du ligand au sein du site actif de la cible, de manière à minimiser l'énergie libre du complexe formé, ce qui reflète une interaction stable et potentiellement bioactive (Pinzi et Rastelli, 2019).

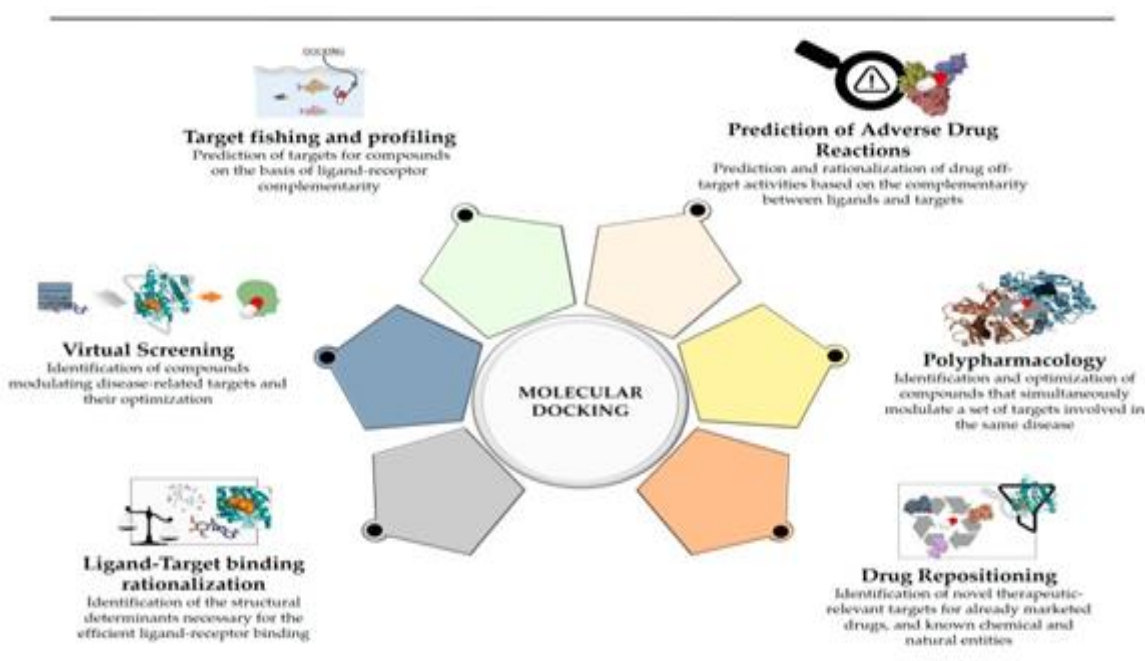


Figure 1.8. Principales applications du Docking moléculaire

4.2. Types de Docking

Selon le degré de flexibilité des molécules impliquées dans l'interaction, qu'il s'agisse du récepteur ou du ligand, on distingue trois principales approches de Docking moléculaire : le Docking rigide, le Docking semi-flexible (ou flexible-rigide), et le Docking entièrement flexible.

4.2.1. Docking rigide

Dans cette approche, les deux partenaires moléculaires, à savoir le ligand et le récepteur, sont considérés comme des structures rigides, c'est-à-dire que leur conformation reste fixe tout au long du processus d'interaction. La géométrie interne de chaque molécule n'est pas modifiée, et seules leurs positions relatives sont explorées.

Cette méthode, bien que rapide sur le plan computationnel, présente des limites importantes en termes de précision, car elle ne prend pas en compte la flexibilité naturelle des biomolécules. Elle est aujourd'hui rarement utilisée pour les études fines d'interactions protéine-ligand, mais peut encore être pertinente pour des cas simples ou des complexes macromoléculaires comme les dimères protéiques (Meng et al., 2011 ; Pinzi et Rastelli, 2019).

4.2.2. Docking flexible-rigide (semi-flexible)

Dans le Docking semi-flexible, la flexibilité est attribuée uniquement au ligand, tandis que la structure du récepteur est maintenue rigide. Cette configuration permet d'explorer différentes conformations du ligand en autorisant la rotation de ses liaisons internes, ce qui améliore la prédiction de son mode de liaison tout en limitant les besoins en ressources

Computationnelles. Cette approche représente un bon compromis entre précision et coût de calcul. Elle est largement utilisée dans les études de criblage virtuel et de découverte de médicaments. En effet, elle permet d'identifier des interactions pertinentes tout en maintenant une modélisation réaliste de la molécule cible (Chen, Seukep et Guo, 2020 ; Mohanty et Mohanty, 2023).

4.2.3. Docking flexible

Le Docking flexible représente l'approche la plus avancée du point de vue de la précision, car il autorise la flexibilité à la fois du ligand et du récepteur durant le processus d'ancrage. Cette flexibilité peut concerner les chaînes latérales, les boucles ou même la colonne vertébrale de la protéine, ce qui permet de mieux reproduire les conditions réelles d'interaction moléculaire (Mohanty et Mohanty, 2023).

Chapitre 1. Revue de la littérature

La stratégie peut reposer sur l'exploration de plusieurs conformations du récepteur, connue sous le nom de "Docking sur ensemble", afin d'augmenter la pertinence des prédictions.

Ce type de simulation permet une analyse fine des interactions, notamment dans les cas où la structure du site actif est dynamique ou difficile à cristalliser (Chen et al., 2020).

Par ailleurs, certaines approches comme le "soft Docking" modifient artificiellement les surfaces moléculaires pour permettre une légère interpénétration ou assouplir les contraintes stériques. Cela améliore l'adéquation entre le ligand et le récepteur, offrant une représentation plus réaliste de leurs interactions. En permettant aux deux partenaires moléculaires de s'adapter mutuellement, le Docking flexible augmente considérablement les chances d'identifier les conformations les plus stables et biologiquement pertinentes (Meng et al., 2011).

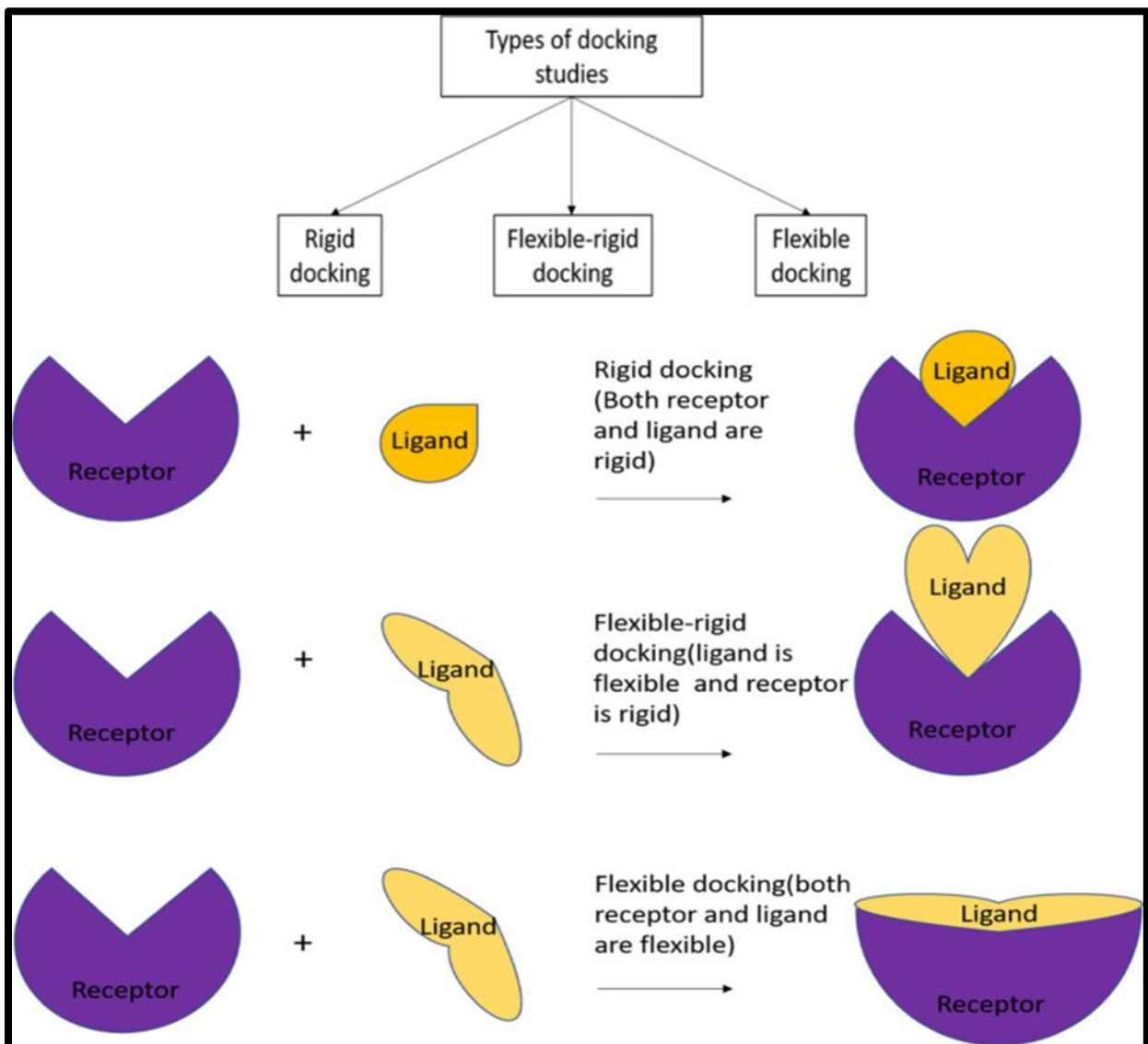


Figure 1.9. Différents types d'études de Docking basées sur la flexibilité des récepteurs/ligands considérés en interaction moléculaire

4.3. Outils de Docking

Le processus de Docking moléculaire repose sur l'interaction entre deux entités principales : le récepteur, généralement une protéine, et le ligand, une petite molécule biologique ou chimique. La précision et la pertinence des simulations dépendent fortement de la qualité des structures utilisées ainsi que de la nature de leurs interactions.

4.3.1. Récepteurs

Les récepteurs sont des macromolécules, le plus souvent des protéines, capables de reconnaître et de se lier spécifiquement à une molécule cible appelée ligand. Cette interaction est généralement non covalente, temporaire et dépendante de la complémentarité structurale et chimique entre les deux partenaires (Jones, 2022). Dans le contexte du Docking, le récepteur constitue la cible sur laquelle le ligand viendra s'ancrer pour moduler une fonction biologique.

4.3.2. Ligands

Un ligand est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule, tel qu'un récepteur protéique. Cette liaison peut induire divers effets intracellulaires, comme la régulation de l'expression génique (transcription et traduction), l'activation de cascades de signalisation, ou encore des changements de conformation de la cellule (Agu et al., 2023). En modifiant ces processus, le ligand peut agir comme un activateur ou un inhibiteur de fonctions cellulaires spécifiques, ce qui en fait une cible clé dans le développement de nouveaux traitements thérapeutiques.

4.4. Fonctions de scoring

Les fonctions de scoring sont utilisées dans le Docking moléculaire pour évaluer la qualité des interactions entre une protéine (récepteur) et un ligand. Leur objectif est de distinguer les poses correctes des poses incorrectes, de classer les composés actifs par rapport aux inactifs, tout en maintenant un temps de calcul raisonnable. Ces fonctions fournissent une estimation de l'affinité de liaison, sans viser une précision absolue, en s'appuyant sur certaines hypothèses et simplifications.

On peut les regrouper en trois grandes catégories :

- Les fonctions basées sur les champs de force, qui calculent l'énergie des interactions physiques entre les molécules (forces de van der Waals, interactions électrostatiques, etc.).
- Les fonctions empiriques, qui combinent plusieurs paramètres issus de données expérimentales pour estimer l'affinité.
- Les fonctions basées sur les connaissances, qui reposent sur des statistiques dérivées de structures connues de complexes ligand-récepteur.

Chapitre 1. Revue de la littérature

Parmi les outils de docking intégrant ces fonctions, on peut citer ZDOCK, RosettaDock et HADDOCK (High Ambiguity Driven Biomolecular Docking), chacun utilisant des approches spécifiques pour évaluer et classer les complexes formés (Meng et al., 2011 ; Chen et al., 2020).

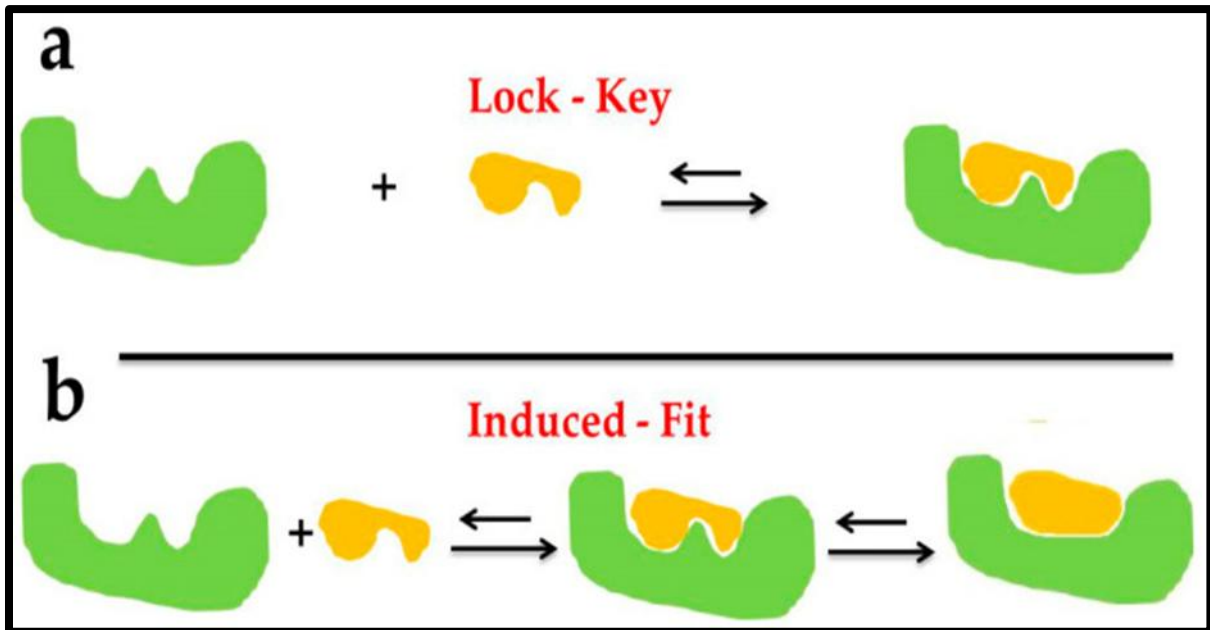


Figure 1.10. Types d'amarrage du modèle Lock-Key

4.5. Logiciel de Docking moléculaire

Le premier logiciel de Docking moléculaire a été développé dans les années 1980 par Irwin Kuntz à l'Université de Californie (Agu et al. 2023). Depuis, de nombreux outils ont été créés pour modéliser les interactions entre ligands et protéines, ainsi que celles impliquant des protéines, l'ADN ou l'ARN (Chen et al. 2020). Parmi les programmes les plus utilisés figurent AutoDock Vina, 3D-DOCK, LeDock, rDock, UCSF DOCK, Surflex, HEX, FlexX, ArgusLab et Discovery Studio. Ces logiciels sont souvent choisis selon la nature des molécules étudiées et la précision attendue.