

République Algérienne Démocratique et populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

تلمسان جامعة أبو بكر بلقايد

Université ABOU BEKR BELKAID –TLEMCEM

كلية علوم الطبيعية والحياة وعلوم الأرض والكون

Facultés des sciences de la Nature et de la Vie, et sciences de la Terre et de l'univers

Département de Biologie



## Mémoire

Présenté par :

**Rahmani hadjira nour elhouda**

**Rabahi Manel**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En immunologie

**Thème**

**Analyse *in silico* des SNPs à conséquences structurelles et fonctionnelles sur CD47**

**Prédiction des modifications post-traductionnelles et modélisation moléculaire**

Soutenu le **29/6/2025** devant le jury composé de :

Présidente	Dr. Hadj Merabet Djahida	MCA	Université de Tlemcen
Encadrante	Dr. Hadjidj Zeyneb	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice	Dr. Dahou Sara	MAB	Université de Tlemcen

**Année universitaire 2024/2025**

République Algérienne Démocratique et populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

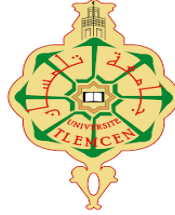
تلمسان جامعة أبو بكر بلقايد

Université ABOU BEKR BELKAID –TLEMCEM

كلية علوم الطبيعية والحياة وعلوم الأرض والكون

Facultés des sciences de la Nature et de la Vie, et sciences de la Terre et de l'univers

Département de Biologie



## Mémoire

Présenté par :

**Rahmani hadjira nour elhouda**

**Rabahi Manel**

*En vue de l'obtention*

### Diplôme de MASTER

En immunologie

#### Thème

**Analyse *in silico* des SNPs à conséquences structurelles et fonctionnelles sur CD47**

**Prédiction des modifications post-traductionnelles et modélisation moléculaire**

Soutenu le **29/6/2025** devant le jury composé :

Présidente	Dr. Hadj Merabet Djahida	MCA	Université de Tlemcen
Encadrante	Dr. Hadjidj Zeyneb	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice	Dr. Dahou Sara	MAB	Université de Tlemcen

**Année universitaire 2024/2025**

# *Dédicace*

Tout d'abord je tiens à remercier **Dieu**.

De m'avoir donné la force et le courage de mener

À bien ce modeste travail.

Je tiens à dédier cet humble travail à :

- ❖ Ma tendre mère **Zoulikha** merci pour ton amour, ton soutien et les sacrifices, ce travail t'est dédié, de tout cœur.
- ❖ Mon père **Mohamed** merci pour ton soutien et ton accompagnement tout au long de mon parcours scolaire.
- ❖ Mon très cher père **Abdellah**, toute ma gratitude pour ton soutien constant.
- ❖ Mon tante bien aimée **Yamina** et à mon oncle **Brahim**, pour leur tendresse inépuisable et leur soutien constant.

Aucun mot ne saurait exprimer la gratitude, l'amour la reconnaissance et le respect que j'ai pour vous.

À tous ma famille et mes amis.

À mon binôme **Manel** pour les souvenirs pendant les années d'étude ensemble.

Tous ce qui m'aiment et que j'aime.

**Hadjira nour elhouda**

## *Dédicace*

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, je dédie mon travail :

À mes très chers PARENTS, mes raisons de vivre et mes symboles de joie, un signe d'amour, de reconnaissance et de gratitude pour tous les soutiens et les sacrifices dont ils ont fait preuve à mon égard.

À mes très chères **SŒURS DOUNIA, INES**, et ma puce **DOUAA** qui m'ont toujours soutenu

À ma jolie collègue **NOUR EL HOUDA** qui m'a soutenu et aidé dans ce travail.

À mes amies : **RANIA, MAROUA, CHAFYA** et **NASIRA** qui j'ai toujours trouvé le soutien et le réconfort.

À tous la promotion immunologie 2025

**MANEL**

### Résumé

**Introduction** : dans cette étude, nous avons réalisé des analyses *in silico* des single nucleotide polymorphisms (SNPs) ayant des conséquences fonctionnelles et structurelles sur la protéine CD47 dans le contexte du cancer. Nous avons réalisé des prédictions des modifications post-traductionnelles associées aux SNPs identifiés comme potentiellement délétères, ainsi que la modélisation moléculaire des structures tridimensionnelles des protéines pour une visualisation plus précise des altérations.

**Matériels et méthodes** : Nous avons exploité plusieurs outils bioinformatiques tels que GPS 6.0, MusiteDeep, NetPhos 3.1, GPS-MSP, GPS-Uber, iCarPS, DeepNitro, GPS-YNO2, GPS-SNO1.0 pour prédire les modifications post-traductionnelles. Par la suite nous avons utilisé les logiciels Phyre2 et SWISS-MODEL pour réaliser la modélisation moléculaire de la protéine mutée et ERRAT/PROCHECK pour évaluer la qualité de nos résultats.

**Résultats** : Nos résultats indiquent que certaines variations dans la protéine CD47 (G274S, G255E, V214G, G209V) peuvent potentiellement induire diverses modifications post-traductionnelles telles que la phosphorylation et la méthylation et l'ubiquitination.

**Conclusion** : En conclusion notre étude *in silico* fournit une base préliminaire concernant l'impact possible de ces SNPs sur la protéine CD47 dans le contexte du cancer. Ces résultats pourront être utilisés comme base de départ pour des études expérimentales visant à valider l'effet de ces SNPs sur les protéines et leur rôle dans le développement de cette maladie.

**Mot clé** : CD47, modélisation des protéines, modification post-traductionnelles, nsSNP

### Abstract

**Background** : in this study, we performed *in silico* analyses of single nucleotide polymorphisms (SNPs) with functional consequences on the CD47 protein in the context of cancer. We predicted post-translational modifications associated with SNPs identified as potentially deleterious, and conducted three-dimensional molecular modeling of the protein structure to enable a more precise visualization of the resulting alterations.

**Materials and methods** : we used several bioinformatics tools, including GPS 6.0, MusiteDeep, NetPhos3.1, GPS-MSP, GPS-Uber, iCarPS, DeepNitro, GPS-YNO2, and GPS-SNO1, to predict post-translational modifications. Then we used Phyre2 and SWISS-MODEL to perform molecular modeling of the mutated protein, and ERRAT/PROCHECK to evaluate the quality of the resulting structures.

**Results** : our results indicate that certain variations in the CD47 protein (G274S, G255E, V214G, G209V) may potentially induce various post-translational modifications such as phosphorylation and methylation.

**Conclusion** : our *in silico* study provides an interesting preliminary basis regarding the possible impact of some SNPs on the CD47 protein in the context of cancer. These results could be used as a starting point for experimental studies aimed at validating the effect of these SNPs on proteins and their role in disease development.

**Keywords** : CD47, protein modeling, post-translational modifications, nsSNP

## ملخص

**مقدمة:** في هذه الدراسة الجديدة، قمنا بإجراء تحليلات حاسوبية لتحديد اختلافات وراثية في نيكليوتيد الواحد (single nucleotide polymorphisms SNPs) التي لها عواقب وظيفية على بروتين CD47 في سياق السرطان. استخدمنا تحليل التغيرات المشاركة في مرحلة ما بعد الترجمة المصادقة بهذه ال SNPs التي تحدد كاحتمالات متغيرة، بالإضافة إلى نمذجة هذه المستضدات ثلاثية الأبعاد لتصوير أكثر دقة للاختلاف.

**المواد والأساليب:** لقد استغلنا العديد من أساليب حاسوب علم الاحياء مثل GPS 6.0 و MusiteDeep و NetPhos 3 في مرحلة ما بعد الترجمة، ثم قمنا باستخدام م برامج Phyr2 و SWISS-MODEL لتحقيق نمذجة مولكو لرية لهذه البروتين المحدثة و ERRAT/PROCHECK لتقييم جودة النتائج

اظهرت نتائجنا إلى أن بعض الاختلافات في مناطق تشفير البروتين CD47 (G214V، G255E، G274S) ، G209V) يمكن أن تؤدي إلى ظهور تغيرات ما بعد الترجمة مثل الفسفرة والميثيل.

**في الختام،** خلاصة هذه الدراسة هو إعطاء قاعدة أولية تتعلق بالتأثير المحتمل لبعض SNPs على البروتين CD47 في سياق السرطان. يمكن استخدام هذه النتائج كأساس للانطلاق في الدراسات التجريبية الواضحة للتحقق من تأثير هذه SNPs على البروتينات ودورها في تطور هذه الأمراض.

**الكلمات المفتاحية:** CD47 نمذجة البروتين، تعديلات ما بعد الترجمة، SNPs

# *Remerciements*

Avant tout nous remercions "Allah" Tout Puissant

Qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce Travail.

Merci de nous avoir éclairés le chemin de la réussite. Une tendre pensée à nos familles pour leur soutien constant tout au long de ce parcours.

Nous tenons à remercier notre encadrante, **Docteur Hadjidj Zeyneb**, pour avoir acceptés de diriger notre travail, pour sa rigueur scientifique, son aide, sa gentillesse et ses encouragements, qui ont constitué un apport considérable à l'aboutissement de ce mémoire

Nous exprimons notre plus profonde gratitude au **Professeur ARIBI Mourad**, Professeur à l'université de Tlemcen, responsable d'immunologie

Nous remercions également **Dr. Hadj Mrabet Djahida** et **Dr. Sara Dahou**, enseignants-chercheurs à l'université de Tlemcen, pour avoir accepté de faire partie de ce jury en tant qu'examineurs.

Nos vifs remerciements s'adressent également à l'ensemble de l'équipe du laboratoire de recherches de BIOMOLIM.

Enfin, Nos remerciements les plus sincères vont à toutes les personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année.

Merci à tous et à toutes.

## Liste d'abréviation

---

### Liste d'abréviations

**AMPc** : Adenosin monophosphat cyclique, Adénosine monophosphate cyclique

**BNIP3** : BCL2 Interacting protein 3, Protéine 3 d'interaction BCL2

**BCR** : B cell receptor, Récepteur des lymphocytes T

**CCR** : Colorectal cancer, Cancer colorectal

**CD14** : Cluster of différenciation 14, Cluster de différenciation 14

**CD36** : Cluster of différenciation 36, Cluster de différenciation 36

**CD47** : Cluster of différenciation 47, Cluster de différenciation 47

**CSC** : Cancer Stem cells, Cellules souches cancéreuses

**DC** : Dendritic cells, Cellules dendritiques

**DRP1** : Dynamine Related protein, Protéine apparentée à la dynamine

**EGFR** : Epidermal Factor Receptor, Récepteur du facteur épidermique

**FAS (CD95)** : cluster of différenciation 95, Cluster de différenciation 95

**FoxP3** : Forkhead box

**Gi Proteins** : G inhibitory Proteins, Protéines inhibitrices de G

**HER2<sup>+</sup>** : Human Epidermal Growth Factor Receptor, Récepteur du facteur de croissance épidermique humaine

**IAP** : Intégrine-Associated Protein, Protéine associée à l'intégrine

**ITIM** : Immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif, Motif inhibiteur basé sur la tyrosine des immunorécepteurs

**L'IFN- $\gamma$**  : Interféron-gamma

**MAPK** : Mitogen-Activated protein kinase, Protéine kinase activée par les mitogènes

**MPT** : Post traditionnel modification, Modifications post-traductionnelles

**miR-708** : micro RNA708, micro ARN708

**$\Delta\Psi_m$**  : Mitochondrial Membrane potential, Potentiel de membrane mitochondriale

**NK** : Natural Killers (cells), Tueurs naturels (cellules)

**NO** : Nitric oxyde, Oxyde nitrique

**NOX1** : NADH Oxydase 1

**4N1K** : Peptid derived from thrombospondin, Peptide dérivée de la thrombospondine

**Ns SNP** : Non Synonymous Single Nucleotide Polymorphisms, Polymorphisme mononucléotidique non-synonyme

## Liste d'abréviation

---

- P21** : Cyclin- dependent Kinase inhibitor, Inhibiteur de kinase dépendante de la cycline
- P47phox** : phagocyte oxydase 47 KDa subunit, Sous-unité de la phagocyte oxydase 47 kDa
- P53** : Tumor Protein or cellular Tumor antigen, Protéine tumorale ou Antigène tumoral cellulaire
- PI3K** : phosphatidylinositol-3 Kinase,
- PKA** : Protein kinase A, Protéine kinase A
- Rb** : Rétinoblastoma protein, Protéine du rétinoblastome
- ROS** : Reactive Oxygène Species, Espèces réactives de l'oxygène
- SGC** : soluble guanylyl cyclase, Guanylyl cyclase soluble
- SIRP $\alpha$**  : signal regulatory protein alpha, protéine régulatrice du signal alpha
- SHP-1** : Src homology region 2 domain-containing phosphatase-1, Phosphatase-1 contenant un domaine de la région 2 d'homologie Src
- SHP-2** : Src homology Region 2 domain-containing phosphatase-2, Phosphate-2 contenant un domaine de la région 2 d'homologie Src
- HER 2<sup>+</sup>** : Human epidermal factor receptor positive, récepteur de facteur de croissance épidermique humain positive
- SIRP $\alpha$**  : Signal Regulatory Protein Alpha, Protéine régulatrice du signal alpha
- SIRP $\gamma$**  : Single regulatory protein gamma, Protéine régulatrice du signal gamma
- SNP** : Single Nucleotide Polymorphisms, Polymorphismes nucléotidiques simples
- STING** : Simulator of interféron, Simulateur d'interféron
- TCD3<sup>+</sup>** : CD3<sup>+</sup> T Cells, Cellules T CD3<sup>+</sup>
- TCD4<sup>+</sup>** : CD4<sup>+</sup> Tcells, Cellules T CD4<sup>+</sup>
- TCR** : T cell receptor, Récepteur des lymphocytes T
- TEM** : Tranendothelial Migration, Migration transendothéliale
- TGF- $\beta$**  : Transforming Growth Factor, Facteur de croissance transformant
- Treg** : Regulatory Tcells, Cellules T régulatrices
- TSP1** : Thrombospondin -1, thrombospondine- 1
- VEGFR2** : Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2, Récepteur 2 du facteur de croissance endothéliale vasculaire

### Liste des figures

Figure1. 1. La structure et la localisation du gène CD47 .....	6
Figure1. 2. La structure de la protéine CD47 en format (PDB) .....	7
Figure1. 3. la voie de signalisation CD47-SIRP $\alpha$ .....	8
Figure1. 4.La signalisation du CD47 et TSP1 .....	10
Figure1. 5.Résumer schématique de L'association du CD47 à SIRP $\gamma$ endothélial dans les cellules T .....	12
Figure1. 6. CD47 dans le vieillissement et la clairance des érythrocytes .....	14
Figure1. 7. Régulation de la mort cellulaire médiée par CD47 .....	20
Figure1. 8. CD47 et TSP1 Dans le syndrome métabolique .....	22
Figure1. 9. Le ciblage thérapeutique de la voie CD47-SIRP $\alpha$ peut entraîner l'élimination des cellules cancéreuses .....	26
Figure1. 10. Le ciblage de l'axe CD47-SIRP dans le cancer .....	28
Figure 2. 1.Study Design .....	37
Figure 2. 2.Recherche de la séquence protéique du CD47 sur la base de données UniProt .....	38
Figure 2. 3.Prédiction des sites de phosphorylation par GPS6.0 .....	39
Figure 2. 4.Prédiction des sites de phosphorylation par NetPhos .....	40
Figure 2. 5.Prédiction des sites de phosphorylation par MusiteDeep .....	41
Figure 2. 6.Prédiction des sites de méthylation par GPS-MSP .....	42
Figure 2. 7.Prédiction des sites d'ubiquitination par GPS-UBER .....	43
Figure 2. 8.Prédiction des sites de carbonylation par iCarPS .....	44
Figure 2. 9.Prédiction des sites de nitration des tyrosines par GPS-YNO2 .....	45
Figure 2. 10.Prédiction des S-nitrosylation et de nitration des tyrosines par DeepNitro .....	46
Figure 2. 11.Prédiction des sites S-nitrosylation par GPS-SNP 1.0 .....	46
Figure 2. 12.Modélisation des structures tridimensionnelles des protéines par Phyre2 .....	47
Figure 2. 13.Modélisation des structurés tridimensionnelles des protéines par SWISS-MODEL .....	48
Figure 2. 14.Evaluation de la qualité des structures des protéines par ERRAT .....	49
Figure 2. 15.Évaluation de la qualité des structures des protéines par PROCHEK .....	49
Figure 2. 16.Alignement des structures des protéines par TM-align .....	50
Figure 2. 17.Visualisation et superposition des structures 3D par Chimera .....	51

### Liste des tableaux

**Tableau 3. 1. Résultats des prédictions des modifications post-traductionnelles. Erreur ! Signet non défini.**

**Tableau 3. 2. Evaluation de la qualité des modèles des protéines générées par (SWISS-MODEL) ..... Erreur ! Signet non défini.**

**Tableau 3. 3. Estimation de la qualité des protéines modélisées par (SWISS-MODEL) ..... Erreur ! Signet non défini.**

**Tableau 3. 4. Evaluation de la qualité des modèles des protéines générées par (Phyre2) ..... Erreur ! Signet non défini.**

**Tableau 3. 5. Estimation de la qualité des protéines par (Phyre2) ..... Erreur ! Signet non défini.**

**Tableau 3. 6. visualisation et superposition des structures 3D ..... Erreur ! Signet non défini.**

## Table des matières

Dédicace.....	iii
Dédicace.....	iv
Résumé.....	v
Abstract.....	vi
ملخص.....	vii
Remerciements.....	viii
Liste d'abréviations.....	ix
Liste des figures.....	xi
Liste des tableaux.....	xii
INTRODUCTION.....	1
1. Chapitre I : Revue de la littérature.....	5
1.1. CD47.....	5
1.1.1. Généralités.....	5
1.1.2. Description du gène <i>CD47</i> .....	5
1.1.3. Structure et isoformes du CD47.....	6
1.1.4. Interaction CD47 -SIRP $\alpha$ .....	7
1.1.5. Interaction avec les intégrines.....	8
1.1.6. La voie de signalisation CD47 /TSP-1.....	9
1.1.6.1. Inhibition de la croissance tumorale.....	11
1.1.6.2. Inhibition de la réponse inflammatoire.....	11
1.1.7. Interaction CD47-SIRP $\gamma$ .....	11
1.1.8. CD47 fonctionne comme commutateur moléculaire pour la phagocytose des érythrocytes.....	13
1.1.9. Fonction de CD47 dans le système immunitaires.....	14
1.1.9.1. CD47 et les cellules immunitaires innées.....	14
1.1.9.1.1. CD47 et les cellules dendritiques (DC) et les monocytes.....	15
1.1.9.1.2. CD47 et les macrophages.....	15
1.1.9.1.3. CD47 et les cellules naturel tueuse (NK).....	16
1.1.9.2. CD47 et les cellules immunitaires adaptatives.....	17
1.1.9.2.1. CD 47 réguler l'immunité des lymphocytes T.....	17
1.1.9.2.2. CD47 favorise la génération des cellules T régulatrices.....	18
1.1.9.2.3. CD47 et les lymphocytes B (LB).....	18
1.1.10. Régulation de la mort cellulaires médiée par CD47.....	19
1.1.11. Implication de CD47 dans le métabolisme et la survie cellulaires.....	21
1.1.12. Rôle de CD47 dans le microenvironnement tumoral.....	22
1.1.12.1. CD47 dans le cancer du sein.....	22

## Table du matière

---

1.1.12.2. CD47 dans le cancer de l’ovaire.....	23
1.1.12.3. CD47 et le cancer colorectal.....	23
1.1.13. Immunothérapie .....	24
1.1.13.1. Immunothérapie contre le cancer ciblant l'axe CD47/SIRP $\alpha$ .....	24
1.1.13.2. Impact du ciblage de CD47/SIRP $\alpha$ sur l'apoptose des cellules tumorales .....	27
1.1.13.3. Combinaison des anticorps anti-CD47 et de la chimio-radiothérapie .....	28
1.2. Polymorphismes nucléotidiques simples .....	29
1.2.1. Généralités .....	29
1.2.2. Types de polymorphismes nucléotidiques .....	29
1.2.2.1. Les SNPs non synonymes .....	29
1.2.2.2. Les SNPs Synonymes .....	29
1.2.3. Rôle des SNP dans la recherche biomédicale.....	30
1.2.4. Analyse <i>in silico</i> des polymorphismes nucléotidiques .....	30
1.2.4.1. Généralités .....	31
1.2.4.2. Importance des analyses <i>in silico</i> dans les maladies humaines.....	31
1.3. Modifications post-traductionnelles.....	31
1.3.1. Généralités.....	31
1.3.1.1. La phosphorylation .....	32
1.3.1.2. La Méthylation.....	32
1.3.1.3. L'ubiquitination.....	32
1.3.1.4. La carbonylation .....	33
1.3.1.5. S-nitrosylation.....	33
1.3.1.6. Nitration de la tyrosine.....	33
1.3.2. Prédiction <i>in silico</i> des modifications post-traductionnelles .....	34
1.4. Problématique et objectifs.....	34
1.4.1. Problématique.....	34
1.4.2. Objectif .....	35
1.4.3. But .....	35
2. Chapitre II : Matériel et Méthodes.....	37
2.1. Plan de travail.....	37
2.2. Collecte de donnée et sectionnées de séquence de protéines.....	38
2.3. Prédiction des modifications post-traductionnelles .....	38
2.3.1. Prédiction des sites de phosphorylation.....	39
2.3.2. Prédiction des sites de méthylation.....	41
2.3.3. Prédiction des sites des ubiquitination.....	42
2.3.4. Prédiction des sites de carbonylation.....	43
2.3.5. Prédiction des sites de nitration de tyrosine.....	44

## Table du matière

---

2.3.6. Prédiction des sites S-nitrosylation.....	45
2.4. Modélisation moléculaire.....	47
2.5. Evaluation de la qualité des structures des protéines modélisées.....	48
2.6. Alignement des structures tridimensionnelles des protéines.....	50
3. Chapitre III : Résultats et interprétation .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3.1. Prédiction des modifications post-traductionnelles.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3.2. Modélisation moléculaire.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3.2.1. Modélisation moléculaire par SWISS-MODEL.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3.2.2. Modélisation moléculaire par Phyre2.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3.3. Comparaison et superposition des structures tridimensionnelles 3D.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Chapitre IV : Discussion.....	53
Chapitre V : Conclusion.....	56
Chapitre VI : Bibliographie .....	58
Chapitre VII : Annexes .....	74

# **INTRODUCTION**

## Introduction

---

### Introduction :

**CD47** est une protéine membranaire exprimée de manière ubiquitaire, codée par le gène humain *CD47* et appartenant à la superfamille des immunoglobulines. Identifiée comme un point de contrôle clé de l'immunité innée (**Bian et al., 2022**), elle joue un rôle central dans les mécanismes d'auto-reconnaissance cellulaire (**Liu et al., 2017**) et participe à divers processus physiopathologiques. CD47 est exprimée par la majorité des cellules de l'organisme, notamment les thymocytes, les lymphocytes T et B, les monocytes, les érythrocytes ainsi que les cellules nerveuses (**Su et al., 2023**). Elle est également présente à la surface des cellules endothéliales et épithéliales, des plaquettes, des fibroblastes et des lignées cellulaires tumorales (**Kaur et al., 2021**).

CD47 induit un signal « ne me mange pas », inhibant ainsi la phagocytose par les macrophages grâce à son interaction avec le récepteur SIRP $\alpha$  (**Che et al., 2025**). Ce mécanisme protège les cellules de la clairance immunitaire et contribue au maintien de l'homéostasie tissulaire. Ces interactions jouent un rôle crucial dans la prévention des réactions auto-immunes, la tolérance immunitaire et la régulation des réponses immunitaires (**Polara et al., 2024**).

L'expression de CD47 a été initialement identifiée comme un antigène tumoral dans le cancer de l'ovaire humain (**Kaur et al., 2021**). Par la suite, sa surexpression a été observée dans de nombreuses tumeurs malignes hématologiques et solides, ainsi que dans les cellules souches cancéreuses (CSC) (**Kong et al., 2016**). CD47 apparaît comme un signal universel d'évasion immunitaire, permettant aux cellules cancéreuses d'échapper au système immunitaire inné, notamment en inhibant la phagocytose des macrophages (**Chao et al., 2019**). De plus, le blocage du signal « don't eat me » associé à CD47 améliore les réponses immunitaires antitumorales (**Wu et al., 2024**). En raison de son effet inhibiteur, CD47 est récemment apparu comme l'une des nouvelles cibles thérapeutiques prometteuses pour l'immunothérapie du cancer (**Wang et al., 2021**). Ainsi, une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires dans l'optimisation des agents anti-CD47 pourrait favoriser le développement de nouvelles thérapies anticancéreuses efficaces, capables de renforcer la phagocytose des cellules malignes (**Zhang et al., 2020a**).

Les polymorphismes nucléotidiques simples (SNP) constituent les variations génétiques les plus courantes dans le génome humain, résultant généralement de la substitution d'un seul nucléotide (**Ali et al., 2022**). Parmi eux, les polymorphismes nucléotidiques simples non synonymes (nsSNP) (**Kaur et al., 2020**) représentent un type particulier de variation génétique

## Introduction

---

pouvant modifier la séquence de la protéine codée, entraînant un changement d'acide aminé. Ces altérations sont susceptibles d'entraîner un dysfonctionnement des protéines, augmentant ainsi la susceptibilité à divers maladie (**González-Castejón et al., 2011**).

Cependant, l'impact précis de ces SNP sur les modifications post-traductionnelles de CD47 permet d'identifier des cibles moléculaires supplémentaires susceptibles d'altérer de manière sélective la fonction et la structure de cette protéine (**Kaur et al., 2020**).

Dans le contexte du cancer, certaines variations génétiques de CD47, notamment le SNP intronique rs3804639, sont associées à la survie des patients atteints de cancer colorectal et au cancer du poumon (**Ogimoto et al., 2023**). Par ailleurs, d'autres variantes, telles que rs9879947, rs3206652 et rs12695175, sont corrélées à un risque élevé de cancer colorectal. Ces variations introniques ont également été liées à l'expression de CD47 dans les lignées cellulaires lymphoblastoïdes (**Kaur et al., 2021**).

Les approches *in silico* sont facilitées par l'évolution rapide des outils expérimentaux et analytiques qui génèrent des données biologiques riches en informations. Ces outils offrent la possibilité d'inclure un éventail pratiquement illimité de paramètres, rendant les résultats plus applicables à l'organisme dans son ensemble. Ils permettent d'examiner le fonctionnement des processus biologiques, contribuant ainsi à une meilleure compréhension de la physiopathologie des maladies, à la suggestion de nouvelles stratégies thérapeutiques et à la conception d'essais expérimentaux et cliniques pour l'étude de nouvelles modalités de traitement (**Barh et al., 2014**). Ces outils sont également utilisés pour analyser les sites de modification post-traductionnelle putatifs ainsi que les interactions protéine-protéine altérées, impliquant diverses cascades de signalisation, et pour prédire les impacts des nsSNP sur la structure et la fonction des protéines (**Sakhawat et al., 2024**).

En 2024, Lazar Maroua et Mahieddine Souheyla ont réalisé une analyse *in silico* des SNP à conséquences fonctionnelles sur les protéines CD47 et DRP1, déterminant les effets néfastes de ces nsSNP à risque élevé d'altérer l'expression et la fonction du gène *CD47*. Dans ce travail, nous allons étudier *in silico* l'effet de ces variations sur la structure tridimensionnelle de CD47.

L'objectif de notre étude est de réaliser une analyse *in silico* de l'effet des nsSNP probablement délétère sur les modifications post traductionnelle et la structure tridimensionnelle de CD47. Le but de notre étude est d'identifier des SNP à conséquences structurelles et/ou fonctionnelles sur la protéine CD47.

# Chapitre I : Revue de la littérature

### 1. Chapitre I : Revue de la littérature

#### 1.1. CD47

##### 1.1.1. Généralités

Le cluster de différenciation (CD47) est un récepteur membranaire impliqué dans plusieurs processus cellulaires physiologiques importants, notamment la phagocytose, l'apoptose, la prolifération, l'adhésion et la migration (**Zhang et al., 2024**). Les fonctions régulatrices de CD47 dépendent en grande partie de ses partenaires d'interaction, qui varient selon le type cellulaire et le contexte physiologique, ajoutant ainsi un niveau supplémentaire de complexité à ses mécanismes d'action (**Kaur et al., 2021**).

Initialement identifié pour son interaction avec divers ligands extracellulaires en particulier la thrombospondine-1 (TSP1), une glycoprotéine sécrétée dont il constitue le ligand de haute affinité. CD47 établit également des interactions en cis et en trans avec d'autres récepteurs présents à la surface cellulaire. Parmi ces partenaires d'interaction notamment le récepteur 2 du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGFR) (**Kaur et al., 2010**), FAS/CD95 (**Manna et al., 2005**), plusieurs intégrines bêta ( $\alpha 2\beta 1$ ,  $\alpha 4\beta 1$ ,  $\alpha 5\beta 1$  et  $\alpha 6\beta 1$ ) (**Lindberg et al., 1993; Reinhold et al., 1997**), la protéine régulatrice du signal alpha (SIRP $\alpha$ ) (**Jiang et al., 1999**), CD14 (**Pfeiffer et al., 2001**), CD36 (**Bamberger et al., 2003**) et peut-être le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) (**Kaur et al., 2016**). CD47 interagit également avec divers ligands intracellulaires, tels que les protéines inhibitrices (Gi) et la protéine 3 interagissant avec Bcl-2/adénovirus E1B 19 kDa (BNIP3) (**Yang et al., 2023**). Ces récepteurs de liaison représentent des cibles prometteuses dans le développement de nouvelles approches immunothérapeutiques, bien que des études supplémentaires soient nécessaires pour mieux établir leur pertinence clinique (**Zhao et al., 2022**).

##### 1.1.2. Description du gène *CD47*

Le gène CD47 code une protéine membranaire spécifique, également appelée CD47. Il s'étend sur 48 771 bases et comprend 11 exons, qui codent pour un ARNm de 5 234 bases (**Kaur et al., 2021**). Ce gène donne également 5 transcrits supplémentaires épissés alternativement (**Schickel et al., 2002**). Il est localisé sur le chromosome 3 humain, au niveau de la région 3q13.12 (**Huang et al., 2020**). Parmi les six transcrits identifiées, Les

## Chapitre I : Revue de la littérature

transcrits CD47–201 et CD47–202 sont ceux qui codent des isoformes avec différentes queues cytoplasmiques C-terminales. L'épissage alternatif 3'-UTR dans les transcrits régule la localisation subcellulaire des protéines CD47 nouvellement traduites (**Berkovits and Mayr, 2015; Schickel et al., 2002**).

La structure de la protéine CD47 est bien définie : les exons 1 à 3 codent pour le domaine extracellulaire de type immunoglobuline, tandis que les exons 3 à 7 sont responsables du domaine transmembranaire. L'épissage alternatif produit des isoformes de CD47 présentant des formes courtes et longues de la queues cytoplasmique C-terminales, dont les séquences influencent la distribution intracellulaire de la protéine CD47 (**Kaur et al., 2021**).

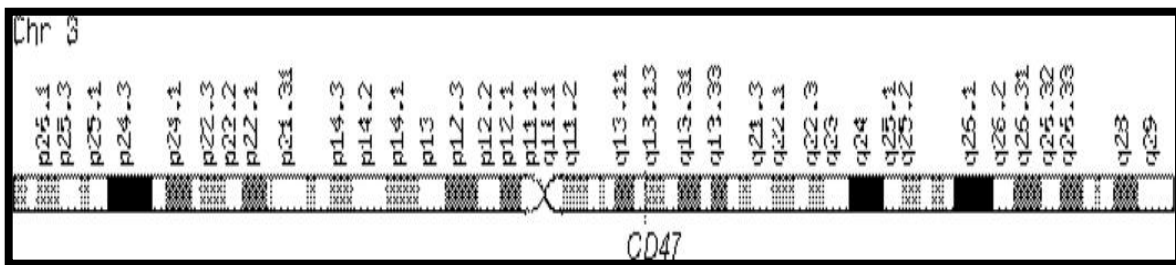


Figure1. 1. La structure et la localisation du gène *CD47* (**Kaur et al., 2021**)

### 1.1.3. Structure et isoformes du CD47

CD47, également connu sous le nom d'IAP, MER6 ou OA3, est une glycoprotéine de surface cellulaire appartenant à la superfamille des immunoglobulines (Ig) et souvent associée aux intégrines (**Rebres et al., 2001**)

Sa structure se caractérise par un seul domaine variable de type immunoglobuline (IgV) extracellulaire glycosylé, d'un domaine transmembranaire de type préséniline comportant de cinq segments transmembranaires, ainsi que d'une courte queue cytoplasmique C-terminale, dont l'épissage variable génère quatre isoformes (**Fenalti et al., 2021; Mushegian, 2002**). Parmi celles-ci, l'isoforme 2 est la plus abondante et est principalement exprimée par les cellules hématopoïétiques, endothéliales et épithéliales (**Reinhold et al., 1995**). Les isoformes 3 et 4 sont majoritairement exprimées dans le tissu nerveux, tandis que l'isoforme 1 se trouve principalement dans les kératinocytes (**Reinhold et al., 1995**). chaque isoforme semble remplir des fonctions spécifiques : les isoformes 3 et 4 pourraient être impliquées dans la rétention de la mémoire, alors que l'isoforme 2 participe à la transduction des signaux entre la matrice extracellulaire (ECM) et le cytosquelette des astrocytes (**Lee et al., 2000**).

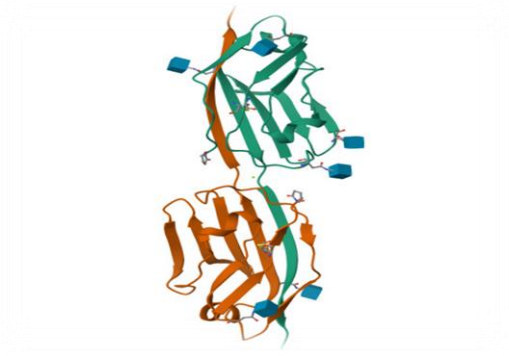


Figure1. 2. La structure de la protéine CD47 en format (PDB)  
<https://doi.org/10.2210/pdb2VSC/pdb>

### 1.1.4. Interaction CD47 -SIRP $\alpha$

CD47 joue un rôle central dans la régulation de la phagocytose, notamment en interagissant avec le récepteur inhibiteur SIRP $\alpha$  exprimé à la surface des phagocytes. Cette interaction active la voie de signalisation CD47-SIRP $\alpha$ , qui transmet un signal inhibiteur « ne me mange pas » aux phagocytes, réduisant ainsi la capacité des phagocytes à éliminer les cellules cibles **(Wu et al., 2024)**. Ce mécanisme repose en partie sur l'inhibition de l'accumulation de myosine-IIA au niveau de la synapse phagocytaire **(Willingham et al., 2012)**.

Cette signalisation joue également un rôle crucial dans la transplantation des cellules souches hématopoïétiques (HSC). En effet, les HSC augmentent l'expression de CD47 pour se protéger de la phagocytose par les macrophages, ce qui est essentiel à leur implantation réussie dans le receveur **(Wu et al., 2024)**. La liaison de CD47 à l'extrémité *N*-terminale de SIRP $\alpha$  sur les cellules phagocytaires déclenche une phosphorylation des motifs l'ITIM. Cela active à son tour les phosphatases 1 (SHP-1) et 2 (SHP-2) contenant le domaine SH2 (Src homology région 2) des protéines tyrosine phosphatases (PTPases) **(Tsai and Discher, 2008)**. L'action de ces phosphatases conduit à la déphosphorylation des motifs d'activation de la tyrosine des immunorécepteurs (ITAM), empêchant ainsi l'englobement contractile par les macrophages et renforçant le signal « ne me mange pas » au système immunitaire inné, un nouveau signal que les cancers semblent utiliser pour échapper à la détection et à la destruction par le système immunitaire **(Eladl et al., 2020)** (figure 1.3).

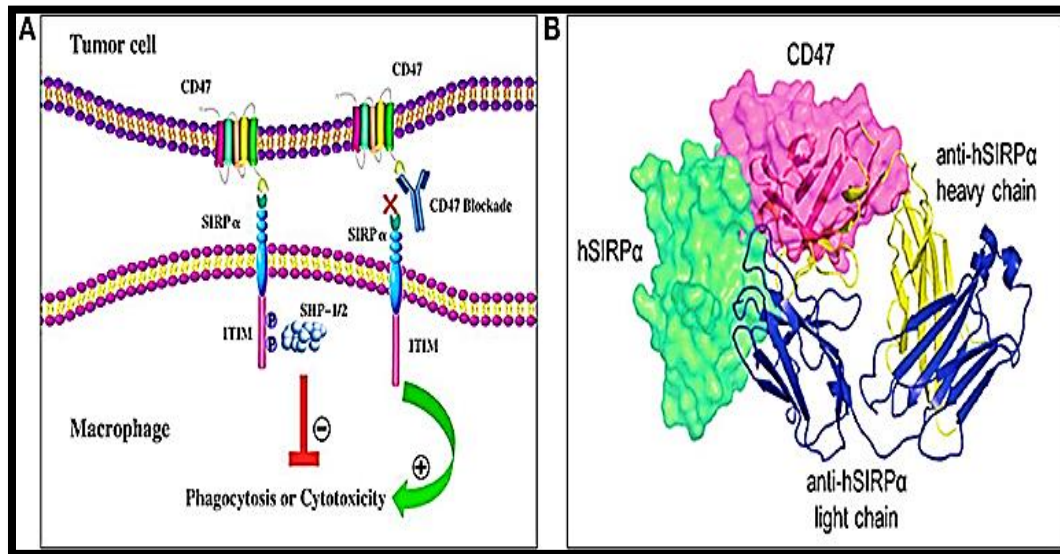


Figure1. 3. la voie de signalisation CD47-SIRP $\alpha$  (Zhang et al., 2020a)

### 1.1.5. Interaction avec les intégrines

Les intégrines sont des protéines transmembranaires qui assurent la liaison entre les cellules et la matrice extracellulaire, jouent un rôle dans plusieurs processus cellulaires fondamentaux comme le cycle cellulaire, la morphologie et la motilité (Brown and Frazier, 2001; Murata et al., 2020; Ratnikova et al., 2017). Parmi elles les intégrines  $\alpha\beta3$  sont principalement présentes dans les cardiomyocytes, les oligodendrocytes et les astrocytes, mais leur expression est aussi fortement augmentée, dans divers cancers, tels que le glioblastome, les cancers de l'œsophage, de la thyroïde et du pancréas (Wu et al., 2024).

CD47 s'associe physiquement et fonctionnellement aux intégrines au sein de la membrane plasmique (Brown et al., 1990), en formant des complexes stables (Wang and Frazier, 1998). Cette association permet une signalisation "inside-out", dans laquelle l'activation de CD47 conduit à une modulation de l'affinité des intégrines pour leurs propres ligands tels que le collagène, le fibrinogène ou encore la vitronectine. Cette régulation a été démontrée pour plusieurs intégrines notamment  $\alpha\beta3$  (Gao et al., 1996),  $\alpha\text{IIb}\beta3$  (Chung et al., 1997), et  $\alpha2\beta1$  (Wang and Frazier, 1998). Le CD47 est d'ailleurs essentiel à la propagation plaquettaire via l'activation de l'intégrine  $\alpha\text{IIb}\beta3$  (Chung et al., 1997).

De plus, la coopération entre les complexes CD47-intégrine  $\alpha\beta3$  participe à l'activation des synoviocytes, contribuent ainsi à une augmentation des réponses inflammatoires (Melo

**Garcia and Barabé, 2021**). Le CD47 interagit également à l'intégrine  $\alpha 4\beta 1$ , facilitant l'adhésion des réticulocytes (**Brittain et al., 2004**). Il se lie aussi à l'intégrine  $\alpha 5\beta 1$ , jouant un rôle dans la mécanotransduction des chondrocytes (**Orazizadeh et al., 2008**), et à l'intégrine  $\alpha 6\beta 1$ , où il intervient dans l'activation de la microglie induite par  $\beta$ -amyloïde fibrillaire ainsi que dans le processus de la phagocytose (**Koenigskecht and Landreth, 2004**).

### 1.1.6. La voie de signalisation CD47 /TSP-1

La voie de signalisation thrombospondine-1 (TSP1-CD47) est un mécanisme fondamental impliqué dans plusieurs processus biologiques et pathologiques notamment la sénescence des cellules endothéliales. TSP-1 identifiée comme le premier ligand connu de CD47 (**Isenberg and Roberts, 2019**), est produite et sécrétée par divers types de cellules, notamment les cellules présentatrices d'antigène (macrophages et les cellules dendritiques), des cellules parenchymateuses (monocytes, cellules musculaires lisses, cellules endothéliales et épithéliales), ainsi que certaines cellules tumorales. Sa production est stimulée par des conditions de stress, telles que l'hypoxie, l'hyperglycémie ou la présence de lipopolysaccharides (LPS). Elle est généralement sécrétée sous une forme trimérique, indispensable à son activité biologique (**figure 1.4**) (**Kale et al., 2021**). L'interaction avec CD47 se fait via une séquence peptidique (RFYVVMWK), également appelée 4N1K, située dans le domaine CBD C-terminal de la TSP1 (**Liu et al., 2024**).

Cette voie de signalisation TSP-1/CD47 régule plusieurs processus cellulaires clés notamment l'apoptose, la prolifération et l'adhésion cellulaire, tout en inhibant l'angiogenèse à travers des interactions avec les cellules stromales. Des études récentes ont montré que cette signalisation stimule la production de espèces réactives de l'oxygène (ROS) dérivées de NADPH oxydase 1 (Nox1), ce qui active la signalisation p53-p21<sup>cip</sup>-Rb et conduit à la sénescence des cellules endothéliales dans les vaisseaux pulmonaires humains (**Meijles et al., 2017**), contribuant ainsi à la vasculopathie. Ainsi, cette signalisation dans les cellules non seulement supprime l'angiogenèse, mais potentialise également la pathologie vasculaire en inhibant le cycle cellulaire et en induisant un phénotype cellulaire sénéscent (**Gao et al., 2016**).

L'interaction de TSP1 avec les récepteurs CD47 et SIRP- $\alpha$  induit une production accrue de superoxyde. Un marqueur souvent élevé dans certaines pathologies humaines. Cette production résulte de l'activation par la phosphorylation, de la sous-unité d'assemblage

## Chapitre I : Revue de la littérature

p47phox de l'enzyme Nox, dans les cellules exposées au TSP1. En revanche, l'inhibition de Nox1, ou le blocage des interactions de TSP1 avec CD47 et SIRP- $\alpha$ , supprime cette évaluation du superoxyde (D et al., 2017).

Dans un contexte d'hypoxie endothéliale, cette signalisation perturbe la cavéoline-1 (Cav-1) ainsi que l'eNOS, favorisant ainsi l'augmentation de superoxyde. Ce dernier peut interagir de manière rétroactive avec le monoxyde d'azote (NO) et la guanylate cyclase soluble (sGC) pour limiter la signalisation du NO, et potentiellement induire à son tour l'expression de TSP1, contribuant ainsi à une diminution de la vasodilatation artérielle et du flux sanguin (figure 1.4) (D et al., 2017).

Enfin, le ciblage de la signalisation TSP1-CD47 a montré des résultats prometteurs. Il peut augmenter l'activité angiogénique dans les plaies par des mécanismes dépendants et indépendants du NO (Soto-Pantoja et al., 2014), suggérant un potentiel thérapeutique dans les troubles vasculaires liés à l'âge (Kale et al., 2021). Il a également été démontré que la perturbation de l'interaction TSP-1/CD47 pourrait être favorable dans le traitement du cancer (Eladl et al., 2020).

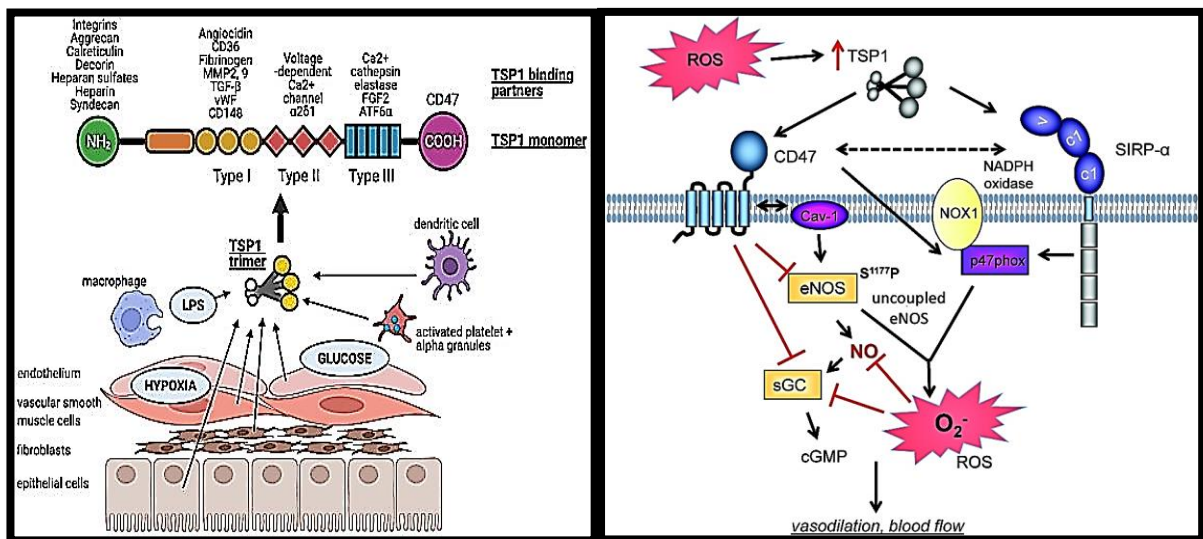


Figure 1.4. La signalisation du CD47 et TSP1 (D et al., 2017; Kale et al., 2021)

### 1.1.6.1. Inhibition de la croissance tumorale

TSP-1 est un régulateur crucial de l'angiogenèse grâce à son interaction avec CD47 (**Isenberg et al., 2006**). Cette interaction inhibe l'activation du récepteur du facteur de croissance endothélial vasculaire-2 (VEGFR2), perturbant ainsi l'angiogenèse dans les cellules endothéliales. Ces effets anti-angiogéniques de la voie CD47-TSP1 s'aggravent avec l'âge chez les mammifères, ce qui en fait une cible thérapeutique potentielle pour des troubles vasculaires liés au vieillissement (**Ghimire et al., 2020; Kaur et al., 2010**).

Elle fonctionne de manière similaire dans les cellules T, où cette voie inhibe la signalisation en aval de la voie de signalisation VEGFR2-oxyde nitrique (NO) pour inhiber l'angiogenèse (**Isenberg et al., 2006**). De plus, la combinaison de CD47 et TSP-1 favorise l'activation précoce et la propagation des plaquettes. Dans le contexte du cancer, où la croissance tumorale et les métastases dépendent de l'angiogenèse, la signalisation CD47/TSP-1 est considérée comme un puissant inhibiteur du développement tumoral et des métastases (**Jian et al., 2019**).

### 1.1.6.2. Inhibition de la réponse inflammatoire

Le complexe CD47/TSP-1 joue un rôle crucial dans la régulation de la réponse inflammatoire. Lors d'une inflammation, ce complexe s'accumule temporairement au site d'inflammation, où il réduit l'activation des cellules immunitaires et la sécrétion de cytokines, affectant ainsi l'intensité et la durée de la réaction inflammatoire (**Li et al., 2013**). Par ailleurs, le déficit en TSP-1 est associé à une diminution du phénotype inflammatoire des macrophages et à une réduction de leur capacité phagocytaire (**Lopez-Dee et al., 2011**).

### 1.1.7. Interaction CD47-SIRP $\gamma$

SIRP $\gamma$  peut également se lier à CD47, bien que son affinité de liaison soit environ dix fois inférieure à celle de SIRP $\alpha$  (SIRP $\gamma$   $K_d \approx 23 \mu\text{M}$ , SIRP $\alpha$   $K_d \approx 1,5 \mu\text{M}$ ). SIRP $\gamma$  est principalement exprimé à la surface des cellules T (**Piccio et al., 2005**). La liaison de SIRP $\gamma$  à CD47 joue un rôle essentiel dans la migration-transendothéliale (TME) des cellules T vers les tissus périphériques et les ganglions lymphatiques lors de l'inflammation (**Brown and Frazier, 2001; Fukunaga et al., 2004; Liu et al., 2002**).

## Chapitre I : Revue de la littérature

SIRP $\gamma$  est localisé spécifiquement à la surface des cellules T CD3<sup>+</sup> et interagit avec le CD47 des cellules endothéliales (interaction en trans). Étant donné que SIRP $\gamma$  contient une courte queue cytoplasmique et ne semble pas interagir directement aux cellules T, il est suggéré que son engagement avec le CD47 favorise les voies de signalisation dans les cellules endothéliales (unidirectionnelles). Ces signaux pourraient faciliter TEM par la signalisation couplée à G i et/ou par l'association avec les intégrines en cis qui peuvent se produire dans les cellules endothéliales. La liaison du CD47 par SIRP $\gamma$  pourrait induire le remodelage du cytosquelette d'actine et le désassemblage des jonctions adhérentes dans les cellules endothéliales, processus nécessaires à une migration-transendothéliale réussie des cellules T (figure 1.5) (Stefanidakis et al., 2008).

Le blocage de SIRP $\gamma$  ou de CD47 réduit la migration des cellules T. De plus, cette interaction améliore la costimulation des cellules T médiée par les superantigènes, et la perturbation de leur liaison élimine la sécrétion d'IFN- $\gamma$  dans les cellules T activées de manière chronique (Dehmani et al., 2021; Piccio et al., 2005). La perturbation du complexe CD47-SIRP $\gamma$  par des anticorps monoclonaux bloquants spécifiques de CD47 et SIRP $\gamma$  a fortement réduit la transmigration des lymphocytes T (figure1.5) (Stefanidakis et al., 2008).

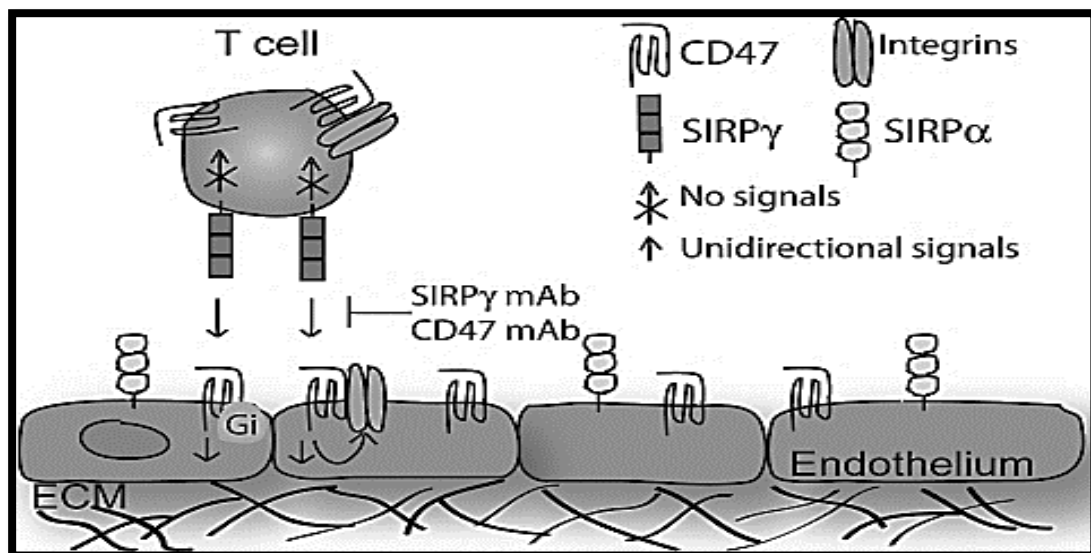


Figure1. 5.Résumer schématique de L'association du CD47 à SIRP $\gamma$  endothélial dans les cellules T (Stefanidakis et al., 2008)

### 1.1.8. CD47 fonctionne comme commutateur moléculaire pour la phagocytose des érythrocytes

La clairance des érythrocytes est un processus essentiel largement étudié, tant dans le contexte du renouvellement physiologique normal (**Barnhart and Lusher, 1979; Lutz, 2004**), que dans des contextes de clairance accrue, tels que les anomalies du métabolisme des érythrocytes ou les altérations de la composition membranaire (**Fischer et al., 1983; Prasad et al., 1968; Wilairat et al., 1992**) et lors de la transfusion sanguine (**Hod et al., 2010**).

Le CD47 est considéré comme un marqueur du soi à la surface des érythrocytes inhibe leur phagocytose grâce à son interaction avec le récepteur inhibiteur SIRP $\alpha$ , exprimé par les macrophages. Cette interaction CD47-SIRP $\alpha$  constitue un signal négatif, empêchant l'élimination des globules rouges. Toutefois, il a été démontré que CD47 ne fonctionne pas seulement comme un signal « ne me mange pas » pour inhiber la captation des érythrocytes, mais peut également agir comme un signal « mange-moi » (**figure 1.6**) (**Burger et al., 2012**).

Au cours de la vie des érythrocytes, les dommages oxydatifs s'accumulent sur leurs protéines membranaires, ce qui contribue à leur vieillissement et à leur élimination ultérieure (**Olsson and Oldenborg, 2008**). Par ailleurs, des preuves montrent que le vieillissement expérimental et l'oxydation des érythrocytes induisent un changement conformationnel de CD47, transformant cette molécule d'un signal inhibiteur à un signal activateur de la phagocytose (**figure 1.6**) (**Burger et al., 2012**).

Il a été démontré que les érythrocytes âgés peuvent se lier à TSP-1, ligand de CD47, et que leur traitement avec un peptide dérivé de TSP-1 favorise leur phagocytose par les macrophages de la pulpe rouge humaine (**Head et al., 2005**). De plus les érythrocytes conservés sur une longue période, subit un changement conformationnel qui favorise sa liaison à TSP-1. Ces résultats révèlent un rôle plus complexe des interactions CD47-SIRP $\alpha$  dans la phagocytose érythrocytaire, où CD47 agit comme un commutateur moléculaire contrôlant cette phagocytose (**Burger et al., 2012**).

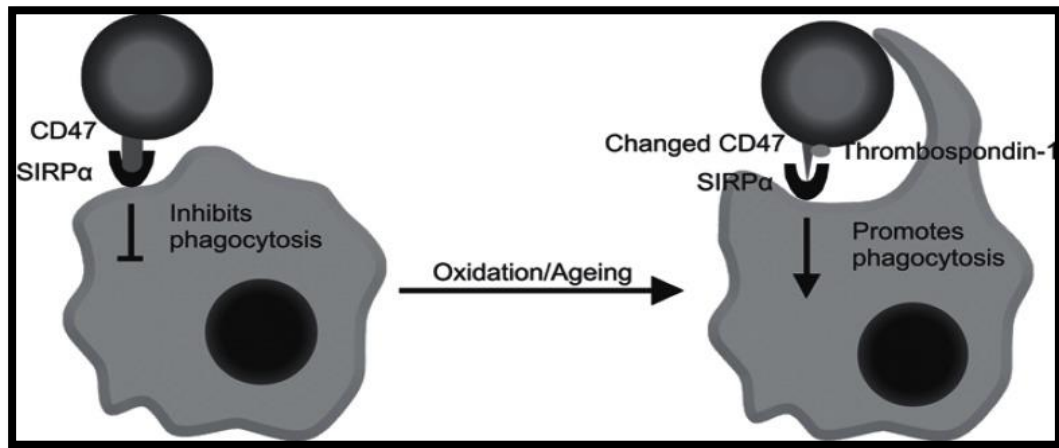


Figure 1. 6. CD47 dans le vieillissement et la clairance des érythrocytes (Burger et al., 2012)

### 1.1.9. Fonction de CD47 dans le système immunitaires

CD47 est une molécule de surface cellulaire multifonctionnelle exprimée de manière ubiquitaire, en particulier sur les cellules immunitaires, notamment les cellules dendritiques (DC), les macrophages, les monocytes et les lymphocytes T. Agissant comme un marqueur d'auto-reconnaissance, CD47 joue un rôle clé dans la régulation des réponses immunitaires innées et adaptatives. Il joue un rôle crucial dans les réponses immunitaires en transmettant un signal « ne me mangez pas », empêchant ainsi la phagocytose (Eladl et al., 2020).

Des études antérieures ont montré que CD47 agit comme co-stimulateur des lymphocytes T, favorise la migration des leucocytes et inhibe les fonctions phagocytaires des macrophages (Blazar et al., 2001). L'absence de CD47 entraîne l'activation des cellules dendritiques (DC), des cellules NK et des lymphocytes T, ce qui souligne son rôle central dans la régulation des cellules immunitaires (Engelbertsen et al., 2019). CD47 a été considérée comme un point de contrôle dans les systèmes immunitaires inné et adaptatif. Le blocage de CD47 ou l'inhibition de son interaction avec sa protéine de liaison SIRPα améliore les réponses immunitaires antitumorales innées et adaptatives (Jia et al., 2021; Kuo et al., 2020; Xu et al., 2019).

#### 1.1.9.1. CD47 et les cellules immunitaires innées

Le système immunitaire inné constitue la première ligne de défense de l'organisme, ayant émergé au cours de l'évolution comme un mécanisme naturel de protection. Il repose principalement sur des barrières tissulaires, des cellules immunitaires innées et des molécules

effectrices spécifiques. CD47 est étroitement lié à l'activité des cellules du système immunitaire inné, telles que les macrophages, les cellules dendritiques (CD), les cellules NK, etc. Par ailleurs, l'expression de CD47 régule la fonction de ces cellules immunitaires innées (Liu et al., 2024).

### 1.1.9.1.1. CD47 et les cellules dendritiques (DC) et les monocytes

Les cellules dendritiques (DC) sont présents dans l'ensemble des tissus de l'organisme (Schlundt et al., 2021), où ils jouent un rôle central dans le maintien de l'homéostasie et la défense contre l'invasion des agents pathogènes (Davies et al., 2013; Murata et al., 2014). Ils participent à la régulation du microenvironnement tumoral (TME) par le biais de la phagocytose. Dans de nombreux types de cancers, CD47 est surexprimé et se lie directement à SIRP $\alpha$  exprimée à la surface des macrophages. Cette interaction transmet un signal inhibiteur « ne me mangez pas », permettant aux cellules tumorales d'échapper à la clairance immunitaire (Huang et al., 2020). CD47 a été considéré comme un nouveau point de contrôle immunitaire efficace des macrophages pour l'immunothérapie du cancer (Eladl et al., 2020; Feng et al., 2020). La TSP protéine de liaison de CD47, un composant majeur des granules alpha plaquettaire, est également exprimée par les macrophages (Li et al., 2013). L'interaction entre CD47 et TSP-1 facilite la migration des monocytes à travers les cellules endothéliales vasculaires cérébrales, contribuant à l'inflammation du système nerveux et à la progression de diverses maladies (Liu et al., 2023).

Les monocytes, considérés comme la principale source de macrophages tissulaires, représentent les phagocytes mononucléés prédominants dans l'organisme (Jakubzick et al., 2017). Il a été démontré que CD47 via son interaction avec la thrombospondine TSP1 induit une apoptose rapide des monocytes via TSP-1. En effet, les monocytes fraîchement isolés présentent une mort cellulaire accélérée, indépendante des caspases. Par conséquent, CD47 semble capable de déclencher une mort cellulaire rapide de type apoptotique chez les monocytes humains (Liu et al., 2023).

### 1.1.9.1.2. CD47 et les macrophages

Les macrophages jouent un rôle clé dans le recrutement des cellules immunitaires, l'élimination des agents pathogènes, la réparation des tissus et le maintien de l'homéostasie. CD47 agit comme un point de contrôle majeur pour ces cellules en envoyant un signal « ne

me mange pas ». Par leur interaction avec le récepteur SIRP $\alpha$ , il permet aux macrophages, notamment ceux de la rate, d'éliminer efficacement les érythrocytes âgés et d'autres cellules devenues inefficace, facilitant ainsi la phagocytose. Par ailleurs la voie CD47/ SIRP $\alpha$  joue un rôle important dans la régulation de l'activité fonctionnelles et de la polarisation des macrophages(Zhao et al., 2022).

### 1.1.9.1.3. CD47 et les cellules naturel tueuse (NK)

Les cellules tueuses naturelles (NK) représentent une composante essentielle de la première ligne de défense contre les transformations cellulaires malignes. Elles expriment un vaste répertoire de récepteurs activateurs et inhibiteurs, leur permettant de jouer un rôle central dans l'élimination des cellules cancéreuses (**Deuse et al., 2021**). CD47 intervient dans la régulation de la prolifération, de l'activation des cellules NK (**Nath et al., 2018**). Ces cellules expriment des niveaux élevés de CD47 ainsi que d'autres protéines de surface cellulaire impliquées dans le maintien de l'homéostasie et la réponse aux infections virales (**Nath et al., 2018**). Toutefois, CD47 peut également exercer un effet inhibiteur sur l'activation et la prolifération des cellules NK lors de la liaison à son ligand TSP-1 (**Nath et al., 2019, 2018**).

Le CD47 joue un rôle dans la greffe des précurseurs de cellules NK chez les souris humanisées (**Pierson et al., 1996; Przewoznik et al., 2012**). Dans TME, le CD47 perturbe le recrutement des cellules NK, tandis que le traitement par des anticorps anti-CD47 renforce leur activité cytotoxique en favorisant l'expression de la granzyme B et de l'IFN- $\gamma$ , conduisant ainsi à une destruction des cellules tumorales (**Nath et al., 2019**). Bien que des recherches supplémentaires soient nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes complexes du recrutement des cellules NK, le ciblage du CD47 apparait comme une stratégie thérapeutique prometteuse, positionnant cette molécule comme un point de contrôle des cellules NK dans TME (**Bald et al., 2020**).

### 1.1.9.2. CD47 et les cellules immunitaires adaptatives

#### 1.1.9.2.1. CD 47 réguler l'immunité des lymphocytes T

La signalisation médiée par CD47 joue un rôle essentiel dans plusieurs processus immunitaires, notamment l'activation, la prolifération et la différenciation des cellules T, par le biais de son interaction avec SIRP $\alpha$  exprimée à la surface des cellules dendritiques (DC) (**Andrejeva et al., 2021**). Le principal rôle de CD47 dans l'activation des lymphocytes T consiste à renforcer l'efficacité de la transduction du signal TCR, en facilitant la diffusion des lymphocytes T à la surface des cellules présentatrices d'antigènes (CPA) (**Kaur et al., 2011**).

CD47 module la fonction des cellules T en régulant l'expression de plusieurs gènes importants, notamment ceux codant pour ses ligands TSP-1 et Fas (CD95), ainsi que d'autres gènes impliqués dans la régulation de la réponse immunitaire des cellules T. En plus de son rôle d'activation le CD47 a été exposé comme un récepteur de signalisation inhibiteur (**Lecoultre et al., 2020**). La liaison CD47-TSP-1 inhibe la transduction du signal TCR, induisant un état d'anergie chez les cellules T activées (**Kaur et al., 2011**). TSP-1 agit en synergie avec CD47 et CD36 pour former une voie de costimulation qui abaisse le seuil d'activation des lymphocytes T et stimule la prolifération des cellules T réactives, ce qui contribue au développement de maladies auto-immunes (**Liu et al., 2024**). Aussi, l'interaction SIRP $\gamma$ /CD47 intervient dans la costimulation des lymphocytes T, leur adhésion cellulaire ainsi que leur transmigration (**Dehmani et al., 2021**).

L'activation des lymphocytes T ainsi que les mécanismes d'induction de la mort cellulaire font partie des multiples processus cellulaires régulés par la signalisation CD47. L'expression de CD47 sur les progéniteurs des lymphocytes T mémoires à longue durée de vie leur confère une protection contre la phagocytose par les macrophages, prolongeant ainsi leur survie (**Yordanov et al., 2024**). L'expression de CD47 sur les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) et les lymphocytes T CD4<sup>+</sup>, souligne son rôle clé dans le contrôle de la différenciation de ces cellules (**Yordanov et al., 2024**).

### 1.1.9.2.2. CD47 favorise la génération des cellules T régulatrices

La liaison de CD47 par TSP-1 joue un rôle dans la promotion de la génération des cellules T régulatrices (Treg), les Tregs sont essentielles pour maintenir la tolérance immunitaire et moduler les réponses inflammatoires (**Grimbert et al., 2006; Rodríguez-Jiménez et al., 2019**).

En l'absence de cellules CD25<sup>+</sup>. Il a été observé que l'interaction TSP-1/CD47 sur les lymphocytes T naïfs primaires induit efficacement la génération de Treg. Lorsque la TSP-1 libérée lors d'une réponse inflammatoire, elle contribue à la génération de Tregs périphériques, permettant de moduler l'inflammation et de limiter les dommages collatéraux causés par les antigènes (**Grimbert et al., 2006**). Dans le contexte du mélanome, la TSP-1 capable de générer des Tregs à partir de cellules T naïves via son interaction avec le CD47. Les patients atteints d'un mélanome avancé présentent un niveau plus élevé de TSP-1 ainsi qu'une proportion plus élevée de Tregs périphériques, ce qui leur permet d'échapper plus facilement à la surveillance du système immunitaire. des études ont montré que la ligature de CD47 sur les cellules T naïves (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>) par un anticorps CD47 ou d'un peptide 4N1K (séquence de liaison CD47 dérivée de TSP-1) entraîne une augmentation de l'expression de FoxP3, marqueur clé des Tregs, différenciant ainsi les cellules T naïves en Tregs (**Grimbert et al., 2006**).

### 1.1.9.2.3. CD47 et les lymphocytes B (LB)

Les lymphocytes B, dérivés des cellules souches hématopoïétiques (CSH) de la moelle osseuse, se retrouvent à différentes densités et dans des localisations diverses au sein du microenvironnement tumoral (MET) de différents types de cancer. Leur infiltration dans la tumeur contribue à renforcer l'immunité antitumorale, en particulier par la modulation des réponses des lymphocytes T (**Engelhard et al., 2021**).

Le CD47 est exprimé à la surface des lymphocytes B, où il joue un rôle inhibiteur en limitant la phagocytose médiée par les anticorps, la déplétion des lymphocytes B matures est associée à une amélioration clinique dans plusieurs maladies auto-immunes. Il a été démontré que le traitement in vivo par anticorps anti-CD19 est plus efficace chez les souris dépourvues de CD47 (CD47<sup>-/-</sup>) que chez les souris de type sauvage, suggérant que CD47 confère au lymphocyte B une résistance accrue à cette stratégie thérapeutique (**Gallagher et al., 2017**).

L'interaction CD47-SIRP $\alpha$  participe à l'adhésion et au recrutement des lymphocytes B par les cellules endothéliales. Cette interaction, entre CD47 exprimée sur les lymphocytes B et SIRP $\alpha$  sur les macrophages ou les cellules DC, joue également un rôle clé dans les contacts intercellulaires nécessaires à la différenciation des lymphocytes B. De plus, une affinité distincte du CD47 pour SIRP $\alpha$  durant la maturation des lymphocytes B suggère son rôle dans ce processus (**Liu et al., 2024**).

Un anticorps bispécifique ciblant à la fois le CD47 et CD19 a montré une efficacité supérieure à celle des anticorps monoclonaux anti-CD19 seuls pour inhiber la prolifération des lymphocytes B. Cette efficacité accrue s'explique par le fait que le ciblage simultané de CD19 et CD47 empêche la migration du cluster CD19 vers le cluster du récepteur des cellules B (BCR), tandis que l'utilisation de l'anticorps monoclonal CD19 n'a aucun effet sur la migration du cluster CD19 (**Hatterer et al., 2019**).

En conclusion, la signalisation CD47 est fondamentale pour divers processus biologiques des cellules immunitaires, notamment leur activation, la prolifération et l'apoptose. Inversement, le blocage de CD47 seul ou en combinaison avec d'autres médicaments, représente une stratégie prometteuse pour moduler les réponses immunitaires innées et adaptatives (**Liu et al., 2024**).

### 1.1.10. Régulation de la mort cellulaires médiée par CD47

Le CD47 joue un rôle clé dans la régulation de la mort cellulaire dans divers types cellulaires, notamment les cellules de la leucémie lymphoïde chronique à cellules B (LLC-B), la leucémie lymphoblastique aiguë à cellules T (LAL-T) et les cellules du cancer du sein, ainsi que certaines lignées cellulaires saines (**Johansson et al., 2004; Mateo et al., 1999**).

Dans les cellules B leucémiques, la liaison de CD47 à un anticorps anti-CD47 immobilisé ou à la TSP1 induit la translocation de la protéine apparentée la dynamine 1 (DRP1) du cytosol vers les mitochondries (**Bras et al., 2007**).

L'activation ultérieure de DRP1 perturbe à son tour la chaîne de transport d'électrons mitochondriale, entraînant une perte du potentiel de membrane mitochondriale ( $\Delta\Psi_m$ ), une production accrue ROS, l'exposition à la phosphatidylsérine (PE) et, finalement, à la mort cellulaire indépendante de l'activation des caspases (**figure 1.7**) (**Polara et al., 2024**).

## Chapitre I : Revue de la littérature

Par ailleurs, la stimulation de CD47 par le peptide 4N1K, un peptide dérivé de TSP1 qui comprend le site de liaison de CD47, induit la dissociation de la protéine BNIP3 du CD47 et sa translocation vers la mitochondrie, où elle provoque une dépoliarisation de la membrane mitochondriale, déclenchant ainsi la mort cellulaire (Lamy et al., 2003) (figure 1.7).

La thrombospondine se lie au récepteur CD47, induisant une activation soutenue de PLC $\gamma$ 1, qui clive ensuite le phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP $_2$ ) en inositol 1, 4,5-trisphosphate (IP $_3$ ). IP $_3$  se fixe à ses récepteurs (IP $_3$ R) situés sur le réticulum endoplasmique (RE), provoquant la libération de calcium (Ca $^{2+}$ ). Ce flux calcique déclenche à son tour l'ouverture des récepteurs à la ryanodine (RyR) du RE, libérant davantage de calcium dans le cytoplasme. Une surcharge en calcium dans la cellule endommage les mitochondries, ce qui entraîne la mort cellulaire (Martinez-Torres et al., 2015) (figure 1.7).

L'interaction entre CD47 et la protéine G hétérotrimérique ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) active la signalisation Gi, entraînant l'inhibition de l'adénylate cyclase (AC). Cette inhibition réduit les niveaux d'AMPc et diminuant l'activité de la protéine kinase (PKA,) ce qui entraîne la mort cellulaire (Wang et al., 1999) (figure1.7).

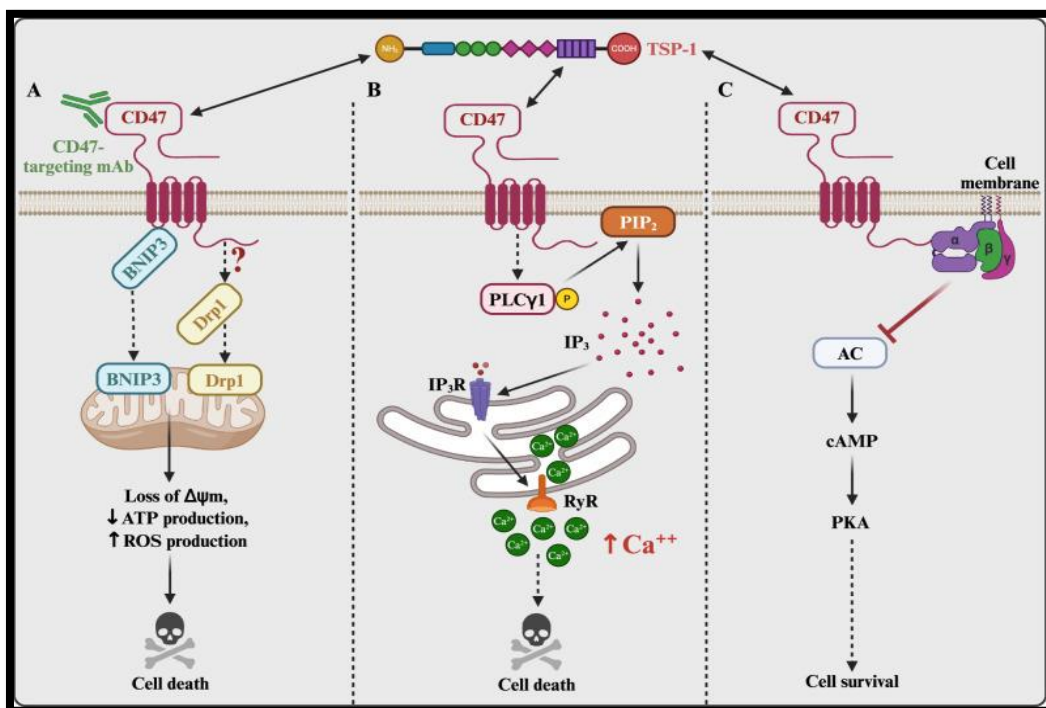


Figure1. 7.Régulation de la mort cellulaire médiée par CD47 (Polara et al., 2024)

### 1.1.11. Implication de CD47 dans le métabolisme et la survie cellulaires

La dérégulation métabolique est un problème de santé majeur, associée à des maladies acquises, notamment le syndrome métabolique, la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD), l'obésité et le diabète. Elle joue également un rôle dans le développement des maladies vasculaires, notamment l'hypertension, l'infarctus du myocarde et les accidents vasculaires cérébraux (**Roberts and Isenberg, 2021**).

Des études menées sur des modèles animaux ont révélé qu'une expression élevée de TSP1, agissant en partie via le récepteur CD47, induit des dysfonctionnements mitochondriaux et métaboliques (**Isenberg and Montero, 2024**). Ainsi des recherches cliniques ont établi une corrélation positive entre une expression anormale de TSP1 et l'apparition des maladies métaboliques notamment l'obésité, la stéatose hépatique et le diabète (**Roberts and Isenberg, 2021**).

La thrombospondine-1 (TSP1) exerce des effets délétères sur les voies métaboliques et les systèmes endocriniens. Son expression est favorisée par des conditions telles que l'hypoxie, l'inflammation, l'hyperglycémie, une alimentation riche en graisses et le vieillissement. Par l'intermédiaire de son interaction avec le récepteur CD47 (**Roberts and Isenberg, 2021**), TSP1 altère la fonction mitochondriale (**Frazier et al., 2011**) et augmente la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) pathologiques dans les cellules T (**Frazier et al., 2011**) et les cellules non immunitaires, perturbant ainsi l'homéostasie mitochondriale, le métabolisme et la survie des adipocytes et des cellules des îlots pancréatiques (**figure 1.8**) (**Roberts and Isenberg, 2021**).

La signalisation de la thrombospondine via le récepteur CD47 module divers processus cellulaires : au niveau des cellules vasculaires, elle régule l'angiogenèse et le flux sanguin, tandis que dans les macrophages et les lymphocytes T, elle régule l'immunité innée et adaptative. L'interaction de CD47 avec les protéines régulatrices du signal  $\alpha$  (SIRP $\alpha$ ) ou SIRP $\gamma$  contribue à la modulation de l'immunité innée et ainsi que l'immunité des lymphocytes T, exerçant ainsi une influence sur les maladies métaboliques (**Roberts and Isenberg, 2021**).

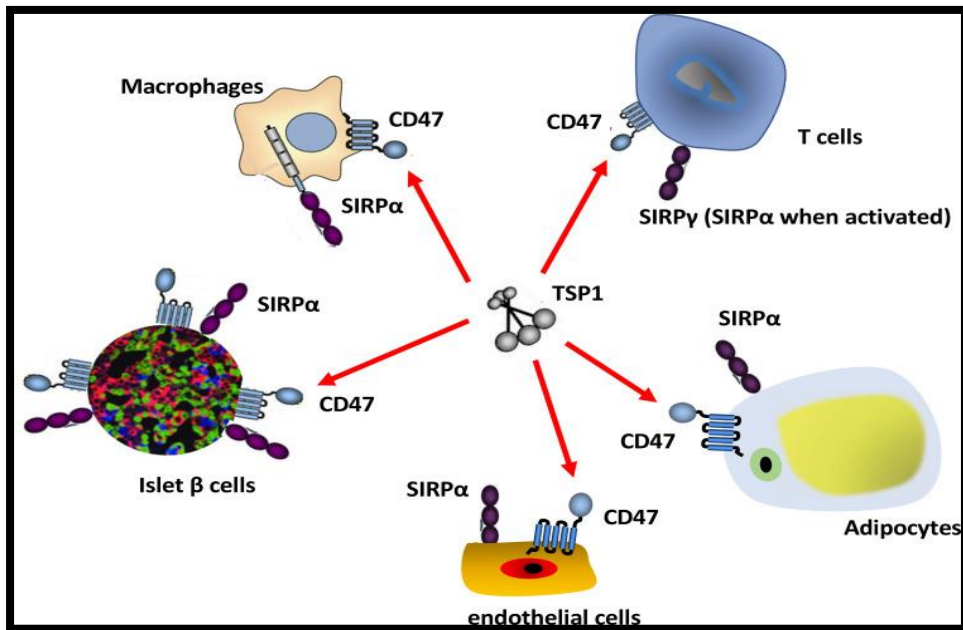


Figure 1. 8. CD47 et TSP1 Dans le syndrome métabolique (Roberts and Isenberg, 2021)

### 1.1.12. Rôle de CD47 dans le microenvironnement tumoral

CD47 est une protéine de surface cellulaire fortement exprimée dans de nombreux types de cancers, sa présence est souvent corrélée à la survie des patients et peut même prédire la réponse à l'immunothérapie. Le ciblage de CD47 est particulièrement intéressant car il interagit avec de multiples composants du TME. Nous résumons ici le rôle de CD47 dans divers cancers et sa relation avec le TME (Liu et al., 2024).

#### 1.1.12.1. CD47 dans le cancer du sein

Le cancer du sein représente la forme de cancer la plus courante chez les femmes, avec une incidence et un taux de mortalité en augmentation ces dernières années (Anastasiadi et al., 2017). Il est classifié en plusieurs sous-types suivants en fonction de ses caractéristiques moléculaires : Luminal A, Luminal B, HER 2<sup>+</sup>, cancer du sein triple négatif (TNBC) et type basal (Roulot et al., 2016).

Des niveaux élevés de CD47 sont souvent associés à de faibles taux de survie chez les patientes atteintes de cancer de sein (Kosaka et al., 2021). Cette surexpression peut

également être un facteur clé dans la résistance des CSC à la chimiothérapie (Lv et al., 2017). Il a été démontré que la metformine, un médicament antidiabétique, peut augmenter l'expression de miR-708 ce qui en retour inhibe l'expression de CD47 et améliore l'efficacité de la chimiothérapie dans le cancer du sein (Gauttier et al., 2020).

En conclusion, ces résultats suggèrent que l'association des anticorps anti-CD47 avec d'autres médicaments ou molécules pourrait représenter une stratégie prometteuse pour améliorer l'efficacité du traitement du cancer du sein (Liu et al., 2024).

### 1.1.12.2. CD47 dans le cancer de l'ovaire

CD47 joue un rôle central dans le cancer de l'ovaire associé à l'endométriose (CAEO). Son expression est significativement associée à un grade de cancer de l'ovaire plus élevé et à un mauvais pronostic (Liu et al., 2024).

Dans le contexte du CAEO, le CD47 inhibe la phagocytose tout en favorisant la prolifération et la migration cellulaires, inversement, une diminution des niveaux de CD47 peut inverser ces effets négatifs, suggérant son implication directe dans la progression tumorale (Shu et al., 2021). De plus, une faible expression de CD47 sur les cellules souches du cancer de l'ovaire protégée par les cellules tumorales environnantes, révèlent une vulnérabilité immunitaire potentielle (Chang et al., 2020). Par conséquent, CD47 se présente comme un marqueur de surface utile et une cible thérapeutique potentielle dans le cancer de l'ovaire (Wang et al., 2019).

### 1.1.12.3. CD47 et le cancer colorectal

Le cancer colorectal (CCR) est une pathologie multifactorielle. Représentant le troisième cancer le plus diagnostiqué et la deuxième cause de mortalité liée au cancer dans le monde (Duan et al., 2022). Le CD47, comme point de contrôle immunitaire inné, joue un rôle crucial dans l'échappement des cellules tumorales à la phagocytose par les macrophages. Cette étude à grande échelle a examiné de manière exhaustive la signification moléculaire de l'expression du gène *CD47* dans le CCR (Arai et al., 2024).

En raison de son rôle antiphagocytaire, CD47 est associé à des phénotypes tumoraux agressifs capables d'échapper à l'élimination par les phagocytes. Une analyse immunohistochimique menée sur une petite cohorte d'échantillons cliniques de CCR a

précédemment révélé que l'expression de la protéine CD47 était significativement corrélée à un pronostic défavorable (Arai et al., 2024). Dans le CCR, l'expression de CD47 est liée à l'activation de plusieurs voies oncogènes majeures, incluant MAPK, PI3K, l'angiogenèse et TGF- $\beta$ . Elle est également impliquée dans la modulation du microenvironnement tumoral (TME) liée au système immunitaire. Ces découvertes offrent des informations précieuses pour l'élaboration de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant les points de contrôle immunitaires innés dans le cancer colorectal (Liu et al., 2020).

Plus spécifiquement, la surexpression de CD47 a été montrée pour induire la migration et les métastases des cellules du CCR, notamment via les macrophages associés à la tumeur. Elle inhibe également la phagocytose des cellules du CCR par les macrophages, contribuant ainsi à l'évasion immunitaire du cancer. Inversement le traitement avec un anticorps anti-CD47 a démontré une réduction de la croissance tumorale en permettant aux macrophages de phagocyter les cellules cancéreuses et en déclenchant une réponse immunitaire antitumorale des lymphocytes T cytotoxiques. Ces résultats suggèrent fortement que CD47 représente une nouvelle cible thérapeutique prometteuse pour le traitement du cancer colorectal (Oh et al., 2022).

### 1.1.13. Immunothérapie

L'immunothérapie est une approche thérapeutique émergente en cancérologie. Elle vise à moduler le système immunitaire afin d'inhiber les voies pro-tumorales et augmenter la sensibilité des cellules tumorales à la chimiothérapie. Plusieurs traitements d'immunothérapie cliniquement validés, notamment les anticorps monoclonaux, se sont révélés efficaces contre diverses tumeurs solides. CD47 se distingue comme une cible particulièrement prometteuse pour la modulation des cellules immunitaires (Bess et al., 2025).

#### 1.1.13.1. Immunothérapie contre le cancer ciblant l'axe CD47/SIRP $\alpha$

La recherche clinique a établi le CD47 comme un point de contrôle immunitaire intrinsèque présentant un fort potentiel de développement thérapeutique. De nombreuses entreprises développent activement des médicaments ciblant le CD47, notamment des anticorps monoclonaux (mAbs), des anticorps bispécifiques (BsAbs), des protéines de fusion et des

## Chapitre I : Revue de la littérature

---

anticorps à petites molécules, dont plusieurs sont déjà en phase d'essais cliniques (**Wu et al., 2024**).

Le ciblage de l'axe CD47-SIRP $\alpha$  ne se limite pas à l'inhibition de leur interaction, il renforce également la capacité phagocytaire des macrophages contre les cellules tumorales (**Chao et al., 2010; Majeti et al., 2009**). Par ailleurs, il permet la destruction des cellules cancéreuses via la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) médiée par les cellules NK (**Kim et al., 2008**), et peut même induire directement leur apoptose. En outre, le ciblage de CD47 favorise la phagocytose des cellules tumorales par les cellules dendritiques, facilitant ainsi la présentation des antigènes tumoraux aux lymphocytes T et déclenchant une réponse immunitaire adaptative (**Liu et al., 2024**).

Deux grandes catégories des médicaments à ciblage moléculaire sont utilisées en clinique pour traiter le cancer. Le premier groupe comprend des anticorps anti-SIRP $\alpha$  uniques, qui présente un fort potentiel thérapeutique. Ces AC tel que le (BI 765063) ou d'autres en phase préclinique (KWAR23, ADU-168 et autres), sont capables, en monothérapie, d'induire efficacement la phagocytose des cellules tumorales par les macrophages humains (**Andrejeva et al., 2021**). En parallèle, ces traitements peuvent être associés à des anticorps ciblant les antigènes tumoraux, par exemple l'AO-176, un anticorps anti-CD47 de nouvelle génération, se distingue par sa capacité à se fixer préférentiellement sur les cellules tumorales par rapport aux cellules normales et se lie de manière négligeable aux globules rouges (**Puro et al., 2020**) fournissant une autre approche pour augmenter l'indice thérapeutique.

Enfin, ces anticorps anti-SIRP $\alpha$  uniques perturbent également l'interaction entre CD47 et les macrophages humains par deux mécanismes innovants et distincts, tout en préservant la fonctionnalité des lymphocytes T (**Andrejeva et al., 2021**).

De nouveaux systèmes d'administration de médicaments, tels que les technologies de nanomédecine et de biologie synthétique, sont également à l'étude dans le développement préclinique des thérapies ciblant CD47. Parmi eux le HuNb1-IgG4, un nanocorps généré par la fusion d'un anticorps anti-CD47 avec IgG4 à chaîne lourde, se distingue par sa petite taille, sa stabilité moléculaire, sa forte affinité pour CD47. Ces propriétés lui confèrent une activité anti tumorale in vivo et in vitro prometteuse, notamment contre le cancer de l'ovaire et le lymphome, sans induire une cytotoxicité hématopoïétique (**Ma et al., 2020**).

## Chapitre I : Revue de la littérature

Dans le cancer du sein triple négatif, la co-injection intratumorale du ligand STING cGAMP et de l'anticorps anti-CD47 a montré des résultats prometteurs. Cette combinaison a permis d'inhiber la croissance tumorale en favorisant la phagocytose des cellules cancéreuses par les macrophages et en induisant une réponse immunitaire antitumorale systémique, dépendante de la signalisation STING et IFN de type I (Kosaka et al., 2021)

Par ailleurs, des nanoparticules multifonctionnelles à base d'oxyde de fer, combinant un anticorps anti-CD47 et la gemcitabine, ont été développées pour le traitement du cancer du pancréas. Chen et al. mis au point un gel de fibrine bio-réactive, contenant ces nanoparticules conjuguées à CD47, conçu comme outil post-chirurgical pour induire la phagocytose des cellules tumorales et moduler à la fois la réponse immunitaire innée et adaptative (Chen et al., 2019). En outre, des bactéries à détection de quorum, ont été modifiées pour délivrer des fragments d'anticorps à chaîne unique ciblant CD47, entraînant une immunité antitumorale et une réduction de la progression tumorale (Chowdhury et al., 2019).

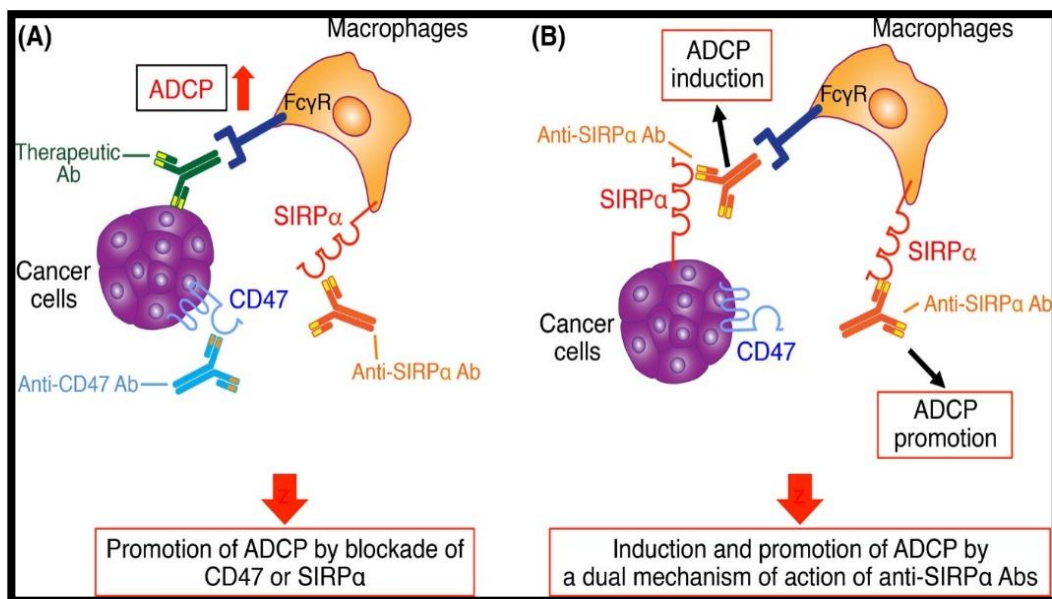


Figure1. 9. Le ciblage thérapeutique de la voie CD47-SIRP $\alpha$  peut entraîner l'élimination des cellules cancéreuses (Murata et al., 2018)

### 1.1.13.2. Impact du ciblage de CD47/SIRP $\alpha$ sur l'apoptose des cellules tumorales

La surexpression de CD47 à la surface des cellules tumorales permet à ces dernières d'échapper à la surveillance et à l'élimination par le système immunitaire. CD47 représente une cible thérapeutique prometteuse dans le développement de nouveaux traitements anticancéreux (**Matlung et al., 2017**). Par exemple, les traitements anti-CD47 visent à bloquer la signalisation inhibitrice de l'axe CD47-SIRP $\alpha$  et améliorer la phagocytose des cellules tumorales par les macrophages. Toutefois l'effet antitumoral de ces traitements anti-CD47 peuvent également s'exercer via divers mécanismes (**Chao et al., 2012**).

Le ciblage thérapeutique de la voie CD47-SIRP $\alpha$  peut conduire à l'élimination des cellules cancéreuses par divers multiples mécanismes. Premièrement, l'inhibition de l'interaction CD47-SIRP $\alpha$  à l'aide d'un anticorps anti-CD47, d'un anticorps anti-SIRP $\alpha$  ou d'une protéine SIRP $\alpha$  recombinante favorise la phagocytose des cellules tumorales par les macrophages. Deuxièmement, les anticorps anti-CD47 permettent également aux cellules dendritiques de phagocyter les cellules tumorales, ce qui facilite la présentation des antigènes tumoraux aux lymphocytes T CD4 $^{+}$  et CD8 $^{+}$ , déclenchant ainsi une réponse immunitaire adaptative antitumorale. Troisièmement, ces anticorps anti-CD47 peuvent induire la destruction des cellules tumorales par la cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC) et la cytotoxicité dépendante du complément (CDC) médiées par les cellules tueuses naturelles (**Zhang et al., 2020b**). Quatrièmement, les anticorps anti-CD47 stimulent l'apoptose des cellules tumorales par un mécanisme indépendant des caspases (**Zhang et al., 2020b**).

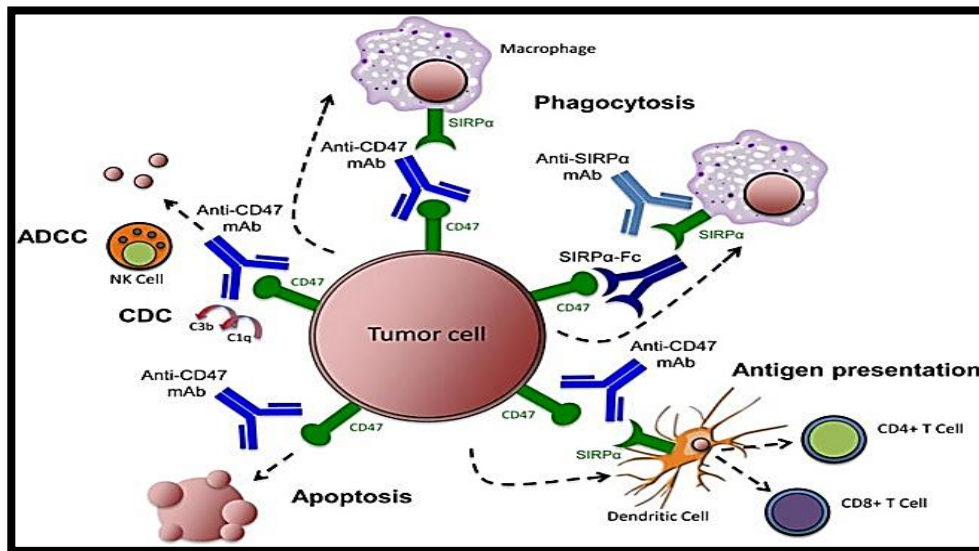


Figure1. 10. Le ciblage de l'axe CD47-SIRP dans le cancer (Zhang et al., 2020b)

### 1.1.13.3. Combinaison des anticorps anti-CD47 et de la chimio-radiothérapie

L'association de la chimio-radiothérapie avec des anticorps anti-CD47 représente une stratégie prometteuse pour éliminer les cellules tumorales en exploitant deux mécanismes distincts et complémentaires. La chimiothérapie en induisant une réponse inflammatoire, favorise le recrutement de macrophages effecteurs au sein des tumeurs, augmentant ainsi leur nombre avant l'administration de l'anticorps anti-CD47. Elle déclenche une réponse inflammatoire permettant le recrutement des macrophages dans les cellules tumorales (Liu et al., 2023).

La chimiothérapie induit l'expression des signaux phagocytaires, ce qui renforce l'efficacité de la phagocytose médiée par des anticorps anti-CD47. De plus La radiothérapie et la chimiothérapie augmentent l'expression des signaux pro-phagocytaires à la surface des cellules tumorales, tels que la calréticuline, connue pour agir comme un signal « mangez-moi ». Par exemple, dans le cas du glioblastome (GBM), l'utilisation du RRx-001 ciblant CD47 a augmenté la captation et l'accumulation de la Témolozomide (TMZ) dans un modèle de GBM orthotopique, améliorant l'efficacité des traitements anticancéreux (Oronsky et al., 2021).

Enfin, CD47 a été exploré comme adjuvant aux thérapies conventionnelles pour limiter les métastases tumorales. En effet, CD47 favorise les métastases tumorales, tandis que les anticorps anti-CD47 inhibent la métastase du LNH et de certaines tumeurs solides vers le

sang périphérique et d'autres localisations. Par conséquent, l'injection d'anticorps anti-CD47 pour prévenir les métastases tumorales, associée à une résection chirurgicale pourrait constituer une approche thérapeutique optimale (**Liu et al., 2024**).

### 1.2. Polymorphismes nucléotidiques simples

#### 1.2.1. Généralités

Les polymorphismes nucléotidiques (single nucleotide polymorphisms, SNP) représentent la forme la plus courante de variation génétique chez l'homme (**Korzeniewski et al., 2013**). Ils correspondent à la substitution d'un seul nucléotide présent à un emplacement spécifique du génome humain (**Halushka et al., 1999**). Ces variations peuvent se situer dans les régions codantes de gènes, dans leurs régions non codantes, ou encore dans les régions intergéniques (**Spencer and Barral, 2012**). Bien que leur fréquence varie au sein de la population, certains SNP peuvent avoir des effets délétères, en altérant la structure des protéines ou en perturbant la régulation de l'expression génique.

Des études antérieures indiquent que les polymorphismes non synonymes nsSNP sont responsables d'environ 50 % des mutations associées à diverses maladies génétiques, ainsi qu'à plusieurs pathologies auto-immunes et inflammatoires (**M. S. Hossain et al., 2020a**).

#### 1.2.2. Types de polymorphismes nucléotidiques

##### 1.2.2.1. Les SNPs non synonymes

Les polymorphismes nucléotidiques simples non synonymes (nsSNP) en particulier les SNP faux-sens, entraînent des substitutions d'acides aminés qui peuvent altérer la structure et la fonction des protéines humaines (**Md. S. Hossain et al., 2020**). Ces nsSNP ont fait l'objet de nombreuses études, notamment en ce qui concerne leurs impacts sur la stabilité de la protéines, les sites actifs enzymatiques, et leur association avec diverses pathologies (**Yates and Sternberg, 2013**).

##### 1.2.2.2. Les SNPs Synonymes

Les SNP synonymes correspondent à des mutations dans la séquence d'ADN qui n'entraînent pas de changement dans la séquence d'acides aminés des protéines. Ces mutations sont

## Chapitre I : Revue de la littérature

---

également soumises à la pression évolutive et peuvent être impliquées dans diverses pathologies. Plus récemment, plusieurs mécanismes ont été identifiés expliquant comment ces mutations peuvent influencer la structure, la fonction et le niveau d'expression des protéines. En effet, des études ont démontré que les polymorphismes synonymes peuvent altérer l'épissage de l'ARNm, perturber la stabilité et la structure de l'ARN messager, ainsi qu'affecter le repliement des protéines (**Hunt et al., 2009**).

### 1.2.3. Rôle des SNP dans la recherche biomédicale

Les SNP sont des variations génétiques très fréquentes, stables et largement réparties dans l'ensemble du génome. Ils sont impliqués dans la diversité génétique entre individus, influencent la sensibilité à certaines maladies et modulent la réponse aux traitements médicamenteux. Plus récemment, leur utilisation a été envisagée dans le cadre de tests d'homogénéité ainsi que dans des études pharmacogénétiques (**Shastri, 2002**).

Ces SNP représentent les nouvelles générations de marqueurs génétiques susceptibles de révolutionner la recherche biomédicale. Leur cartographie repose exclusivement sur l'identité et la position génomique de chaque séquence SNP (**Chen et al., 2002**).

L'intégration de la génétique dans le cadre de la recherche l'actuelle en santé environnementale présente deux avantages majeurs : a) la capacité à détecter différents niveaux de risque au sein de la population ; et b) une meilleure compréhension des mécanismes étiologiques. Ces deux avantages offrent des opportunités pour le développement de nouvelles méthodes de prévention des maladies (**Kelada et al., 2003**).

### 1.2.4. Analyse *in silico* des polymorphismes nucléotidiques

La bioinformatique est un domaine qui intègre la théorie et les applications des approches computationnelles visant à modéliser, prédire et expliquer les fonctions biologiques à l'échelle moléculaire. Ce domaine riche en informations nécessite le développement de nouvelles compétences ainsi qu'une compréhension approfondie des études génomiques, afin d'exploiter la quantité croissante d'informations sur les séquences, l'expression et la structure issues des bases de données publiques et privées (**Fielden et al., 2002**).

L'analyse *in silico* des nsSNP fonctionnels fournit des informations précieuses sur les effets délétères des nsSNP et leurs impacts potentiels sur la structure et la fonction de la protéine

## Chapitre I : Revue de la littérature

---

(Md. S. Hossain et al., 2020). Des recherches récentes utilisant des approches informatiques ont mis en évidence le rôle potentiel de ces mutations dans la compréhension des mécanismes moléculaires de nombreuses maladies (M. S. Hossain et al., 2020b).

### 1.2.4.1. Généralités

La recherche *in silico* de SNP repose sur l'utilisation de nombreux outils bio-informatiques accessibles, permettant de prédire de manière systématique les SNP potentiellement délétères, susceptibles d'affecter des cibles thérapeutiques majeures, avant d'engager des analyses expérimentales en laboratoire. Ces outils de prédiction s'appuient soit sur l'analyse, soit sur celle de la structure, car une grande partie des SNP pathogènes altère la stabilité des protéines affectent la stabilité des protéines. Des règles fondées sur la structure ont été développées pour distinguer les SNP ayant un impact fonctionnel significatif de ceux considérés comme neutres (Mah et al., 2011).

### 1.2.4.2. Importance des analyses *in silico* dans les maladies humaines

Les outils bio-informatiques offrent aux entreprises pharmaceutiques des moyens efficaces pour mieux comprendre l'impact des variantes génomiques sur l'efficacité et la toxicité des médicaments. Ces connaissances permettent d'optimiser la sélection des cibles soumises aux essais cliniques, contribuant ainsi à améliorer le taux de succès et à réduire les coûts liés au développement des médicaments (Mah et al., 2011).

Ces outils permettent de prédire les variantes génétiques susceptibles de jouer un rôle clé dans l'étiologie de ces pathologies et d'influencer les réponses thérapeutiques. Ces candidats SNP peuvent ensuite être classés selon leur pertinence pharmacologique dans le processus de découverte et de développement de nouveaux médicaments (Dabhi and Mistry, 2014).

## 1.3. Modifications post-traductionnelles

### 1.3.1. Généralités

Les modifications post-traductionnelles (MPT) sont des altérations chimiques qui régulent l'activité et la fonction des protéines. Sur le plan évolutif, elles constituent un mécanisme rapide et efficace de génération de diversité et de divergence phénotypiques (Bradley, 2022).

## **Chapitre I : Revue de la littérature**

---

Les MPT jouent un rôle dans de nombreux processus biologiques, notamment la signalisation cellulaire et les voies métaboliques (**M. S. Hossain et al., 2020b**).

Parmi ces modifications, l'acétylation, la méthylation, l'ubiquitination, la glycosylation et la phosphorylation jouent un rôle en influençant à la fois les processus physiologiques et la pathogenèse (**Liu et al., 2024**).

### **1.3.1.1. La phosphorylation**

La phosphorylation des protéines constitue un mécanisme central de régulation cellulaire, dans la mesure où de nombreux enzymes et récepteurs sont activés ou désactivés par des événements de phosphorylation et de déphosphorylation, médiés respectivement par des kinases et des phosphatases. Les protéines kinases jouent un rôle dans les voies de signalisation intracellulaires de la transduction cellulaire. Leur hyperactivité, leur dysfonctionnement ou leur surexpression sont fortement associés à diverses pathologies, en particulier les cancers. Ainsi, le recours à des inhibiteurs de kinases représente une stratégie prometteuse dans le traitement des maladies tumorales (**Ardito et al., 2017**).

### **1.3.1.2. La Méthylation**

La méthylation des protéines joue un rôle crucial dans la modulation de leur fonction, contribuant ainsi à l'optimisation et à la régulation des processus cellulaires et physiologiques. Ce type de modification se produit principalement sur les résidus de lysine et d'arginine, et intervient dans divers mécanismes cellulaires. La méthylation est catalysée par le transfert d'un groupe méthyle de la S-adénosylméthionine (SAM) vers un accepteur spécifique. Il est important de souligner que la dérégulation de la méthylation de certaines protéines peut être à l'origine de diverses maladies (**Grillo and Colombatto, 2005**).

### **1.3.1.3. L'ubiquitination**

L'ubiquitination est une modification post-traductionnelle essentielle, impliquée dans la régulation de la stabilité, de l'activité et de la localisation des protéines. Elle joue un rôle central dans la coordination de nombreux réseaux de signalisation cellulaire. Ce processus biochimique est catalysé par l'action séquentielle de trois enzymes distinctes, l'enzyme E1 (activatrice de l'ubiquitine), l'enzyme E2 (conjugatrice de l'ubiquitine) et l'enzyme E3 (ligase de l'ubiquitine), leur action conjointe permet la fixation covalente de la molécule d'ubiquitine

composés de 76 acides aminés sur une lysine interne ou sur le résidu N-terminal des substrats (Barbour et al., 2023).

### 1.3.1.4. La carbonylation

Est une modification post-traductionnelle résultant de l'ajoute de groupes carbonyles (aldéhyde ou cétone) sur certains acides aminés comme la lysine, la proline ou l'arginine. Bien qu'elle soit souvent associée au stress oxydatif, cette modification se produit également à base niveau en conditions physiologiques normale, ou elle joue un rôle important dans le contrôle qualité des protéines. En effet la carbonylation marque les protéines oxydées ou mal repliées pour leur dégradation, contribuant ainsi à maintenir l'équilibre protéique cellulaire (Nyström, 2005).

### 1.3.1.5. S-nitrosylation

La S-nitrosylation est une modification oxydative des résidus cystéine des protéines par l'oxyde nitrique (NO), conduisant à la formation de S-nitrosothiols. Ce processus modifie l'activité de nombreuses protéines et constitue un mécanisme clé de signalisation cellulaire basé sur l'oxydoréduction. Cette modification joue un rôle essentiel dans la régulation des voies de transduction, impliquées dans une multitude de processus cellulaires fondamentaux (Plenchette et al., 2016).

### 1.3.1.6. Nitration de la tyrosine

La nitration de la tyrosine est une modification post-traductionnelle des protéines, médiée par des dérivés réactifs de l'oxyde nitrique. Elle consiste en l'ajout d'un groupe nitro ( $-NO_2$ ) sur l'un des deux carbones ortho du cycle aromatique des résidus de tyrosine (Gow et al., 2004). Cette altération biochimique peut profondément modifier la fonction des protéines, notamment en abaissant le pKa du groupe phénolique de la tyrosine, qui passe de 10,1 dans la tyrosine à 7,2 dans la nitrotyrosine (Abello et al., 2009; Sokolovsky et al., 1967). Ce changement entraîne des perturbations stériques et électroniques susceptible d'affecter la capacité de la tyrosine à participer aux réactions de transfert d'électrons et à maintenir la conformation tridimensionnelle des protéines (van der Vliet et al., 1999).

### 1.3.2. Prédiction *in silico* des modifications post-traductionnelles

La modification post-traductionnelle des protéines est souvent perçue comme un mécanisme clé dans la dégradation, le renouvellement et la régulation des protéines, contribuant ainsi au maintien de l'homéostasie physiologique (Li et al., 2021).

Les MPT induisent des altérations structurelles dans les protéines existantes, leur permettant de participer à une grande variété de processus biologiques, selon leur effet d'activation ou inhibition des voies de signalisation en aval, ces modifications peuvent avoir des conséquences soit bénéfiques, soit délétères. Les MPT modulent fréquemment les propriétés électrostatiques ou structurelles des protéines cibles, influençant ainsi leurs interactions avec d'autres protéines (Li et al., 2021).

### 1.4. Problématique et objectifs

#### 1.4.1. Problématique

Comment les variations génétiques de la protéine CD47 peuvent-elles altérer sa structure tridimensionnelle, perturber sa fonction biologique, et modifier ses interactions avec les ligands impliqués dans le développement du cancer ?

En 2024, Lazar Maroua et Mahieddine Souheyla ont réalisé une analyse *in silico* des SNP à conséquences fonctionnelles sur les protéines CD47 et DRP1, sous la direction de Hadjidj Zeyneb, par l'utilisation des outils *in silico* pour déterminer les SNP délétères et leur impact sur la structure et la fonction de la protéine CD47. Cette étude a identifié quatre variations probablement délétères dans la protéine CD47 (G274S, G255E, V214G, G209V).

Dans ce travail nous allons étudier *in silico* l'impact de ces SNPs sur la structure tridimensionnelle et la fonction de CD47, ainsi que sur ses modifications post-traductionnelles, en utilisant diverses approches *in silico*.

### 1.4.2. Objectif

Ce mémoire a pour objectif d'identifier et de caractériser, à l'aide d'une analyse *in silico*, les polymorphismes mononucléotidiques (SNP) ayant des conséquences fonctionnelles et structurales sur le gène *CD47*. L'étude vise à explorer l'impact de ces variantes génétiques sur l'expression du gène, sa structure tridimensionnelle, ses modifications post-traductionnelles ainsi que leur rôle potentiel dans les pathologies immunitaires complexes, en particulier les cancers.

### 1.4.3. But

Cette étude vise à comprendre comment les SNPs du gène *CD47* altèrent sa structure et sa fonction, et comment ces modifications peuvent contribuer aux pathologies, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour le diagnostic, la prévention et le traitement ciblé.

# **Chapitre II : Matériels ET méthodes**

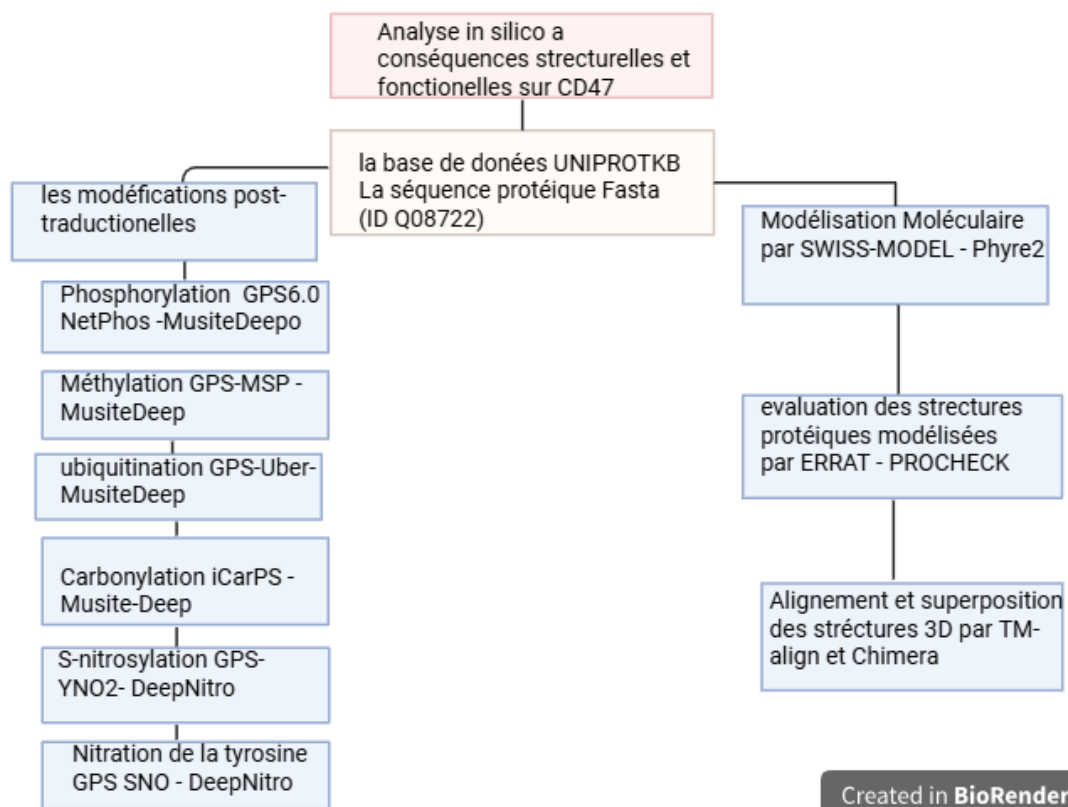
### 2. Chapitre II : Matériel et Méthodes

#### 2.1. Plan de travail

Les travaux de mémoire de fin d'études réalisés en 2024 par Lazar Maroua et Mahieddine Souheyla sous la direction du **Dr Hadjidj. Zeyneb**, ont permis d'identifier quatre variations potentiellement délétères dans CD47 (G274S, V214G, G255E, G209V).

Ce travail se poursuit selon deux axes principaux : la recherche des modifications post traductionnelles engendrées ou supprimées par ces variations et la modélisation tridimensionnelle des variantes protéiques afin d'identifier les différences structurales susceptibles d'être causées par ces mutations.

Ces recherches ont été menées au sein du laboratoire biologie Moléculaire Appliquée et d'immunologie, dirigé par le professeur Aribi Mourad.



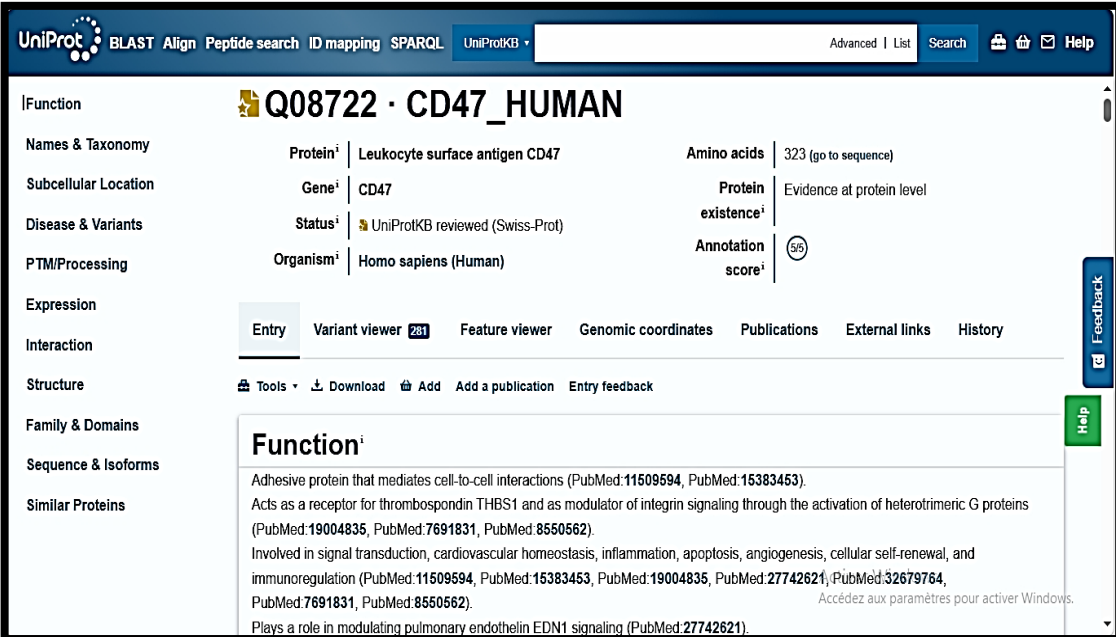
Created in BioRender.com

Figure 2. 1.Study Design

### 2.2. Collecte de donnée et sectionnées de séquence de protéines

Nous avons récupéré la séquence primaire protéique en utilisant la base de données UniProt <https://www.uniprot.org/> (numéro d'accèsion : Q08722)

Afin d'obtenir les séquences mutées de la protéine étudiée, nous avons tout d'abord extrait la séquence primaire à partir de la base de données UniProt <https://www.uniprot.org/>. Ensuite, cette séquence a été modifiée pour inclure les mutations spécifiques que nous souhaitons étudier. Les acides aminés variants ont ainsi été substitués par leurs équivalents mutés dans chaque protéine.



The screenshot shows the UniProt entry for Q08722 (CD47\_HUMAN). The 'Function' tab is selected, displaying the following text: "Adhesive protein that mediates cell-to-cell interactions (PubMed:11509594, PubMed:15383453). Acts as a receptor for thrombospondin THBS1 and as modulator of integrin signaling through the activation of heterotrimeric G proteins (PubMed:19004835, PubMed:7691831, PubMed:8550562). Involved in signal transduction, cardiovascular homeostasis, inflammation, apoptosis, angiogenesis, cellular self-renewal, and immunoregulation (PubMed:11509594, PubMed:15383453, PubMed:19004835, PubMed:27742621, PubMed:32679764, PubMed:7691831, PubMed:8550562). Plays a role in modulating pulmonary endothelin EDN1 signaling (PubMed:27742621)." The page also includes navigation tabs like 'Entry', 'Variant viewer', 'Feature viewer', etc., and a 'Feedback' button on the right.

Figure 2. Recherche de la séquence protéique du CD47 sur la base de données UniProt

### 2.3. Prédiction des modifications post-traductionnelles

Déférents outils disponible en ligne ont été utilisé pour effectuer les prédictions des modifications post-traditionnelles, ont été étudiée principalement la phosphorylation par GPS 6.0 <https://gps.biocuckoo.cn/>, NetPhos 3.1 <https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetPhos-3.1/> et MusiteDeep <https://www.musite.net/>, la méthylation par GPS-MSP 1.0 <http://msp.biocuckoo.org/>.

Les sites de carbonylation ont été prédits par iCarPS <http://lin-group.cn/server/iCarPS/webServer.html>,

Nous avons utilisés les logiciels GPS-YNO2 1.0 <http://yno2.biocuckoo.org/>, et Deep Nitro <http://deepnitro.renlab.org/webserver.html?fbclid=IwAR3IXaPoaCnCqNy0iaZjEaJ5uEiyeo3>

[hxzGiGixz5hvEx7P6GwLsxO36Xbc#result](https://hxzGiGixz5hvEx7P6GwLsxO36Xbc#result) pour prédire les sites de nitration de la tyrosine . et le logiciel GPS – SNO 1.0 pour prédire les sites de nutrosylation.

### 2.3.1. Prédiction des sites de phosphorylation

#### ✓ GPS 6.0

Nous avons utilisé GPS6.0, un outil de prédiction des modifications post-traductionnelles, accessible en ligne, conçu pour identifier les sites de phosphorylation spécifiques des protéines kinases (PK) chez les eucaryotes. Il se concentre principalement sur la prédiction des sites de phosphorylation des résidus de sérine, thréonine et tyrosine. Sa méthode repose sur une combinaison de trois algorithmes d'apprentissage automatique appliqués à des caractéristiques évolutives et séquentielles : une régression logistique pénalisée (PLR), un réseau neuronal profond (DNN), Light Gradient Boosting Machine (lightGBM). Pour utiliser le serveur web GPS 6.0, il suffit de soumettre une ou plusieurs séquences protéiques au format FASTA. Les résultats sont ensuite présentés sous forme de tableau, accompagnés d'annotations issues de 22 bases de données publiques. Grâce à une approche basée sur des connaissances existantes, GPS 6.0 offre des prédictions fiables et informatives, ce qui en fait un outil précieux pour des analyses plus approfondies de la phosphorylation (Chen et al., 2023). Site web : <https://gps.biocuckoo.cn/>

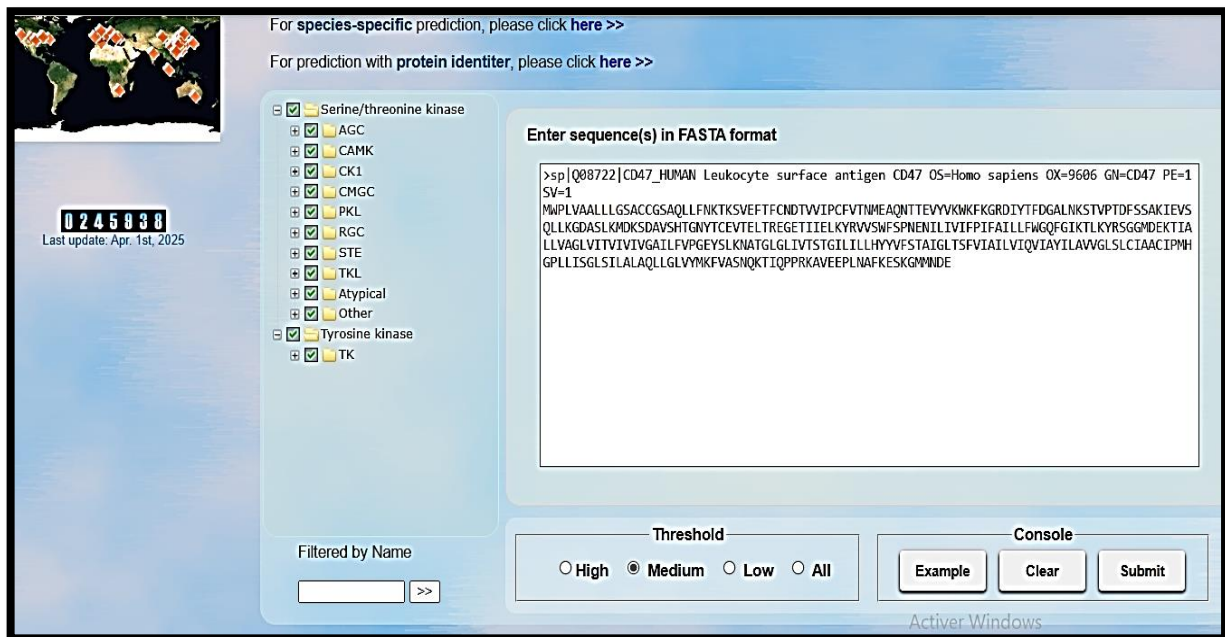


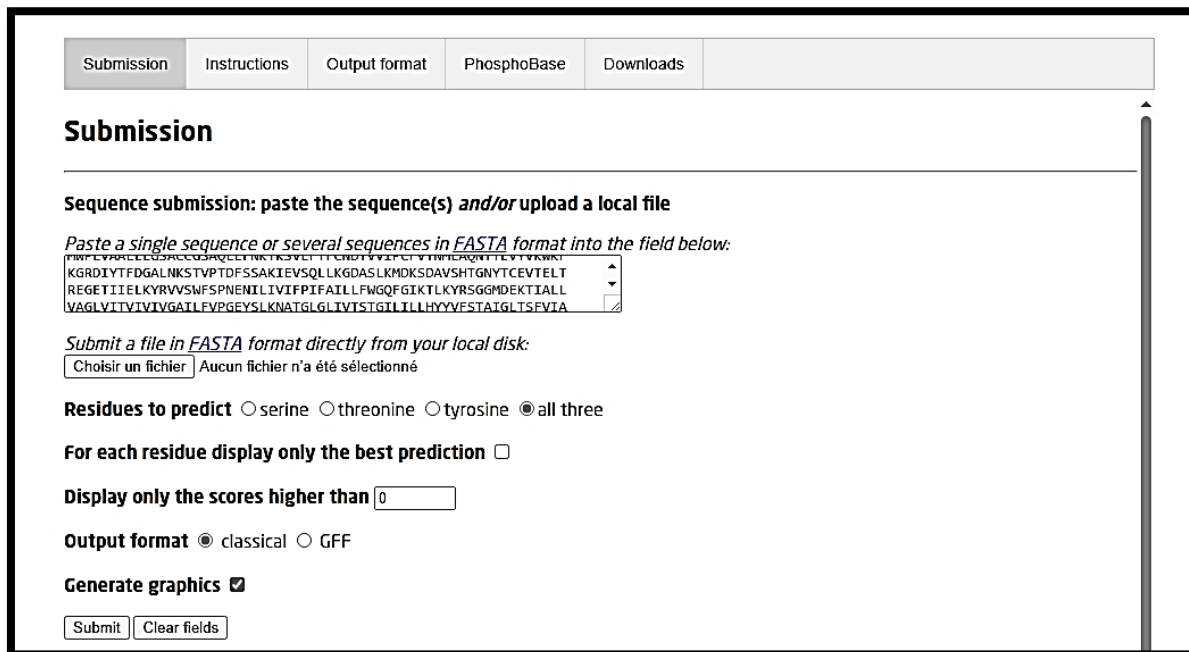
Figure 2. 3.Prédiction des sites de phosphorylation par GPS6.0

### ✓ NetPhos 3.1

Nous avons utilisé NetPhos, un outil en ligne basé sur des réseaux neuronaux artificiels, conçu pour prédire les sites potentiels de phosphorylation sur les résidus de sérine, thréonine et tyrosine dans les séquences protéiques (Biswas et al., 2010).

Pour l'utiliser, il suffit d'entrer une séquence protéique au format FASTA, puis de configurer les paramètres requis pour lancer l'analyse.

Site web (<https://services.healthtech.dtu.dk/service.phpNetPhos-3.1>)



The screenshot shows the NetPhos 3.1 web interface. At the top, there is a navigation bar with tabs for 'Submission', 'Instructions', 'Output format', 'PhosphoBase', and 'Downloads'. The 'Submission' tab is active. Below the navigation bar, the page title is 'Submission'. The main content area is titled 'Sequence submission: paste the sequence(s) and/or upload a local file'. It contains a text input field with a sample FASTA sequence: 

```
>P12345
KGRDIYTFDGLNKSIVPTDFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDSDAVSHGTGNYTCEVTELT
REGETIIEELKYRVVSNFSPNENILIVIFPIFALLFWGQFGIKTLKYRSGGMDKTIALL
VAGLVITVIVIGATLFPVPEYSLKNATGLGLIVTSTGILLLHYYVVESTAIGLTSEVIA
```

 Below the text field, there is a file upload button labeled 'Choisir un fichier' and the text 'Aucun fichier n'a été sélectionné'. There are three radio buttons for 'Residues to predict': 'serine', 'threonine', 'tyrosine', and 'all three' (which is selected). There is a checkbox for 'For each residue display only the best prediction'. There is a text input field for 'Display only the scores higher than' with the value '0'. There are two radio buttons for 'Output format': 'classical' (selected) and 'GFF'. There is a checkbox for 'Generate graphics' which is checked. At the bottom, there are two buttons: 'Submit' and 'Clear fields'.

Figure 2. 4. Prédiction des sites de phosphorylation par NetPhos

### ✓ MusiteDeep

Nous avons utilisé MusiteDeep, un outil en ligne avancé pour prédire les sites de phosphorylation et y compris ceux spécifiques aux kinases. Il utilise comme entrée des séquences brutes, analysées par des réseaux de neurones convolutifs intégrant un mécanisme innovant d'attention bidimensionnelle. Cet algorithme permet une amélioration relative de plus de 50 % de l'aire sous la courbe précision-rappel pour la prédiction des sites de phosphorylation généraux, tout en offrant des performances compétitives pour la prédiction spécifique aux kinases, comparées aux outils de références disponibles (Wang et al., 2017).

Site web : <https://www.musite.net/>

The screenshot shows the MusiteDeep web interface. At the top, there is a navigation bar with links: HOME, Job History, Download, API, Contact, Help, and Musite(SVM version). Below the navigation bar, the main heading reads "MusiteDeep: a deep-learning framework for protein post-translational modification site prediction". On the left, there are statistics: 7716 unique visitors, 2221075 processed proteins, and 431594173 processed amino acids. The main content area is titled "Submit your sequence(s)". It features a dropdown menu for "Please select a prediction model:" with two options: "Phosphorylation (S,T)" and "Phosphorylation (Y)". Below this is a text input area with the instruction "Paste input FASTA sequence(s) (up to 10 sequences or 5000 residues in total) in the area below: Load example FASTA". The input area contains a FASTA sequence for CD47: 

```
>sp|Q08722|CD47_HUMAN Leukocyte surface antigen CD47 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=CD47 PE=1 SV=1
MWPLVAALLGSACCGSAQLFNKTSVEFTFCNDTWIPCFVTNMEAQNTTEVVKWKF
KGRDIYTFDYGALNKSTVPTDFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDSKDAVSHGTGNYTCEVTELT
REGEDIHELKYRVVSWFSPNENILVIFPIFALLPWGQFGIKLKYRSGGMDKTIALL
VAGLIVITVIVGAILFVPGEYSLKNATGLLIVTSTGILLIHYVVFSTAIGLTSFVIA
ILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQ
PPRKAVEEPLNAFKESKGMNDE
```

 Below the input area, there is a link "For larger job, upload a FASTA file" and a blue "Start prediction" button. At the bottom, there is a citation section: "Please cite the following papers for using MusiteDeep: Wang, D., et al. (2020) MusiteDeep: a deep-learning based webserver for protein post-translational modification site prediction and visualization, Nucleic Acids Research, Volume 48, Issue W1, 02 July 2020, Pages W140–W146; Wang, D., et al. (2019) Capsule network for protein post-translational modification site prediction, Bioinformatics, 35(14), 2386–2394; Wang, D., et al. (2017) MusiteDeep: a deep-learning framework for general and kinase-specific phosphorylation site prediction, Bioinformatics, 33(24), 3909–3916."

Figure 2. 5. Prédiction des sites de phosphorylation par MusiteDeep

### 2.3.2. Prédiction des sites de méthylation

#### ✓ GPS-MSP 1.0

GPS-MSP (Méthyl-group Specific Predictor), un outil bioinformatique utilisé pour prédire les sites généraux de méthylation des protéines, en particulier au niveau des résidus de lysine et d'arginine. Contrairement aux approches classiques basées sur un alignement multiple des séquences, ce logiciel repose sur une stratégie d'alignement implicite de motifs peptidiques, centrée sur les résidus cibles. En comparaison, GPS-MSP démontre des performances supérieures dans la prédiction des sites de méthylation. Par ailleurs, l'intégration d'une classification des types de méthylation lors de l'apprentissage permet d'améliorer encore davantage la précision des prédictions. Globalement, il est suggéré que GPS-MSP constitue un outil précieux pour l'analyse computationnelle de la méthylation des protéines.

Le service en ligne ainsi que les versions locales du logiciel, sont librement accessibles pour un usage académique (Deng et al., n.d.). À l'adresse <http://msp.biocuckoo.org/>.

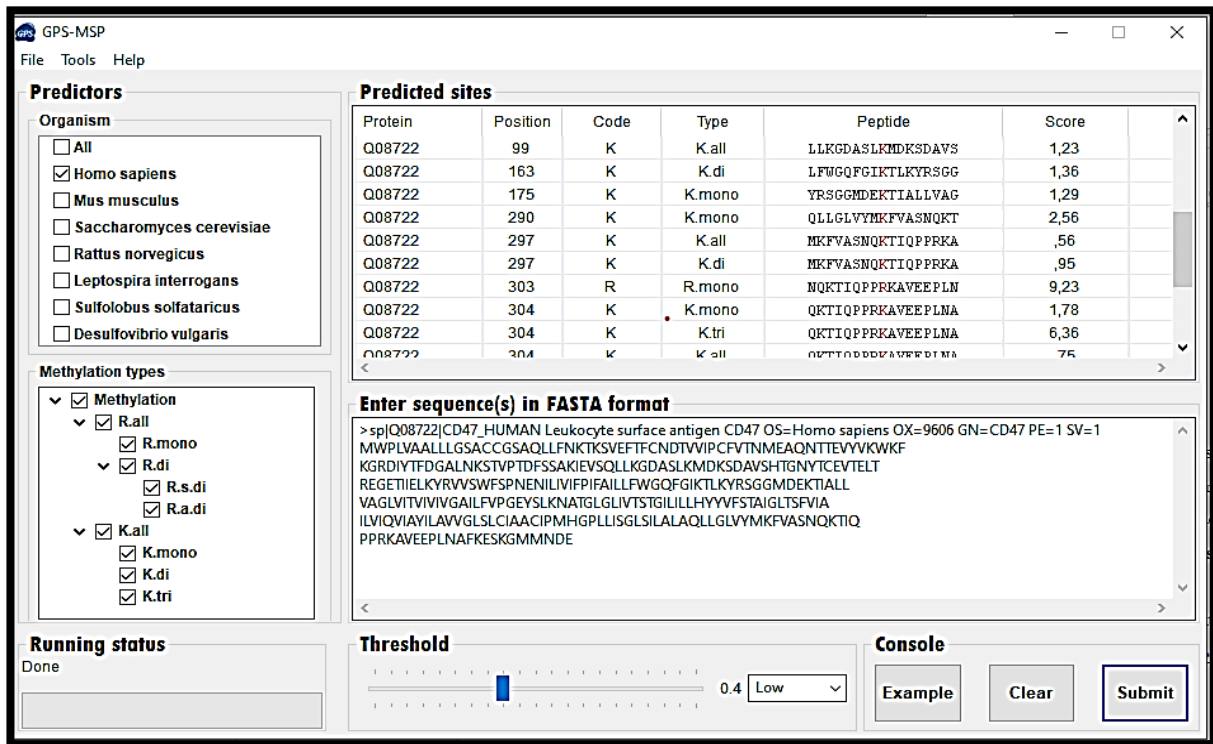


Figure 2. 6. Prédiction des sites de méthylation par GPS-MSP

### 2.3.3. Prédiction des sites des ubiquitination

#### ✓ GPS-UBER

L'analyse des sites d'ubiquitination a été réalisée à l'aide GPS-Uber, un outil informatique pour prédire les résidus de lysine susceptibles d'être modifiés. Cet outil repose sur un cadre d'apprentissage hybride, combinant trois algorithmes de prédiction, régression logistique pénalisée, réseau de neurones profond (DNN) et convolutionnel (CNN). L'ubiquitination, en tant que modification post-traductionnelle majeure, joue un rôle essentiel dans de nombreux processus biologiques et est impliquée dans diverses maladies humaines. La spécificité des sites d'ubiquitination est principalement régulée par les ubiquitine-protéine ligases (E3) (Wang et al., 2022) . Site web <https://gpsuber.biocuckoo.cn/>

The screenshot shows the GPS-Uber web server interface. At the top, there is a logo for GPS-Uber and a diagram illustrating the ubiquitination process involving Ubiquitin (Ub), E1, E2, E3, and a substrate. Below the logo, there are navigation tabs: HOME, WEB SERVER, USER GUIDE, LINKS, and CONTACT. The main content area is titled "products of cuckoo" and includes a sidebar with links to PTMs Predictor, Tools, and Databases. The main section is titled "GPS-Uber Web Server" and provides instructions on how to use the server for protein/peptide ubiquitination prediction. The instructions are: 1. Enter protein sequence(s) in fasta format, which starts with a '>' followed with protein/peptide name. 2. Select the prediction type, for general or for E3-specific prediction. E3-specific prediction contains 6 groups, 5 subgroups and 15 families. 3. Click the Submit button. Below the instructions, there is a link for "For prediction with protein identifier, please click here >>". The "Selection option" section includes a list of prediction types: Ubiquitination (checked), RING, RBR, HECT, Cullin RING, APC/C, N-recognin, and Other. The "Enter sequence(s) in FASTA format" section contains a text area with a sample protein sequence in FASTA format.

Figure 2. 7. Prédiction des sites d'ubiquitination par GPS-UBER

### 2.3.4. Prédiction des sites de carbonylation

#### ✓ iCarPS

L'identification des sites de carbonylation a été réalisée à l'aide de iCarPS, un outil informatique développé pour identifier les sites de carbonylation sur les résidus d'acides aminés K, P, R et T à partir des séquences protéiques. iCarPS repose sur de nouvelles caractéristiques codées dérivées des informations de la séquence, cet outil utilise un algorithme d'apprentissage supervisé basé sur des machines à vecteur de support (SVM), appliqué à un alignement local des motifs peptidiques centrés sur les résidus cibles, afin d'optimiser la précision de la prédiction (Zhang et al., 2021).

Site web : <http://lin-group.cn/server/iCarPS/webServer.html>

LinDing Group

iCarPS

You can visit the [LinDing Group](#) to view more scientific achievements.

Home Web Server Download User Guide Citation About Us CONTACT

When you type in or import protein sequences in fasta format, a prediction result will be returned in several seconds.

Enter sequence(s) in FASTA format:

```
>sp|Q98722|CD47_HUMAN Leukocyte surface antigen CD47 OS=Homo sapiens
OX=9686 GN=CD47 PE=1 SV=1
MNPLVAALLGSACGSAQLLFNKTQVEFTFCNDTVWPCFVTNMEAQNTTEVYVKKWF
KGRDIYTFDGLNKSIVPTDFSSAKIEVSQQLKGDASLKMDSKDAVSHGNYTCEVTEL T
REGETIIEELKYRVVSWFSPNENILIVFPFAILLFWGQFGIKTKYRSGGMDEKTIALL
VAGLVITVIVGAILFVPGEYSLKINATGLGIVTSTGILLHYYVFSTAIGLTSFVIA
ILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPPHGPLLISGLSILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQ
PPRKAVEEPLNAFKESKGMNDE
```

Please choose a suitable type for prediction

Carbonylation Sites: K (lysine)  
 Carbonylation Sites: P (proline)  
 Carbonylation Sites: R (arginine)  
 Carbonylation Sites: T (threonine)

Console

Example Clear Submit

Or upload a file in FASTA format :  Aucun fi...lectionné

Center for Informational Biology, University of Electronic Science and Technology of China, Sichuan, Chengdu 611731, China.

Figure 2. 8. Prédiction des sites de carbonylation par iCarPS

### 2.3.5. Prédiction des sites de nitration de tyrosine

#### ✓ GPS-YNO2

Nous avons utilisé le logiciel GPS-YNO2, un outil de prédiction computationnelle conçu pour identifier les sites de nitration des résidus de tyrosines dans les protéines. La détection de substrats nitrés spécifiques à un site est essentielle pour élucider les mécanismes moléculaires et les fonctions biologiques associées à la nitration des protéines (PTN). Lors d'une validation par la méthode « leave-one-out », le programme a affiché des performances prometteuses avec une précision de 76,51 %, une sensibilité de 50,09 % et une spécificité de 80,18 %. Cet outil est basé sur l'algorithme GPS 3.0 combine des méthodes de clustering, similarité peptidique (BLOSUM62), pondération des motifs locaux et optimisation par mutation matricielle (Liu et al., 2011).

Site web : <http://yno2.biocuckoo.org/>





Figure 2. 10. Prédiction des S-nitrosylation et de nitration des tyrosines par DeepNitro

### ✓ GPS-SNO

Nous avons utilisé GPS-SNO 1.0, un logiciel de prédiction spécialisé dans l'identification des sites de S-nitrosylation spécifiques aux kinases, basé sur une version modifiée de l'algorithme Group-based Prediction system (GPS 3.0) dérivé du système GPS-SNO (Xue et al., 2010). Site web : <http://sno.biocuckoo.org>.

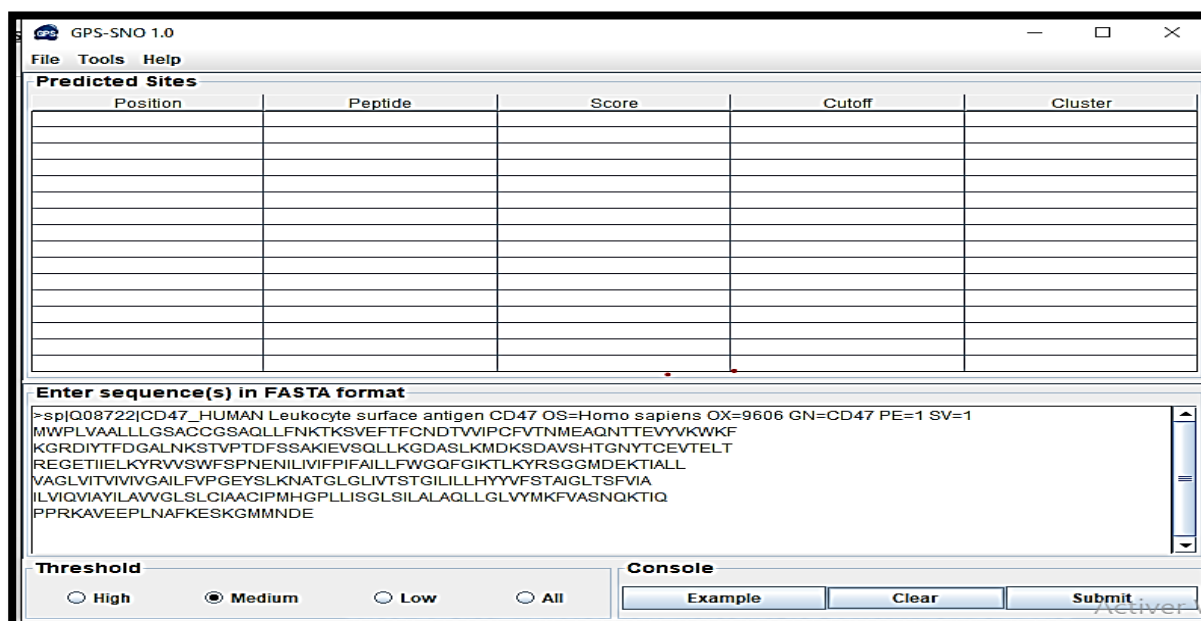


Figure 2. 11. Prédiction des sites S-nitrosylation par GPS-SNP 1.0

### 2.4. Modélisation moléculaire

#### ✓ Modélisation par Phyre2

Nous avons utilisé Phyre2, un outil en ligne conçu pour prédire et analyser la structure, la fonction et les mutations des protéines. Il vise à offrir aux biologistes une interface simple et conviviale intégrant des outils bioinformatiques avancés. En s'appuyant sur des méthodes sophistiquées de détection d'homologie à distance, Phyre2 permet de générer des modèles 3D de protéines, de prédire les sites de liaison des ligands et d'évaluer l'impact des variantes d'acides aminés, telles que les SNP, sur la séquence protéique fournie par l'utilisateur (Kelley et al., 2015).

Site web : <http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/~phyre2/html/page.cgi?id=index>

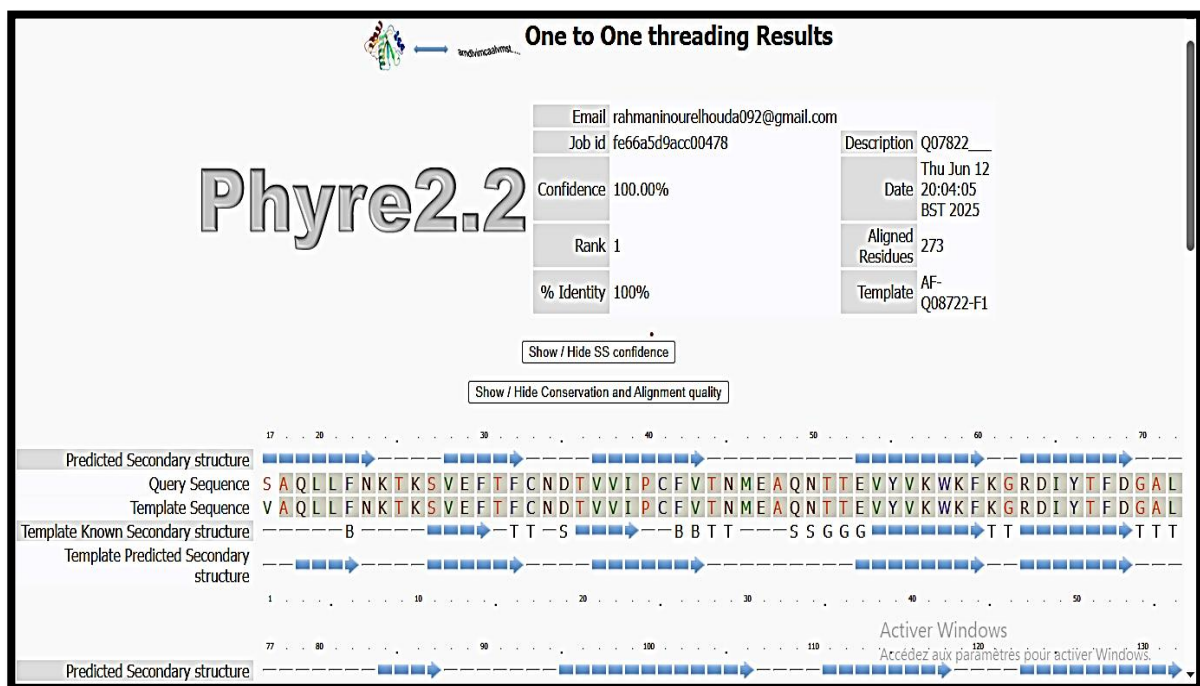


Figure 2. 12. Modélisation des structures tridimensionnelles des protéines par Phyre2

#### ✓ Modélisation par SWISS-MODEL

Nous avons utilisé SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org>), un serveur en ligne entièrement automatisé conçu pour générer des modèles tridimensionnels de protéines via la modélisation par homologie. Grâce à une base de données de structures protéiques expérimentales, et utilise un alignement de type séquence-structure réalisé à l'aide des

## Chapitre II : Matériels et méthodes

algorithmes Clustal Omega ou HHblits. les fonctionnalités de SWISS-MODEL ont récemment été étendues afin de permettre la modélisation de complexes homomériques et hétéromériques, en utilisant les séquences d'acides aminés des partenaires protéiques en interaction (Waterhouse et al., 2018).

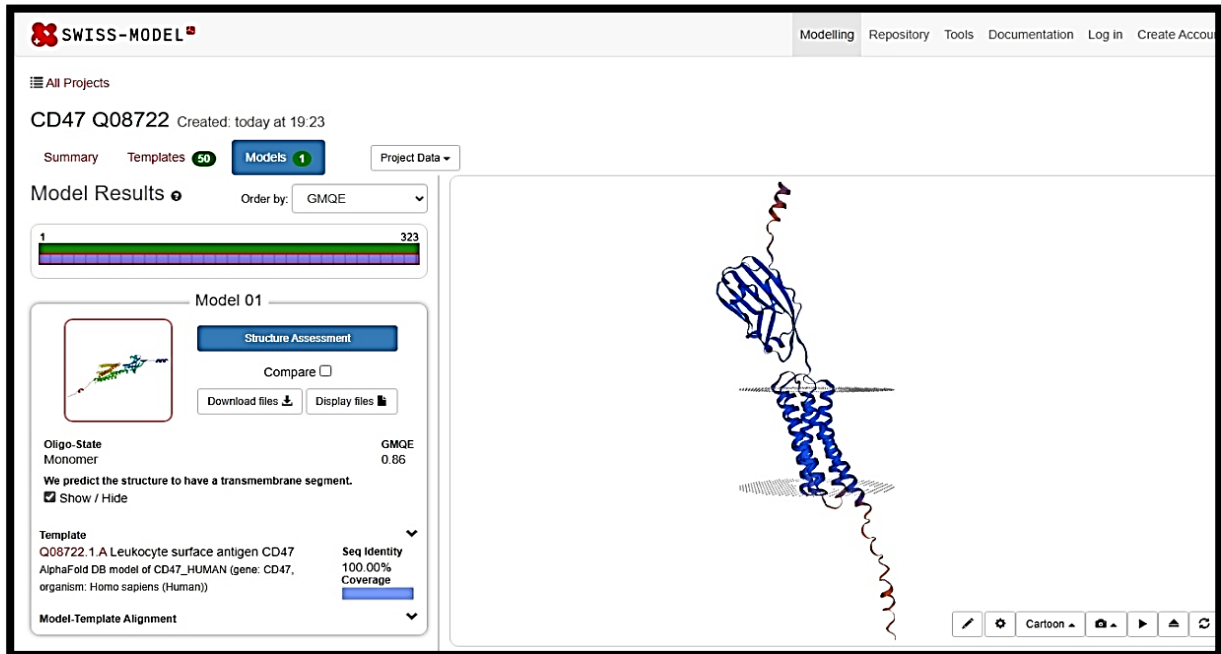


Figure 2. 13. Modélisation des structures tridimensionnelles des protéines par SWISS-MODEL

### 2.5. Evaluation de la qualité des structures des protéines modélisées

#### ✓ ERRAT

Nous avons utilisé ERRAT, un algorithme conçu pour évaluer la qualité des structures protéiques, en particulier lors des étapes de construction et d'affinement des modèles cristallographiques. Il repose sur l'analyse statistique des interactions atomiques non liées. Cette méthode permet d'identifier les régions incorrectes d'un modèle en détectant les anomalies dans les distributions d'atomes. Les erreurs structurales se manifestent par des répartitions atomiques aléatoires, facilement différenciables des distributions attendues des structures protéiques (Colovos and Yeates, 1993). Site web : <https://saves.mbi.ucla.edu/>

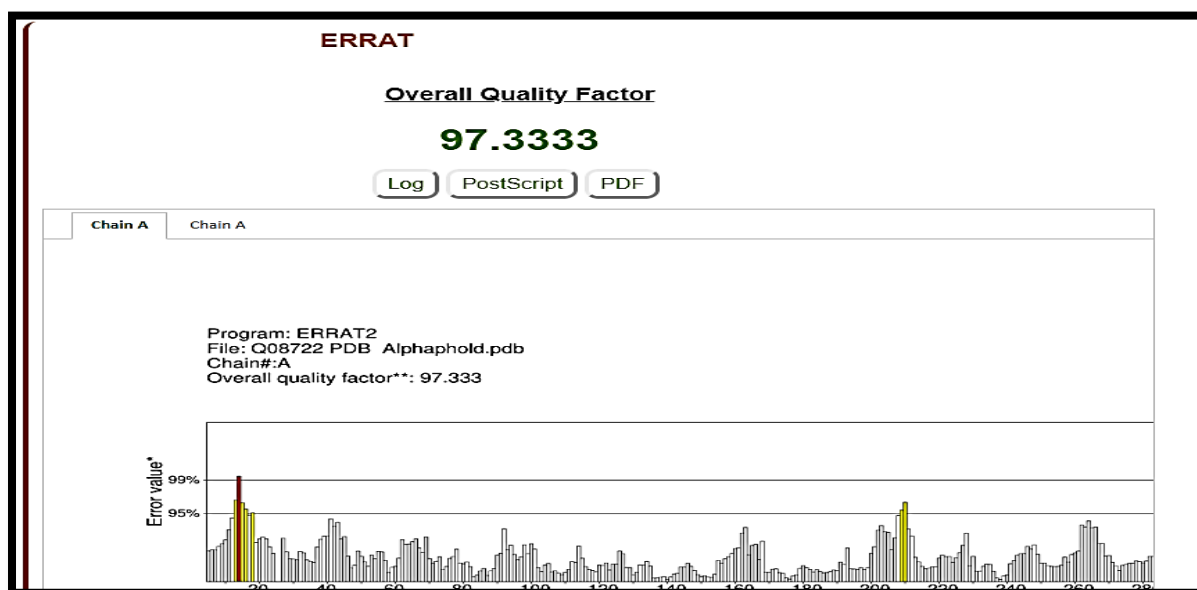


Figure 2. 14.Évaluation de la qualité des structures des protéines par ERRAT

### ✓ PROCHEK

Le programme PROCHECK a été utilisé pour évaluer la qualité stéréochimique d'un modèle protéique. Il repose sur une série d'algorithmes géométriques permettant de calculer différents paramètres structuraux, qu'il compare à des valeurs « idéales » dérivées des structures protéiques de haute résolution issues de la Protein Data Bank. Il vérifie également les longueurs et les angles de liaison de la chaîne principale, en les confrontant aux standards établis à partir de structures bien affinées (Laskowski, 2006). Site : <https://saves.mbi.ucla.edu/>

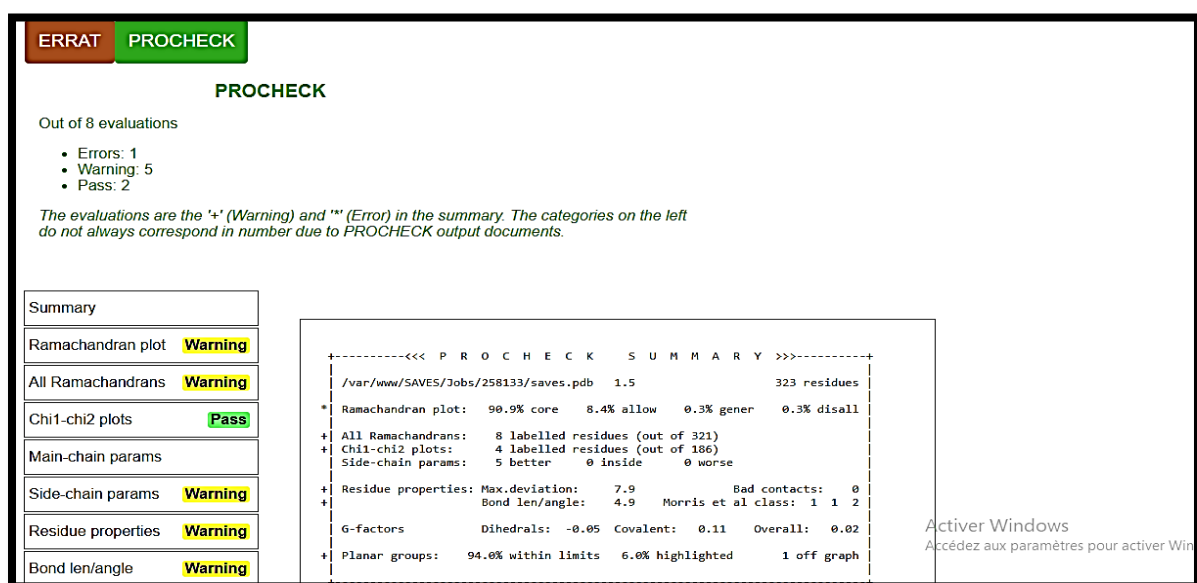


Figure 2. 15.Évaluation de la qualité des structures des protéines par PROCHEK

### 2.6. Alignement des structures tridimensionnelles des protéines

#### ✓ TM-align

L'algorithme d'alignement structural TM-align a été utilisé pour comparer les conformations entre les structures sauvages et mutantes, il repose sur une approche simplifiée combinant le threading continu et la similarité des structures secondaires. Cette méthode permet de générer un ensemble initial de résidus équivalents servant de base à l'alignement structural entre deux protéines. Cet ensemble est ensuite affiné à l'aide de la programmation dynamique afin de maximiser le score TM. L'algorithme améliore cet alignement initial en adoptant une stratégie d'assemblage des fragments, qui permet de générer des équivalences plus pertinentes. Ce processus est ensuite optimisé par des itérations heuristiques, intégrant une matrice de rotation fondée sur les scores TM, couplées à une programmation dynamique, afin d'obtenir l'alignement structural présentant le score TM le plus élevé (Pandit and Skolnick, 2008).

Site web : <http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/TM-align/>



Figure 2. 16. Alignement des structures des protéines par TM-align

### ✓ Chimera

Nous avons utilisé UCSF Chimera, un système interactif et hautement extensible dédié à la visualisation et à l'analyse moléculaire. Il prend en charge de nombreux formats de fichiers moléculaires et permet d'afficher les structures selon diverses représentations. Chimera capable de produire des images et des animations de haute qualité, idéales pour la publication scientifique et les présentations. De plus, Chimera propose des outils avancés permettant notamment l'affichage et l'analyse de cartes de densité issues de la microscopie, l'exploitation d'informations de symétrie pour visualiser des structures d'ordre supérieur, la visualisation de multiples alignements de séquences avec une interconnexion entre les séquences et les structures, ainsi que l'analyse des trajectoires de dynamique moléculaire et des résultats de docking ("EADock," 2007).

Site web : <https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/download.html>



**Figure 2. 17. Visualisation et superposition des structures 3D par Chimera**

# **Chapitre IV : Discussion**

### Chapitre IV : Discussion

La protéine CD47, également connue sous le nom d'intégrine-Associated protein (IAP) est une glycoprotéine transmembranaire appartenant à la superfamille des immunoglobulines. Elle est exprimée de manière ubiquitaire à la surface de nombreuses cellules, notamment les cellules sanguines, les cellules endothéliales et les cellules tumorales (**Liu et al., 2024**). CD47 agit principalement comme un signal du soi « don't eat me » en interagissant avec le récepteur SIRP $\alpha$  exprimé par les macrophages. Cette interaction inhibe la phagocytose, permettant aux cellules de se protéger contre une élimination immunitaire inappropriée (**Eladl et al., 2020**).

Lazar Maroua et Mahieddine Souheyla ont identifié les nsSNP à conséquences fonctionnelles potentiellement délétères dans la protéine CD47. Elles ont déterminé 4 nsSNP dans le gène CD47 (G274S, G255E, V214G, G209V).

Dans cette étude nous avons réalisé une analyse *in silico* des modifications post-traductionnelles qui peuvent être engendrées ou supprimées par ces variations ainsi qu'une modélisation moléculaire de la protéine CD47.

Les analyses de prédiction des modifications post-traductionnelles dans la protéine CD47, en utilisant 11 outils bio-informatiques, ont révélé la disparition des sites de phosphorylation aux positions (G257, T208) causée par les variations suivantes (G255E, G209V), nous avons également détecté l'apparition des sites de phosphorylation aux positions (G274S, T215) après les mutations (G274S, G209V). Concernant la méthylation, un site potentiel a été prédit au niveau du résidu R303 dans la forme sauvage de CD47, ce site a été perdu suite à la mutation G274S. En parallèle les SNP V214G et G209V ont conduit à l'apparition de deux nouveaux sites de méthylation. Par ailleurs l'analyse de l'ubiquitination a révélé l'ajoute d'un site potentiel au niveau de la lysine K205, induit par la mutation V214G.

Cependant, aucune carbonylation, nitration de la tyrosine ou S-nitrosylation significative n'a été observée. Ces MPTs peuvent influencer considérablement la fonction et la structure de la protéine étudiée.

Nos résultats en accord avec ceux rapportés par Zhang, montrant que les SNP peuvent modifier les sites de PTM de CD47, influençant sa stabilité et ses interactions fonctionnelles (**Zhang et al., 2024**).

## Chapitre IV : Discussion

---

Pour la modélisation moléculaire, nous avons utilisé deux serveurs bio-informatique, SWISS-MODEL et Phyre2, afin d'obtenir les structures tridimensionnelles de la protéine CD47, dans ses formes sauvage et mutée. Les modèles structurelles (Template) ont été sélectionnés sur la base de leur score de similarité afin d'assurer une modélisation de haut qualité. Pour la modélisation de CD47, nous avons choisis le modèle (Q08722.A.1), en fonction de sa compatibilité structurale et de ses performances d'alignement. Ce choix est renforcé par le fait que cette séquence correspond à la forme canonique de CD47, référence dans UniProt, et qu'elle a été utilisée dans l'étude cristallographique de Hatherley et al pour décrire la structure du domaine IgV de CD47 en interaction avec SIRP $\alpha$  (Hatherley et al., 2008). Par ailleurs l'utilisation du modèle Alphahold améliore la fiabilité de notre modélisation. Sa précision est souvent équivalente, voire supérieures à celle des approches traditionnelles par l'homologie, ce qui justifie pleinement son intégration dans notre analyse comparative.

La qualité des structures modélisées a été évaluée à l'aide des outils ERRAT et PROCHECK, permettent valider la fiabilité des modèles générés. Ensuite l'outil TM-align a été utilisé pour aligner les conformations tridimensionnelles des formes sauvages et mutées de CD47.

Enfin, le logiciel Chimera, grâce à ses fonctionnalités interactives et extensibles, a été utilisé pour visualiser et analyser les structures tridimensionnelles modélisées de la protéine CD47. La superposition des structures mutées sur la forme sauvage a révélé des variations structurales notables, notamment au niveau des sites fonctionnels.

Ces altérations confirment que les SNP non synonymes identifiées dans la séquence de CD47 telle que (G274S, G255E, V214G, G209V), pourraient avoir un impact significatif sur la conformation tridimensionnelle de la protéine CD47. Par conséquent ces mutations sont susceptibles de perturber les fonctions biologiques et la structure de CD47, notamment ses interactions avec d'autres protéines et son rôle dans les voies de signalisation cellulaires.

Il est donc nécessaire de mener des études expérimentales complémentaires afin de valider ces prédictions *in silico*, de confirmer leurs effets potentiels, et de mieux comprendre les conséquences fonctionnelles et structurales de ces variations au niveau cellulaire et physiologiques.

# Chapitre V : Conclusion

### Chapitre V : Conclusion

Notre étude a permis d'analyser les conséquences structurales et fonctionnelles des single nucléotides polymorphisms (SNP) sur la protéine CD47, dans le contexte du cancer. Pour cela, nous avons utilisé divers outils bioinformatiques afin de prédire les modifications post-traductionnelles potentiellement altérées par les SNP identifiées comme délétères. La modélisation moléculaire a ensuite été utilisée pour visualiser les altérations structurales associées à ces mutations.

Nos résultats ont montré que certaines variantes de la protéine CD47 (G274S, G255E, V214G, G209V) pourraient induire des modifications post-traductionnelles notamment la phosphorylation et la méthylation, altérant préférentiellement ses fonctions biologiques, notamment dans la signalisation cellulaire et la régulation immunitaire. Ainsi cette étude fournit des données préliminaires sur l'impact de mutations génétiques spécifiques de CD47, ces résultats pourront servir comme point de départ pour des études expérimentales visant à valider les effets de ces SNP sur les protéines et leur rôle dans le développement du cancer.

# **Chapitre VI : Bibliographie**

### Chapitre VI : Bibliographie

#### A

Abello, N., Kerstjens, H.A.M., Postma, D.S., Bischoff, R., 2009. Protein Tyrosine Nitration: Selectivity, Physicochemical and Biological Consequences, Denitration, and Proteomics Methods for the Identification of Tyrosine-Nitrated Proteins. *J. Proteome Res.* 8, 3222–3238. <https://doi.org/10.1021/pr900039c>

Ali, M.Z., Farid, A., Ahmad, S., Muzammal, M., Mohaini, M.A., Alsalman, A.J., Al Hawaj, M.A., Alhashem, Y.N., Alsaleh, A.A., Almusalami, E.M., Maryam, M., Khan, M.A., 2022. In Silico Analysis Identified Putative Pathogenic Missense nsSNPs in Human SLITRK1 Gene. *Genes* 13, 672. <https://doi.org/10.3390/genes13040672>

Anastasiadi, Z., Lianos, G.D., Ignatiadou, E., Harissis, H.V., Mitsis, M., 2017. Breast cancer in young women: an overview. *Updat. Surg.* 69, 313–317. <https://doi.org/10.1007/s13304-017-0424-1>

Andrejeva, G., Capoccia, B.J., Hiebsch, R.R., Donio, M.J., Darwech, I.M., Puro, R.J., Pereira, D.S., 2021. Novel SIRP $\alpha$  Antibodies That Induce Single-Agent Phagocytosis of Tumor Cells while Preserving T Cells. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 206, 712–721. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2001019>

Arai, H., Gandhi, N., Battaglin, F., Wang, J., Algaze, S., Jayachandran, P., Soni, S., Zhang, W., Yang, Y., Millstein, J., Lo, J.H., Sohal, D., Goldberg, R., Hall, M.J., Scott, A.J., Hwang, J.J., Lou, E., Weinberg, B.A., Marshall, J., Goel, S., Xiu, J., Korn, W.M., Lenz, H.-J., 2024. Role of CD47 gene expression in colorectal cancer: a comprehensive molecular profiling study. *J. Immunother. Cancer* 12, e010326. <https://doi.org/10.1136/jitc-2024-010326>

Ardito, F., Giuliani, M., Perrone, D., Troiano, G., Lo Muzio, L., 2017. The crucial role of protein phosphorylation in cell signaling and its use as targeted therapy (Review). *Int. J. Mol. Med.* 40, 271–280. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.3036>

#### B

Bald, T., Krummel, M.F., Smyth, M.J., Barry, K.C., 2020. The NK cell-cancer cycle: advances and new challenges in NK cell-based immunotherapies. *Nat. Immunol.* 21, 835–847. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-0728-z>

Bamberger, M.E., Harris, M.E., McDonald, D.R., Husemann, J., Landreth, G.E., 2003. A cell surface receptor complex for fibrillar beta-amyloid mediates microglial activation. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 23, 2665–2674. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-07-02665.2003>

Barbour, H., Nkwe, N.S., Estavoyer, B., Messmer, C., Gushul-Leclaire, M., Villot, R., Uriarte, M., Boulay, K., Hlayhel, S., Farhat, B., Milot, E., Mallette, F.A., Daou, S., Affar, E.B., 2023. An inventory of crosstalk between ubiquitination and other post-translational modifications in orchestrating cellular processes. *iScience* 26, 106276. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106276>

## Chapitre VI : Bibliographie

---

- Barh, D., Chaitankar, V., Yiannakopoulou, E.C., Salawu, E.O., Chowbina, S., Ghosh, P., Azevedo, V., 2014. In Silico Models. *Anim. Biotechnol.* 385–404. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416002-6.00021-3>
- Barnhart, M.I., Lusher, J.M., 1979. Structural physiology of the human spleen. *Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 1, 311–330.
- Berkovits, B.D., Mayr, C., 2015. Alternative 3' UTRs act as scaffolds to regulate membrane protein localization. *Nature* 522, 363–367. <https://doi.org/10.1038/nature14321>
- Bess, S.N., Igoe, M.J., Muldoon, T.J., 2025. The Physiological and Therapeutic Role of CD47 in Macrophage Function and Cancer. *Immunol. Invest.*
- Bian, H.-T., Shen, Y.-W., Zhou, Y.-D., Nagle, D.G., Guan, Y.-Y., Zhang, W.-D., Luan, X., 2022. CD47: Beyond an immune checkpoint in cancer treatment. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Rev. Cancer* 1877, 188771. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2022.188771>
- Biswas, A.K., Noman, N., Sikder, A.R., 2010. Machine learning approach to predict protein phosphorylation sites by incorporating evolutionary information. *BMC Bioinformatics* 11, 273. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-273>
- Blazar, B.R., Lindberg, F.P., Ingulli, E., Panoskaltsis-Mortari, A., Oldenborg, P.A., Iizuka, K., Yokoyama, W.M., Taylor, P.A., 2001. CD47 (integrin-associated protein) engagement of dendritic cell and macrophage counterreceptors is required to prevent the clearance of donor lymphohematopoietic cells. *J. Exp. Med.* 194, 541–549. <https://doi.org/10.1084/jem.194.4.541>
- Bradley, D., 2022. The evolution of post-translational modifications. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 76, 101956. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2022.101956>
- Bras, M., Yuste, V.J., Roué, G., Barbier, S., Sancho, P., Virely, C., Rubio, M., Baudet, S., Esquerda, J.E., Merle-Béral, H., Sarfati, M., Susin, S.A., 2007. Drp1 mediates caspase-independent type III cell death in normal and leukemic cells. *Mol. Cell. Biol.* 27, 7073–7088. <https://doi.org/10.1128/MCB.02116-06>
- Brittain, J.E., Han, J., Ataga, K.I., Orringer, E.P., Parise, L.V., 2004. Mechanism of CD47-induced  $\alpha 4\beta 1$  Integrin Activation and Adhesion in Sickle Reticulocytes \*. *J. Biol. Chem.* 279, 42393–42402. <https://doi.org/10.1074/jbc.M407631200>
- Brown, E., Hooper, L., Ho, T., Gresham, H., 1990. Integrin-associated protein: a 50-kD plasma membrane antigen physically and functionally associated with integrins. *J. Cell Biol.* 111, 2785–2794. <https://doi.org/10.1083/jcb.111.6.2785>
- Brown, E.J., Frazier, W.A., 2001. Integrin-associated protein (CD47) and its ligands. *Trends Cell Biol.* 11, 130–135. [https://doi.org/10.1016/S0962-8924\(00\)01906-1](https://doi.org/10.1016/S0962-8924(00)01906-1)
- Burger, P., Hilarius-Stokman, P., de Korte, D., van den Berg, T.K., van Bruggen, R., 2012. CD47 functions as a molecular switch for erythrocyte phagocytosis. *Blood* 119, 5512–5521. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-10-386805>

### C

- Chang, C.-L., Wu, C.-C., Hsu, Y.-T., Hsu, Y.-C., 2020. Immune vulnerability of ovarian cancer stem-like cells due to low CD47 expression is protected by surrounding bulk tumor cells. *Oncoimmunology* 9, 1803530. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2020.1803530>
- Chao, M.P., Alizadeh, A.A., Tang, C., Myklebust, J.H., Varghese, B., Gill, S., Jan, M., Cha, A.C., Chan, C.K., Tan, B.T., Park, C.Y., Zhao, F., Kohrt, H.E., Malumbres, R., Briones, J., Gascoyne, R.D., Lossos, I.S., Levy, R., Weissman, I.L., Majeti, R., 2010. Anti-CD47 antibody synergizes with rituximab to promote phagocytosis and eradicate non-Hodgkin lymphoma. *Cell* 142, 699–713. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.07.044>
- Chao, M.P., Takimoto, C.H., Feng, D.D., McKenna, K., Gip, P., Liu, J., Volkmer, J.-P., Weissman, I.L., Majeti, R., 2019. Therapeutic Targeting of the Macrophage Immune Checkpoint CD47 in Myeloid Malignancies. *Front. Oncol.* 9, 1380. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01380>
- Chao, M.P., Weissman, I.L., Majeti, R., 2012. The CD47-SIRP $\alpha$  pathway in cancer immune evasion and potential therapeutic implications. *Curr. Opin. Immunol.* 24, 225–232. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2012.01.010>
- Che, Z., Wang, W., Zhang, L., Lin, Z., 2025. Therapeutic strategies targeting CD47-SIRP $\alpha$  signaling pathway in gastrointestinal cancers treatment. *J. Pharm. Anal.* 15, 101099. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2024.101099>
- Chen, L.Y.Y., Lu, S.-H., Shih, E.S.C., Hwang, M.-J., 2002. Single Nucleotide Polymorphism Mapping Using Genome-Wide Unique Sequences. *Genome Res.* 12, 1106–1111. <https://doi.org/10.1101/gr.224502>
- Chen, M., Zhang, W., Gou, Y., Xu, D., Wei, Y., Liu, D., Han, C., Huang, X., Li, C., Ning, W., Peng, D., Xue, Y., 2023. GPS 6.0: an updated server for prediction of kinase-specific phosphorylation sites in proteins. *Nucleic Acids Res.* 51, W243–W250. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad383>
- Chen, Q., Wang, C., Zhang, X., Chen, G., Hu, Q., Li, H., Wang, Jinqiang, Wen, D., Zhang, Y., Lu, Y., Yang, G., Jiang, C., Wang, Jun, Dotti, G., Gu, Z., 2019. In situ sprayed bioresponsive immunotherapeutic gel for post-surgical cancer treatment. *Nat. Nanotechnol.* 14, 89–97. <https://doi.org/10.1038/s41565-018-0319-4>
- Chowdhury, S., Castro, S., Coker, C., Hinchliffe, T.E., Arpaia, N., Danino, T., 2019. Programmable bacteria induce durable tumor regression and systemic antitumor immunity. *Nat. Med.* 25, 1057–1063. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0498-z>
- Chung, J., Gao, A.-G., Frazier, W.A., 1997. Thrombospondin Acts via Integrin-associated Protein to Activate the Platelet Integrin  $\alpha$ IIb $\beta$ 3\*. *J. Biol. Chem.* 272, 14740–14746. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.23.14740>
- Colovos, C., Yeates, T.O., 1993. Verification of protein structures: patterns of nonbonded atomic interactions. *Protein Sci. Publ. Protein Soc.* 2, 1511–1519. <https://doi.org/10.1002/pro.5560020916>

### D

- D, R., KaurSukhbir, S, I., 2017. Regulation of Cellular Redox Signaling by Matricellular Proteins in Vascular Biology, Immunology, and Cancer. *Antioxid. Redox Signal.* <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7140>

## Chapitre VI : Bibliographie

---

- Dabhi, B., Mistry, K.N., 2014. In silico analysis of single nucleotide polymorphism (SNP) in human TNF- $\alpha$  gene. *Meta Gene* 2, 586–595. <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2014.07.005>
- Davies, L.C., Jenkins, S.J., Allen, J.E., Taylor, P.R., 2013. Tissue-resident macrophages. *Nat. Immunol.* 14, 986–995. <https://doi.org/10.1038/ni.2705>
- Dehmani, S., Nerrière-Daguin, V., Néel, M., Elain-Duret, N., Heslan, J.-M., Belarif, L., Mary, C., Thepenier, V., Biteau, K., Poirier, N., Blancho, G., Haspot, F., 2021. SIRPy-CD47 Interaction Positively Regulates the Activation of Human T Cells in Situation of Chronic Stimulation. *Front. Immunol.* 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.732530>
- Deng, W., Wang, Y., Ma, L., Zhang, Y., Ullah, S., Xue, Y., n.d. Computational prediction of methylation types of covalently modified lysine and arginine residues in proteins.
- Deuse, T., Hu, X., Agbor-Enoh, S., Jang, M.K., Alawi, M., Saygi, C., Gravina, A., Tediashvili, G., Nguyen, V.Q., Liu, Y., Valantine, H., Lanier, L.L., Schrepfer, S., 2021. The SIRP $\alpha$ -CD47 immune checkpoint in NK cells. *J. Exp. Med.* 218, e20200839. <https://doi.org/10.1084/jem.20200839>
- Duan, B., Zhao, Y., Bai, J., Wang, J., Duan, X., Luo, X., Zhang, R., Pu, Y., Kou, M., Lei, J., Yang, S., 2022. Colorectal Cancer: An Overview, in: *Gastrointestinal Cancers* [Internet]. Exon Publications. <https://doi.org/10.36255/exon-publications-gastrointestinal-cancers-colorectal-cancer>

## E

- EADock: Docking of small molecules into protein active sites with a multiobjective evolutionary optimization, 2007. . *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* 67, 1010–1025. <https://doi.org/10.1002/prot.21367>
- Eladl, E., Tremblay-LeMay, R., Rastgoo, N., Musani, R., Chen, W., Liu, A., Chang, H., 2020. Role of CD47 in Hematological Malignancies. *J. Hematol. Oncol.* 13, 96. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00930-1>
- Engelbertsen, D., Autio, A., Verwilligen, R.A.F., Depuydt, M.A.C., Newton, G., Rattik, S., Levinsohn, E., Saggiu, G., Jarolim, P., Wang, H., Velazquez, F., Lichtman, A.H., Luscinskas, F.W., 2019. Increased lymphocyte activation and atherosclerosis in CD47-deficient mice. *Sci. Rep.* 9, 10608. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46942-x>
- Engelhard, V., Conejo-Garcia, J.R., Ahmed, R., Nelson, B.H., Willard-Gallo, K., Bruno, T.C., Fridman, W.H., 2021. B cells and cancer. *Cancer Cell* 39, 1293–1296. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2021.09.007>

## F

- Fenalti, G., Villanueva, N., Griffith, M., Pagarigan, B., Lakkaraju, S.K., Huang, R.Y.-C., Ladygina, N., Sharma, A., Mikolon, D., Abbasian, M., Johnson, J., Hadjivassiliou, H., Zhu, D., Chamberlain, P.P., Cho, H., Hariharan, K., 2021. Structure of the human marker of self 5-transmembrane receptor CD47. *Nat. Commun.* 12, 5218. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25475-w>
- Feng, R., Zhao, H., Xu, J., Shen, C., 2020. CD47: the next checkpoint target for cancer immunotherapy. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 152, 103014. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2020.103014>

## Chapitre VI : Bibliographie

---

- Fielden, M.R., Matthews, J.B., Fertuck, K.C., Halgren, R.G., Zacharewski, T.R., 2002. In silico approaches to mechanistic and predictive toxicology: an introduction to bioinformatics for toxicologists. *Crit. Rev. Toxicol.* 32, 67–112. <https://doi.org/10.1080/20024091064183>
- Fischer, T., Pescarmona, G.P., Bosia, A., Naitana, A., Turrini, F., Arese, P., 1983. Mechanisms of red cell clearance in favism. *Biomed. Biochim. Acta* 42, S253-257.
- Frazier, E.P., Isenberg, J.S., Shiva, S., Zhao, L., Schlesinger, P., Dimitry, J., Abu-Asab, M.S., Tsokos, M., Roberts, D.D., Frazier, W.A., 2011. Age-dependent regulation of skeletal muscle mitochondria by the thrombospondin-1 receptor CD47. *Matrix Biol. J. Int. Soc. Matrix Biol.* 30, 154–161. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2010.12.004>
- Fukunaga, A., Nagai, H., Noguchi, T., Okazawa, H., Matozaki, T., Yu, X., Lagenaur, C.F., Honma, N., Ichihashi, M., Kasuga, M., Nishigori, C., Horikawa, T., 2004. Src homology 2 domain-containing protein tyrosine phosphatase substrate 1 regulates the migration of Langerhans cells from the epidermis to draining lymph nodes. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 172, 4091–4099. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.172.7.4091>
- ### G
- Gallagher, S., Turman, S., Lekstrom, K., Wilson, S., Herbst, R., Wang, Y., 2017. CD47 limits antibody dependent phagocytosis against non-malignant B cells. *Mol. Immunol.* 85, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2017.01.022>
- Gao, A.G., Lindberg, F.P., Finn, M.B., Blystone, S.D., Brown, E.J., Frazier, W.A., 1996. Integrin-associated protein is a receptor for the C-terminal domain of thrombospondin. *J. Biol. Chem.* 271, 21–24. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.1.21>
- Gao, Q., Chen, K., Gao, L., Zheng, Y., Yang, Y.-G., 2016. Thrombospondin-1 signaling through CD47 inhibits cell cycle progression and induces senescence in endothelial cells. *Cell Death Dis.* 7, e2368. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.155>
- Gauttier, V., Pengam, S., Durand, J., Biteau, K., Mary, C., Morello, A., Néel, M., Porto, G., Teppaz, G., Thepenier, V., Danger, R., Vince, N., Wilhelm, E., Girault, I., Abes, R., Ruiz, C., Trilleaud, C., Ralph, K., Trombetta, E.S., Garcia, A., Vignard, V., Martinet, B., Glémain, A., Bruneau, S., Haspot, F., Dehmani, S., Duplouye, P., Miyasaka, M., Labarrière, N., Laplaud, D., Le Bas-Bernardet, S., Blanquart, C., Catros, V., Gouraud, P.-A., Archambeaud, I., Aublé, H., Metairie, S., Mosnier, J.-F., Costantini, D., Blancho, G., Conchon, S., Vanhove, B., Poirier, N., 2020. Selective SIRP $\alpha$  blockade reverses tumor T cell exclusion and overcomes cancer immunotherapy resistance. *J. Clin. Invest.* 130, 6109–6123. <https://doi.org/10.1172/JCI135528>
- Ghimire, K., Li, Y., Chiba, T., Julovi, S.M., Li, J., Ross, M.A., Straub, A.C., O’Connell, P.J., Rüegg, C., Pagano, P.J., Isenberg, J.S., Rogers, N.M., 2020. CD47 Promotes Age-Associated Deterioration in Angiogenesis, Blood Flow and Glucose Homeostasis. *Cells* 9, 1695. <https://doi.org/10.3390/cells9071695>
- González-Castejón, M., Marín, F., Soler-Rivas, C., Reglero, G., Visioli, F., Rodríguez-Casado, A., 2011. Functional non-synonymous polymorphisms prediction methods: current approaches and future developments. *Curr. Med. Chem.* 18, 5095–5103. <https://doi.org/10.2174/092986711797636081>
- Gow, A.J., Farkouh, C.R., Munson, D.A., Posencheg, M.A., Ischiropoulos, H., 2004. Biological significance of nitric oxide-mediated protein modifications. *Am. J. Physiol.-Lung Cell. Mol. Physiol.* 287, L262–L268. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00295.2003>

## Chapitre VI : Bibliographie

---

Grillo, M.A., Colombatto, S., 2005. S-adenosylmethionine and protein methylation. *Amino Acids* 28, 357–362. <https://doi.org/10.1007/s00726-005-0197-6>

Grimbert, P., Bouguermouh, S., Baba, N., Nakajima, T., Allakhverdi, Z., Braun, D., Saito, H., Rubio, M., Delespesse, G., Sarfati, M., 2006. Thrombospondin/CD47 interaction: a pathway to generate regulatory T cells from human CD4<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup> T cells in response to inflammation. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 177, 3534–3541. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.6.3534>

## H

Halushka, M.K., Fan, J.B., Bentley, K., Hsie, L., Shen, N., Weder, A., Cooper, R., Lipshutz, R., Chakravarti, A., 1999. Patterns of single-nucleotide polymorphisms in candidate genes for blood-pressure homeostasis. *Nat. Genet.* 22, 239–247. <https://doi.org/10.1038/10297>

Hatherley, D., Graham, S.C., Turner, J., Harlos, K., Stuart, D.I., Barclay, A.N., 2008. Paired Receptor Specificity Explained by Structures of Signal Regulatory Proteins Alone and Complexed with CD47. *Mol. Cell* 31, 266–277. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.05.026>

Hatterer, E., Barba, L., Noraz, N., Daubeuf, B., Aubry-Lachainaye, J.-P., von der Weid, B., Richard, F., Kosco-Vilbois, M., Ferlin, W., Shang, L., Buatois, V., 2019. Co-engaging CD47 and CD19 with a bispecific antibody abrogates B-cell receptor/CD19 association leading to impaired B-cell proliferation. *mAbs* 11, 322–334. <https://doi.org/10.1080/19420862.2018.1558698>

Head, D.J., Lee, Z.E., Swallah, M.M., Avent, N.D., 2005. Ligation of CD47 mediates phosphatidylserine expression on erythrocytes and a concomitant loss of viability in vitro. *Br. J. Haematol.* 130, 788–790. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2005.05668.x>

Hod, E.A., Zhang, N., Sokol, S.A., Wojczyk, B.S., Francis, R.O., Ansaldi, D., Francis, K.P., Della-Latta, P., Whittier, S., Sheth, S., Hendrickson, J.E., Zimring, J.C., Brittenham, G.M., Spitalnik, S.L., 2010. Transfusion of red blood cells after prolonged storage produces harmful effects that are mediated by iron and inflammation. *Blood* 115, 4284–4292. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-10-245001>

Hossain, Md.S., Roy, A.S., Islam, Md.S., 2020. In silico analysis predicting effects of deleterious SNPs of human RASSF5 gene on its structure and functions. *Sci. Rep.* 10, 14542. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71457-1>

Hossain, M.S., Roy, A.S., Islam, M.S., 2020a. In silico analysis predicting effects of deleterious SNPs of human RASSF5 gene on its structure and functions. *Sci. Rep.* 10, 14542. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71457-1>

Hossain, M.S., Roy, A.S., Islam, M.S., 2020b. In silico analysis predicting effects of deleterious SNPs of human RASSF5 gene on its structure and functions. *Sci. Rep.* 10, 14542. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71457-1>

Huang, C.-Y., Ye, Z.-H., Huang, M.-Y., Lu, J.-J., 2020. Regulation of CD47 expression in cancer cells. *Transl. Oncol.* 13, 100862. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2020.100862>

Hunt, R., Sauna, Z.E., Ambudkar, S.V., Gottesman, M.M., Kimchi-Sarfaty, C., 2009. Silent (synonymous) SNPs: should we care about them? *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* 578, 23–39. [https://doi.org/10.1007/978-1-60327-411-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-60327-411-1_2)

### I

Isenberg, J.S., Montero, E., 2024. Tolerating CD47. *Clin. Transl. Med.* 14, e1584. <https://doi.org/10.1002/ctm2.1584>

Isenberg, J.S., Ridnour, L.A., Dimitry, J., Frazier, W.A., Wink, D.A., Roberts, D.D., 2006. CD47 Is Necessary for Inhibition of Nitric Oxide-stimulated Vascular Cell Responses by Thrombospondin-1 \*. *J. Biol. Chem.* 281, 26069–26080. <https://doi.org/10.1074/jbc.M605040200>

Isenberg, J.S., Roberts, D.D., 2019. The role of CD47 in pathogenesis and treatment of renal ischemia reperfusion injury. *Pediatr. Nephrol.* 34, 2479–2494. <https://doi.org/10.1007/s00467-018-4123-z>

### J

Jakubzick, C.V., Randolph, G.J., Henson, P.M., 2017. Monocyte differentiation and antigen-presenting functions. *Nat. Rev. Immunol.* 17, 349–362. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.28>

Jia, X., Yan, B., Tian, X., Liu, Q., Jin, J., Shi, J., Hou, Y., 2021. CD47/SIRP $\alpha$  pathway mediates cancer immune escape and immunotherapy. *Int. J. Biol. Sci.* 17, 3281–3287. <https://doi.org/10.7150/ijbs.60782>

Jian, Y.K., Zhu, H.Y., Wu, X.L., Li, B., 2019. Thrombospondin 1 Triggers Osteosarcoma Cell Metastasis and Tumor Angiogenesis. *Oncol. Res.* 27, 211–218. <https://doi.org/10.3727/096504018X15208993118389>

Jiang, P., Lagenaur, C.F., Narayanan, V., 1999. Integrin-associated protein is a ligand for the P84 neural adhesion molecule. *J. Biol. Chem.* 274, 559–562. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.2.559>

Johansson, U., Higginbottom, K., Londei, M., 2004. CD47 ligation induces a rapid caspase-independent apoptosis-like cell death in human monocytes and dendritic cells. *Scand. J. Immunol.* 59, 40–49. <https://doi.org/10.1111/j.0300-9475.2004.01355.x>

### K

Kale, A., Rogers, N.M., Ghimire, K., 2021. Thrombospondin-1 CD47 Signalling: From Mechanisms to Medicine. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 4062. <https://doi.org/10.3390/ijms22084062>

Kaur, S., Cicalese, K.V., Banerjee, R., Roberts, D.D., 2020. Preclinical and clinical development of therapeutic antibodies targeting functions of CD47 in the tumor microenvironment. *Antib. Ther.* 3, 179–192. <https://doi.org/10.1093/abt/tbaa017>

Kaur, S., Elkahloun, A.G., Singh, S.P., Chen, Q.-R., Meerzaman, D.M., Song, T., Manu, N., Wu, W., Mannan, P., Garfield, S.H., Roberts, D.D., 2016. A function-blocking CD47 antibody suppresses stem cell and EGF signaling in triple-negative breast cancer. *Oncotarget* 7, 10133–10152. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7100>

Kaur, S., Isenberg, J.S., Roberts, D.D., 2021. CD47 (Cluster of Differentiation 47). *Atlas Genet. Cytogenet. Oncol. Haematol.* 25, 83–102.

Kaur, S., Kuznetsova, S.A., Pendrak, M.L., Sipes, J.M., Romeo, M.J., Li, Z., Zhang, L., Roberts, D.D., 2011. Heparan sulfate modification of the transmembrane receptor CD47 is necessary for inhibition of T cell receptor signaling by thrombospondin-1. *J. Biol. Chem.* 286, 14991–15002. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.179663>

## Chapitre VI : Bibliographie

---

- Kaur, S., Martin-Manso, G., Pendrak, M.L., Garfield, S.H., Isenberg, J.S., Roberts, D.D., 2010. Thrombospondin-1 Inhibits VEGF Receptor-2 Signaling by Disrupting Its Association with CD47 \*. *J. Biol. Chem.* 285, 38923–38932. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.172304>
- Kelada, S.N., Eaton, D.L., Wang, S.S., Rothman, N.R., Khoury, M.J., 2003. The role of genetic polymorphisms in environmental health. *Environ. Health Perspect.* 111, 1055–1064. <https://doi.org/10.1289/ehp.6065>
- Kelley, L.A., Mezulis, S., Yates, C.M., Wass, M.N., Sternberg, M.J., 2015. The Phyre2 web portal for protein modelling, prediction and analysis. *Nat. Protoc.* 10, 845–858. <https://doi.org/10.1038/nprot.2015.053>
- Kim, M.J., Lee, J.-C., Lee, J.-J., Kim, S., Lee, S.G., Park, S.-W., Sung, M.W., Heo, D.S., 2008. Association of CD47 with natural killer cell-mediated cytotoxicity of head-and-neck squamous cell carcinoma lines. *Tumour Biol. J. Int. Soc. Oncodevelopmental Biol. Med.* 29, 28–34. <https://doi.org/10.1159/000132568>
- Koenigsnecht, J., Landreth, G., 2004. Microglial phagocytosis of fibrillar beta-amyloid through a beta1 integrin-dependent mechanism. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 24, 9838–9846. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2557-04.2004>
- Kong, F., Gao, F., Li, H., Liu, H., Zhang, Y., Zheng, R., Zhang, Y., Chen, J., Li, X., Liu, G., Jia, Y., 2016. CD47: a potential immunotherapy target for eliminating cancer cells. *Clin. Transl. Oncol.* 18, 1051–1055. <https://doi.org/10.1007/s12094-016-1489-x>
- Korzeniewski, S., Hofman, P., Brest, P., 2013. Des polymorphismes silencieux plutôt bruyants. *médecine/sciences* 29, 124–126. <https://doi.org/10.1051/medsci/2013292003>
- Kosaka, A., Ishibashi, K., Nagato, T., Kitamura, H., Fujiwara, Y., Yasuda, S., Nagata, M., Harabuchi, S., Hayashi, R., Yajima, Y., Ohara, K., Kumai, T., Aoki, N., Komohara, Y., Oikawa, K., Harabuchi, Y., Kitada, M., Kobayashi, H., Ohkuri, T., 2021. CD47 blockade enhances the efficacy of intratumoral STING-targeting therapy by activating phagocytes. *J. Exp. Med.* 218, e20200792. <https://doi.org/10.1084/jem.20200792>
- Kuo, T.C., Chen, A., Harrabi, O., Sockolosky, J.T., Zhang, A., Sangalang, E., Doyle, L.V., Kauder, S.E., Fontaine, D., Bollini, S., Han, B., Fu, Y.-X., Sim, J., Pons, J., Wan, H.I., 2020. Targeting the myeloid checkpoint receptor SIRP $\alpha$  potentiates innate and adaptive immune responses to promote anti-tumor activity. *J. Hematol. Oncol. J Hematol Oncol* 13, 160. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00989-w>

## L

- Lamy, L., Ticchioni, M., Rouquette-Jazdanian, A.K., Samson, M., Deckert, M., Greenberg, A.H., Bernard, A., 2003. CD47 and the 19 kDa Interacting Protein-3 (BNIP3) in T Cell Apoptosis \*. *J. Biol. Chem.* 278, 23915–23921. <https://doi.org/10.1074/jbc.M301869200>
- Laskowski, R.A., 2006. PROCHECK : validation of protein-structure coordinates. *Urnisbn978-0-7923-6857-1 F*, 695–743. <https://doi.org/10.1107/97809553602060000724>
- Lecoultre, M., Dutoit, V., Walker, P.R., 2020. Phagocytic function of tumor-associated macrophages as a key determinant of tumor progression control: a review. *J. Immunother. Cancer* 8, e001408. <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-001408>

## Chapitre VI : Bibliographie

---

- Lee, E.H., Hsieh, Y.P., Yang, C.L., Tsai, K.J., Liu, C.H., 2000. Induction of integrin-associated protein (IAP) mRNA expression during memory consolidation in rat hippocampus. *Eur. J. Neurosci.* 12, 1105–1112. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2000.00985.x>
- Li, W., Li, F., Zhang, X., Lin, H.-K., Xu, C., 2021. Insights into the post-translational modification and its emerging role in shaping the tumor microenvironment. *Signal Transduct. Target. Ther.* 6, 422. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00825-8>
- Li, Y., Qi, X., Tong, X., Wang, S., 2013. Thrombospondin 1 activates the macrophage Toll-like receptor 4 pathway. *Cell. Mol. Immunol.* 10, 506–512. <https://doi.org/10.1038/cmi.2013.32>
- Lindberg, F.P., Gresham, H.D., Schwarz, E., Brown, E.J., 1993. Molecular cloning of integrin-associated protein: an immunoglobulin family member with multiple membrane-spanning domains implicated in alpha v beta 3-dependent ligand binding. *J. Cell Biol.* 123, 485–496. <https://doi.org/10.1083/jcb.123.2.485>
- Liu, X., Kwon, H., Li, Z., Fu, Y., 2017. Is CD47 an innate immune checkpoint for tumor evasion? *J. Hematol. Oncol.* *J Hematol Oncol* 10, 12. <https://doi.org/10.1186/s13045-016-0381-z>
- Liu, Y., Bühring, H.-J., Zen, K., Burst, S.L., Schnell, F.J., Williams, I.R., Parkos, C.A., 2002. Signal regulatory protein (SIRPalpha), a cellular ligand for CD47, regulates neutrophil transmigration. *J. Biol. Chem.* 277, 10028–10036. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109720200>
- Liu, Y., Chang, Y., He, X., Cai, Y., Jiang, H., Jia, R., Leng, J., 2020. CD47 Enhances Cell Viability and Migration Ability but Inhibits Apoptosis in Endometrial Carcinoma Cells via the PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway. *Front. Oncol.* 10, 1525. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01525>
- Liu, Y., Weng, L., Wang, Y., Zhang, J., Wu, Q., Zhao, P., Shi, Y., Wang, P., Fang, L., 2024. Deciphering the role of CD47 in cancer immunotherapy. *J. Adv. Res.* 63, 129–158. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2023.10.009>
- Liu, Y., Weng, L., Wang, Y., Zhang, J., Wu, Q., Zhao, P., Shi, Y., Wang, P., Fang, L., 2023. Deciphering the role of CD47 in cancer immunotherapy. *J. Adv. Res.* 63, 129–158. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2023.10.009>
- Liu, Z., Cao, J., Ma, Q., Gao, X., Ren, J., Xue, Y., 2011. GPS-YNO2: computational prediction of tyrosine nitration sites in proteins. *Mol. Biosyst.* 7, 1197–1204. <https://doi.org/10.1039/c0mb00279h>
- Lopez-Dee, Z., Pidcock, K., Gutierrez, L.S., 2011. Thrombospondin-1: Multiple Paths to Inflammation. *Mediators Inflamm.* 2011, 296069. <https://doi.org/10.1155/2011/296069>
- Lutz, H.U., 2004. Innate immune and non-immune mediators of erythrocyte clearance. *Cell. Mol. Biol. Noisy--Gd. Fr.* 50, 107–116.
- Lv, C., Li, F., Li, X., Tian, Y., Zhang, Y., Sheng, X., Song, Y., Meng, Q., Yuan, S., Luan, L., Andl, T., Feng, X., Jiao, B., Xu, M., Plikus, M.V., Dai, X., Lengner, C., Cui, W., Ren, F., Shuai, J., Millar, S.E., Yu, Z., 2017. MiR-31 promotes mammary stem cell expansion and breast tumorigenesis by suppressing Wnt signaling antagonists. *Nat. Commun.* 8, 1036. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01059-5>

### M

- Ma, R., Yi, B., Riker, A.I., Xi, Y., 2020. Metformin and cancer immunity. *Acta Pharmacol. Sin.* 41, 1403–1409. <https://doi.org/10.1038/s41401-020-00508-0>
- Mah, J.T.L., Low, E.S.H., Lee, E., 2011. *Analyse SNP in silico* et outils bioinformatiques : un aperçu de l'état de l'art pour aider à la découverte de médicaments. *Drug Discov. Today* 16, 800–809. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2011.07.005>
- Majeti, R., Chao, M.P., Alizadeh, A.A., Pang, W.W., Jaiswal, S., Gibbs, K.D., van Rooijen, N., Weissman, I.L., 2009. CD47 Is an Adverse Prognostic Factor and Therapeutic Antibody Target on Human Acute Myeloid Leukemia Stem Cells. *Cell* 138, 286–299. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.05.045>
- Manna, P.P., Dimitry, J., Oldenborg, P.-A., Frazier, W.A., 2005. CD47 augments Fas/CD95-mediated apoptosis. *J. Biol. Chem.* 280, 29637–29644. <https://doi.org/10.1074/jbc.M500922200>
- Martinez-Torres, A.-C., Quiney, C., Attout, T., Bouillet, H., Herbi, L., Vela, L., Barbier, S., Chateau, D., Chapiro, E., Nguyen-Khac, F., Davi, F., Le Garff-Tavernier, M., Moumné, R., Sarfati, M., Karoyan, P., Merle-Béral, H., Launay, P., Susin, S.A., 2015. CD47 agonist peptides induce programmed cell death in refractory chronic lymphocytic leukemia B cells via PLC $\gamma$ 1 activation: evidence from mice and humans. *PLoS Med.* 12, e1001796. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001796>
- Mateo, V., Lagneaux, L., Bron, D., Biron, G., Armant, M., Delespesse, G., Sarfati, M., 1999. CD47 ligation induces caspase-independent cell death in chronic lymphocytic leukemia. *Nat. Med.* 5, 1277–1284. <https://doi.org/10.1038/15233>
- Matlung, H.L., Szilagyi, K., Barclay, N.A., van den Berg, T.K., 2017. The CD47-SIRP $\alpha$  signaling axis as an innate immune checkpoint in cancer. *Immunol. Rev.* 276, 145–164. <https://doi.org/10.1111/imr.12527>
- Meijles, D.N., Sahoo, S., Al Ghouleh, I., Amaral, J.H., Bienes-Martinez, R., Knupp, H.E., Attaran, S., Sembrat, J.C., Nourai, S.M., Rojas, M.M., Novelli, E.M., Gladwin, M.T., Isenberg, J.S., Cifuentes-Pagano, E., Pagano, P.J., 2017. The matricellular protein TSP1 promotes human and mouse endothelial cell senescence through CD47 and Nox1. *Sci. Signal.* 10, eaaj1784. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aaj1784>
- Melo Garcia, L., Barabé, F., 2021. Harnessing Macrophages through the Blockage of CD47: Implications for Acute Myeloid Leukemia. *Cancers* 13, 6258. <https://doi.org/10.3390/cancers13246258>
- Murata, Y., Kotani, T., Ohnishi, H., Matozaki, T., 2014. The CD47-SIRP $\alpha$  signalling system: its physiological roles and therapeutic application. *J. Biochem. (Tokyo)* 155, 335–344. <https://doi.org/10.1093/jb/mvu017>
- Murata, Y., Saito, Y., Kotani, T., Matozaki, T., 2020. Blockade of CD47 or SIRP $\alpha$ : a new cancer immunotherapy. *Expert Opin. Ther. Targets* 24, 945–951. <https://doi.org/10.1080/14728222.2020.1811855>
- Murata, Y., Saito, Y., Kotani, T., Matozaki, T., 2018. CD47-signal regulatory protein  $\alpha$  signaling system and its application to cancer immunotherapy. *Cancer Sci.* 109, 2349–2357. <https://doi.org/10.1111/cas.13663>
- Mushegian, A., 2002. Refining structural and functional predictions for secretosome components by comparative sequence analysis. *Proteins* 47, 69–74.

### N

- Nath, P.R., Gangaplara, A., Pal-Nath, D., Mandal, A., Maric, D., Sipes, J.M., Cam, M., Shevach, E.M., Roberts, D.D., 2018. CD47 Expression in Natural Killer Cells Regulates Homeostasis and Modulates Immune Response to Lymphocytic Choriomeningitis Virus. *Front. Immunol.* 9, 2985. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02985>
- Nath, P.R., Pal-Nath, D., Mandal, A., Cam, M.C., Schwartz, A.L., Roberts, D.D., 2019. Natural Killer Cell Recruitment and Activation Are Regulated by CD47 Expression in the Tumor Microenvironment. *Cancer Immunol. Res.* 7, 1547–1561. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-18-0367>
- Nyström, T., 2005. Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence. *EMBO J.* 24, 1311–1317. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600599>

### O

- Ogimoto, T., Ozasa, H., Yoshida, Hironori, Nomizo, T., Funazo, T., Yoshida, Hiroshi, Hashimoto, K., Hosoya, K., Yamazoe, M., Ajimizu, H., Tsuji, T., Sakamori, Y., Kuninaga, K., Morita, S., Hirai, T., 2023. *CD47* polymorphism for predicting nivolumab benefit in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Oncol. Lett.* 26, 1–7. <https://doi.org/10.3892/ol.2023.13950>
- Oh, H.-H., Park, Y.-L., Park, S.-Y., Myung, E., Im, C.-M., Yu, H.-J., Han, B., Seo, Y.-J., Kim, K.-H., Myung, D.-S., Cho, S.-B., Lee, W.-S., Park, D., Joo, Y.-E., 2022. CD47 mediates the progression of colorectal cancer by inducing tumor cell apoptosis and angiogenesis. *Pathol. - Res. Pract.* 240, 154220. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2022.154220>
- Olsson, M., Oldenborg, P.-A., 2008. CD47 on experimentally senescent murine RBCs inhibits phagocytosis following Fcγ receptor-mediated but not scavenger receptor-mediated recognition by macrophages. *Blood* 112, 4259–4267. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-03-143008>
- Orazizadeh, M., Lee, H.S., Groenendijk, B., Sadler, S.J.M., Wright, M.O., Lindberg, F.P., Salter, D.M., 2008. CD47 associates with alpha 5 integrin and regulates responses of human articular chondrocytes to mechanical stimulation in an in vitro model. *Arthritis Res. Ther.* 10, R4. <https://doi.org/10.1186/ar2350>
- Oronsky, B., Reid, T., Cabrales, P., 2021. Vascular priming with RRx-001 to increase the uptake and accumulation of temozolomide and irinotecan in orthotopically implanted gliomas. *J. Drug Target.* 29, 998–1003. <https://doi.org/10.1080/1061186X.2021.1904248>

### P

- Pandit, S.B., Skolnick, J., 2008. Fr-TM-align: a new protein structural alignment method based on fragment alignments and the TM-score. *BMC Bioinformatics* 9, 531. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-531>
- Pfeiffer, A., Böttcher, A., Orsó, E., Kapinsky, M., Nagy, P., Bodnár, A., Spreitzer, I., Liebisch, G., Drobnik, W., Gempel, K., Horn, M., Holmer, S., Hartung, T., Multhoff, G., Schütz, G., Schindler, H., Ulmer, A.J., Heine, H., Stelter, F., Schütt, C., Rothe, G., Szöllösi, J., Damjanovich, S., Schmitz, G., 2001. Lipopolysaccharide and ceramide docking to CD14 provokes ligand-specific receptor clustering in rafts. *Eur. J. Immunol.* 31, 3153–3164. [https://doi.org/10.1002/1521-4141\(200111\)31:11<3153::aid-immu3153>3.0.co;2-0](https://doi.org/10.1002/1521-4141(200111)31:11<3153::aid-immu3153>3.0.co;2-0)

## Chapitre VI : Bibliographie

---

- Piccio, L., Vermi, W., Boles, K.S., Fuchs, A., Strader, C.A., Facchetti, F., Cella, M., Colonna, M., 2005. Adhesion of human T cells to antigen-presenting cells through SIRP $\beta$ 2-CD47 interaction costimulates T-cell proliferation. *Blood* 105, 2421–2427. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-07-2823>
- Pierson, B.A., Gupta, K., Hu, W.S., Miller, J.S., 1996. Human natural killer cell expansion is regulated by thrombospondin-mediated activation of transforming growth factor-beta 1 and independent accessory cell-derived contact and soluble factors. *Blood* 87, 180–189.
- Plenchette, S., Romagny, S., Laurens, V., Bettaieb, A., 2016. Itinéraire d'un agent double - NO, S-nitrosylation et cancer. *médecine/sciences* 32, 625–633. <https://doi.org/10.1051/medsci/20163206027>
- Polara, R., Ganesan, R., Pitson, S.M., Robinson, N., 2024. Cell autonomous functions of CD47 in regulating cellular plasticity and metabolic plasticity. *Cell Death Differ.* 31, 1255–1266. <https://doi.org/10.1038/s41418-024-01347-w>
- Prasad, A.S., Tranchida, L., Konno, E.T., Berman, L., Albert, S., Sing, C.F., Brewer, G.J., 1968. Hereditary sideroblastic anemia and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in a Negro family. *J. Clin. Invest.* 47, 1415–1424. <https://doi.org/10.1172/JCI105833>
- Przewoznik, M., Hömberg, N., Naujoks, M., Pözl, J., Münchmeier, N., Brenner, C.D., Anz, D., Bourquin, C., Nelson, P.J., Röcken, M., Mocikat, R., 2012. Recruitment of natural killer cells in advanced stages of endogenously arising B-cell lymphoma: implications for therapeutic cell transfer. *J. Immunother. Hagerstown Md* 1997 35, 217–222. <https://doi.org/10.1097/CJI.0b013e318247440a>
- Puro, R.J., Bouchlaka, M.N., Hiebsch, R.R., Capoccia, B.J., Donio, M.J., Manning, P.T., Frazier, W.A., Karr, R.W., Pereira, D.S., 2020. Development of AO-176, a Next-Generation Humanized Anti-CD47 Antibody with Novel Anticancer Properties and Negligible Red Blood Cell Binding. *Mol. Cancer Ther.* 19, 835–846. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-19-1079>

## R

- Ratnikova, N.M., Lezhnin, Y.N., Frolova, E.I., Kravchenko, J.E., Chumakov, S.P., 2017. [CD47 receptor as a primary target for cancer therapy]. *Mol. Biol. (Mosk.)* 51, 251–261. <https://doi.org/10.7868/S0026898417010153>
- Rebres, R.A., Vaz, L.E., Green, J.M., Brown, E.J., 2001. Normal ligand binding and signaling by CD47 (integrin-associated protein) requires a long range disulfide bond between the extracellular and membrane-spanning domains. *J. Biol. Chem.* 276, 34607–34616. <https://doi.org/10.1074/jbc.M106107200>
- Reinhold, M.I., Lindberg, F.P., Kersh, G.J., Allen, P.M., Brown, E.J., 1997. Costimulation of T cell activation by integrin-associated protein (CD47) is an adhesion-dependent, CD28-independent signaling pathway. *J. Exp. Med.* 185, 1–11. <https://doi.org/10.1084/jem.185.1.1>
- Reinhold, M.I., Lindberg, F.P., Plas, D., Reynolds, S., Peters, M.G., Brown, E.J., 1995. In vivo expression of alternatively spliced forms of integrin-associated protein (CD47). *J. Cell Sci.* 108 ( Pt 11), 3419–3425. <https://doi.org/10.1242/jcs.108.11.3419>
- Roberts, D.D., Isenberg, J.S., 2021. CD47 and thrombospondin-1 regulation of mitochondria, metabolism, and diabetes. *Am. J. Physiol. - Cell Physiol.* 321, C201–C213. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00175.2021>

## Chapitre VI : Bibliographie

---

Rodríguez-Jiménez, P., Chicharro, P., Llamas-Velasco, M., Cibrian, D., Trigo-Torres, L., Vara, A., Jiménez-Fernández, M., Sevilla-Montero, J., Calzada, M.J., Sánchez-Madrid, F., de la Fuente, H., Daudén, E., 2019. Thrombospondin-1/CD47 Interaction Regulates Th17 and Treg Differentiation in Psoriasis. *Front. Immunol.* 10, 1268. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01268>

Roulot, A., Héquet, D., Guinebretière, J.-M., Vincent-Salomon, A., Lerebours, F., Dubot, C., Rouzier, R., 2016. Tumoral heterogeneity of breast cancer. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 74, 653–660. <https://doi.org/10.1684/abc.2016.1192>

### S

Sakhawat, A., Awan, S.J., Khan, M.U., Shahid, S., Maqbool, T., Zubair, H.M., Manzoor, H., Khan, S., 2024. In silico and in vitro analyses to investigate the effects of vitamin C on VEGF protein. *J. Taibah Univ. Med. Sci.* 19, 775–789. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2024.06.008>

Schickel, J., Stahn, K., Zimmer, K.-P., Sudbrak, R., Størm, T.M., Dürst, M., Kiehntopf, M., Deufel, T., 2002. Gene for integrin-associated protein (IAP, CD47): Physical mapping, genomic structure, and expression studies in skeletal muscle. *Biochem. Cell Biol.* 80, 169–176. <https://doi.org/10.1139/o01-210>

Schlundt, C., Fischer, H., Bucher, C.H., Rendenbach, C., Duda, G.N., Schmidt-Bleek, K., 2021. The multifaceted roles of macrophages in bone regeneration: A story of polarization, activation and time. *Acta Biomater., Immunomodulatory Biomaterials* 133, 46–57. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.04.052>

Shastry, B.S., 2002. SNP alleles in human disease and evolution. *J. Hum. Genet.* 47, 561–566. <https://doi.org/10.1007/s100380200086>

Shu, R., Evtimov, V.J., Hammett, M.V., Nguyen, N.-Y.N., Zhuang, J., Hudson, P.J., Howard, M.C., Pupovac, A., Trounson, A.O., Boyd, R.L., 2021. Engineered CAR-T cells targeting TAG-72 and CD47 in ovarian cancer. *Mol. Ther. Oncolytics* 20, 325–341. <https://doi.org/10.1016/j.omto.2021.01.002>

Sokolovsky, M., Riordan, J.F., Vallee, B.L., 1967. Conversion of 3-nitrotyrosine to 3-aminotyrosine in peptides and proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 27, 20–25. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(67\)80033-0](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(67)80033-0)

Soto-Pantoja, D.R., Shih, H.B., Maxhimer, J.B., Cook, K.L., Ghosh, A., Isenberg, J.S., Roberts, D.D., 2014. Thrombospondin-1 and CD47 signaling regulate healing of thermal injury in mice. *Matrix Biol., Matricellular Proteins* 37, 25–34. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2014.05.003>

Spencer, P.S., Barral, J.M., 2012. GENETIC CODE REDUNDANCY AND ITS INFLUENCE ON THE ENCODED POLYPEPTIDES. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 1. <https://doi.org/10.5936/csbj.201204006>

Stefanidakis, M., Newton, G., Lee, W.Y., Parkos, C.A., Luscinskas, F.W., 2008. Endothelial CD47 interaction with SIRP $\alpha$  is required for human T-cell transendothelial migration under shear flow conditions in vitro. *Blood* 112, 1280–1289. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-01-134429>

Su, X., Jin, W., Liu, L., Zhu, Z., Li, C., 2023. Regulation of CD47 expression on CD14<sup>+</sup> monocytes by interferon- $\alpha$  in PBC patients. *Front. Immunol.* 14, 1256995. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1256995>

### T

Tsai, R.K., Discher, D.E., 2008. Inhibition of “self” engulfment through deactivation of myosin-II at the phagocytic synapse between human cells. *J. Cell Biol.* 180, 989–1003. <https://doi.org/10.1083/jcb.200708043>

### V

van der VLIET, A., Eiserich, J.P., Shigenaga, M.K., Cross, C.E., 1999. Reactive Nitrogen Species and Tyrosine Nitration in the Respiratory Tract. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 160, 1–9. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.160.1.9807044>

### W

Wang, C., Tan, X., Tang, D., Gou, Y., Han, C., Ning, W., Lin, S., Zhang, W., Chen, M., Peng, D., Xue, Y., 2022. GPS-Uber: a hybrid-learning framework for prediction of general and E3-specific lysine ubiquitination sites. *Brief. Bioinform.* 23, bbab574. <https://doi.org/10.1093/bib/bbab574>

Wang, C.-L., Lin, M.-J., Hsu, C.-Y., Lin, H.-Y., Tsai, H.-P., Long, C.-Y., Tsai, E.-M., Hsieh, T.-H., Wu, C.-H., 2019. CD47 promotes cell growth and motility in epithelial ovarian cancer. *Biomed. Pharmacother. Biomedecine Pharmacother.* 119, 109105. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109105>

Wang, D., Zeng, S., Xu, C., Qiu, W., Liang, Y., Joshi, T., Xu, D., 2017. MusiteDeep: a deep-learning framework for general and kinase-specific phosphorylation site prediction. *Bioinformatics* 33, 3909–3916. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx496>

Wang, X., Wang, Y., Hu, J., Xu, H., 2021. An antitumor peptide RS17-targeted CD47, design, synthesis, and antitumor activity. *Cancer Med.* 10, 2125–2136. <https://doi.org/10.1002/cam4.3768>

Wang, X.-Q., Frazier, W.A., 1998. The Thrombospondin Receptor CD47 (IAP) Modulates and Associates with  $\alpha 2\beta 1$  Integrin in Vascular Smooth Muscle Cells. *Mol. Biol. Cell* 9, 865–874. <https://doi.org/10.1091/mbc.9.4.865>

Wang, X.Q., Lindberg, F.P., Frazier, W.A., 1999. Integrin-associated protein stimulates alpha2beta1-dependent chemotaxis via Gi-mediated inhibition of adenylate cyclase and extracellular-regulated kinases. *J. Cell Biol.* 147, 389–400. <https://doi.org/10.1083/jcb.147.2.389>

Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., Heer, F.T., de Beer, T.A.P., Rempfer, C., Bordoli, L., Lepore, R., Schwede, T., 2018. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Res.* 46, W296–W303. <https://doi.org/10.1093/nar/gky427>

Wilairat, P., Kittikalayawong, A., Chaicharoen, S., 1992. The thalassemic red cell membrane. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* 23 Suppl 2, 74–78.

Willingham, S.B., Volkmer, J.-P., Gentles, A.J., Sahoo, D., Dalerba, P., Mitra, S.S., Wang, J., Contreras-Trujillo, H., Martin, R., Cohen, J.D., Lovelace, P., Scheeren, F.A., Chao, M.P., Weiskopf, K., Tang, C., Volkmer, A.K., Naik, T.J., Storm, T.A., Mosley, A.R., Edris, B., Schmid, S.M., Sun, C.K., Chua, M.-S., Murillo, O., Rajendran, P., Cha, A.C., Chin, R.K., Kim, D., Adorno, M., Raveh, T., Tseng, D., Jaiswal, S., Enger, P.Ø., Steinberg, G.K., Li, G., So, S.K., Majeti, R., Harsh, G.R., van de Rijn, M., Teng, N.N.H., Sunwoo, J.B., Alizadeh, A.A., Clarke, M.F., Weissman, I.L., 2012. The CD47-signal regulatory protein alpha (SIRP $\alpha$ ) interaction is a therapeutic target for human solid tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109, 6662–6667. <https://doi.org/10.1073/pnas.1121623109>

## Chapitre VI : Bibliographie

---

Wu, F., Pang, H., Li, F., Hua, M., Song, C., Tang, J., 2024. Progress in cancer research on the regulator of phagocytosis CD47, which determines the fate of tumor cells (Review). *Oncol. Lett.* 27, 1–15. <https://doi.org/10.3892/ol.2024.14389>

### X

Xie, Y., Luo, X., Li, Y., Chen, L., Ma, W., Huang, J., Cui, J., Zhao, Y., Xue, Y., Zuo, Z., Ren, J., 2018. DeepNitro: Prediction of Protein Nitration and Nitrosylation Sites by Deep Learning. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 16, 294–306. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2018.04.007>

Xu, L., Wang, S., Li, J., Li, B., 2019. CD47/SIRP $\alpha$  blocking enhances CD19/CD3-bispecific T cell engager antibody-mediated lysis of B cell malignancies. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 509, 739–745. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.12.175>

Xue, Y., Liu, Z., Gao, X., Jin, C., Wen, L., Yao, X., Ren, J., 2010. GPS-SNO: Computational Prediction of Protein S-Nitrosylation Sites with a Modified GPS Algorithm. *PLoS ONE* 5, e11290. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011290>

### Y

Yang, H., Xun, Y., You, H., 2023. The landscape overview of CD47-based immunotherapy for hematological malignancies. *Biomark. Res.* 11, 15. <https://doi.org/10.1186/s40364-023-00456-x>

Yates, C.M., Sternberg, M.J.E., 2013. The effects of non-synonymous single nucleotide polymorphisms (nsSNPs) on protein-protein interactions. *J. Mol. Biol.* 425, 3949–3963. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2013.07.012>

Yordanov, A., Tsoneva, E., Kostov, S., Karakadieva, K., Hasan, I., 2024. The Role of CD47 in Gynecological Oncology. *Surg. Gastroenterol. Oncol.* 29, 157.

### Z

Zhang, D., Xu, Z.-C., Su, W., Yang, Y.-H., Lv, H., Yang, H., Lin, H., 2021. iCarPS: a computational tool for identifying protein carbonylation sites by novel encoded features. *Bioinforma. Oxf. Engl.* 37, 171–177. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa702>

Zhang, T., Wang, F., Xu, L., Yang, Y.-G., 2024. Structural–functional diversity of CD47 proteoforms. *Front. Immunol.* 15, 1329562. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1329562>

Zhang, W., Huang, Q., Xiao, W., Zhao, Y., Pi, J., Xu, H., Zhao, H., Xu, J., Evans, C.E., Jin, H., 2020a. Advances in Anti-Tumor Treatments Targeting the CD47/SIRP $\alpha$  Axis. *Front. Immunol.* 11, 18. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00018>

Zhang, W., Huang, Q., Xiao, W., Zhao, Y., Pi, J., Xu, H., Zhao, H., Xu, J., Evans, C.E., Jin, H., 2020b. Advances in Anti-Tumor Treatments Targeting the CD47/SIRP $\alpha$  Axis. *Front. Immunol.* 11, 18. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00018>

Zhao, H., Song, S., Ma, J., Yan, Z., Xie, H., Feng, Y., Che, S., 2022. CD47 as a promising therapeutic target in oncology. *Front. Immunol.* 13, 757480. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.757480>

# **Chapitre VII : Annexes**

### Chapitre VII : Annexes

#### Séquence sauvage

```
>sp|Q08722|CD47_HUMAN Leukocyte surface antigen CD47 OS=Homo sapiens
OX=9606 GN=CD47 PE=1 SV=1
MWPLVAALLLGSACCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFTVNMEAQNTTEVYVKWKF
KGRDIYTFDGNLNKSTVPTDFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELT
REGETIIEELKYRVVSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALL
VAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLHYYVVFSTAIGLTSFVIA
ILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQ
PPRKAVEEPLNAFKESKGMNDE
```

#### **G274S**

```
>MER6
MWPLVAALLLGSACCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFTVNMEAQNTTEVYVKWKF
KGRDIYTFDGNLNKSTVPTDFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELT
REGETIIEELKYRVVSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALL
VAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLHYYVVFSTAIGLTSFVIA
ILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISLSILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQ
PPRKAVEEPLNAFKESKGMNDE
```

#### **G255E**

```
>MER6
MWPLVAALLLGSACCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFTVNMEAQNTTEVYVKWKF
KGRDIYTFDGNLNKSTVPTDFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELT
REGETIIEELKYRVVSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALL
VAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLHYYVVFSTAIGLTSFVIA
ILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQ
PPRKAVEEPLNAFKESKGMNDE
```

#### **V214G**

```
>MER6
MWPLVAALLLGSACCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFTVNMEAQNTTEVYVKWKF
KGRDIYTFDGNLNKSTVPTDFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELT
REGETIIEELKYRVVSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALL
VAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIGTSTGILILLHYYVVFSTAIGLTSFVIA
ILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQ
PPRKAVEEPLNAFKESKGMNDE
```

#### **G209v**

```
>MER6
MWPLVAALLLGSACCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFTVNMEAQNTTEVYVKWKF
KGRDIYTFDGNLNKSTVPTDFSSAKIEVSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELT
REGETIIEELKYRVVSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALL
VAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATVLLGLIVTSTGILILLHYYVVFSTAIGLTSFVIA
ILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQLLGLVYMKFVASNQKTIQ
PPRKAVEEPLNAFKESKGMNDE
```