

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA BOUMERDES



Faculté des Sciences

Département de Biologie

Mémoire de Fin D'étude

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en :

Spécialité : Biotechnologie et pathologies moléculaires

**Le rôle de TGF- β dans la transition épithélio-mésenchymateuse
dans les cancers du sein.**

Présenté par :

Madri Sabrina

Sitouah Imane

Composition du jury :

Dr. Dahmani Mohamed Mahdi	Maitre de conférence B FS-UMBB	Président
Dr. Zergoun Ahmed Amine	Maitre de conférence B FS-UMBB	Promoteur
Dr. Nouri Abdelmoumin	Maitre de conférence B FS-UMBB	Examineur

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

Tout d'abord nous tenons à remercier ALLAH le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience de mener à terme le présent travail.

Nous remercions vivement notre directeur de mémoire monsieur Ahmed Amine Zergoun, qui nous a fait l'honneur de diriger ce travail pour son aide, sa disponibilité, sa grande expérience et sa méthodologie dans ce travail, ainsi que pour ses multiples relectures et sa gentillesse. En témoignage de reconnaissance et de profond respect.

Nous présentons nos remerciements également aux membres du jury pour avoir évalué notre travail, afin de nous faire des remarques voir des suggestions dans le but évident d'améliorer nos connaissances.

Merci infiniment au docteur Nacer Madri pour ses conseils, son soutien et son encouragement pour toutes les années d'étude.

Une pensée spéciale pour madame Nabila Madri vous avez été le soutien sans faille, tout particulièrement dans la préparation de ce mémoire. Un énorme merci.

Nos derniers remerciements et ce ne sont pas les moindres, vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire,

À mon père qui me manque, pour son amour, ses conseils ainsi que son soutien inconditionnel. Repose en paix mon cher.

À la chose la plus précieuse qui existe, ma chère maman, que Dieu prolonge sa vie.

À ma patrie où je rêve un jour d'embrasser la démocratie et de ne pas y toucher.

À mon enseignant monsieur Zergoun pour ses conseils scientifiques ainsi que les remarques constructives faites lors de mon cursus.

À mes sœurs, mes frères, mes nièces et mes neveux,

À mon partenaire du travail Imane.

À toute personne atteinte du cancer.

À tous les étudiants qui ne désespèrent pas et croient que le matin est proche.

À tous ceux qui ont élargi ma mémoire et ne les ont pas écrits dans mon journal.

Sabrina.

Dédicace

A ma famille, qui m'a doté d'une éducation digne et à tous ceux qui ont cru en moi.

A ma chère maman Koumyem Salima et mon père Brahim qui m'ont donné toutes chances pour réussir, pour tout ce qu'ils ont consenti comme efforts, pour leurs conseils et leurs patience, grâce à eux je suis là aujourd'hui vous êtes ma force. Que dieu vous protège.

A mon frère Ryad, je t'offre ce travail pour le courage et les leçons que tu m'as appris, mon profond respect.

A celle qui m'a épaulé, motivé, soutenu et qui est fière de moi ma précieuse tante Koumyem Bouchra vous êtes ma source d'espoir, mille mercis.

A mes cousins Nacera, Noureddine, et mon oncle Dramchini Mohamed merci d'être à mes coté.

Aux sœurs que la vie m'a donnée Kaci Houria, Zamoum Zineb, Abahri Nadia pour leurs soutiens.

A tous les cousins, les amis pour leurs encouragement.

A monsieur aissaoui et madame malek vous êtes mon exemple, merci.

A monsieur Zergoun pour ses conseils et ses leçons, merci.

A mon binôme Sabrina, toute la réussite pour toi.

Imane.

Liste des abréviations

ADN	Deoxyribonucleic acid.
bHLH	Basic Helix-Loop-Helix.
CSC	Cancer stem cell.
EMT	Epithelial-mesenchymal transition.
E-cadhérine	Epithelial cadherin.
E-box	Enhancer box.
EGF	Epidermal Growth Factor.
FGF	Fibroblast growth factor.
IARC	International Agency for Research on Cancer.
MAPK	Mitogen-activated protein kinase.
MET	Mesenchymal-epithelial transition.
MMP	Matrix metalloproteases.
miARN	Micro ARN.
PI3k	phosphatidylinositol-3-kinase.
TGF- β	Transforming Growth Factor- β .
ZEB1	Zinc finger E-box binding homeobox 1.

Liste des figures

Figure 1 : Estimation du nombre de nouveaux cas dans le monde, en 2018 chez les femmes ...	3
Figure 2 : Estimation du nombre de décès dans le monde, en 2018 chez les femmes.....	4
Figure 3 : Evaluation comparative des incidences des pathologies cancéreuses fréquentes, chez les femmes pour les années 2015,2016 et 2017	5
Figure 4 : Schéma structurel du sein	6
Figure 5: Les principales étapes du développement d'une tumeur d'origine épithéliale	12
Figure 6 : Schéma des différentes étapes de la transition épithélio-mésenchymateuse	17
Figure 7 : Les trois types de la transition épithélio-mésenchymateuse	18
Figure 8 : Les facteurs conduisant vers le phénomène de la chimiorésistance.....	27
Figure 9 : La différence d'effet entre la thérapie classique standard et celle combinée.....	29
Figure 10 : Récapitulation des stratégies ciblant le processus de la TEM.....	31
Figure 11 : Mécanisme de réponse des CSC à la radiothérapie et leur radiorésistance.....	33
Figure 12 : Les facteurs de l'activation de l'EMT	41
Figure 13 : Rôle du TGF- β dans les métastases.....	42
Figure 14 : Le rôle du TGF- β dans la progression de l'EMT.....	44
Figure 15 : Les deux modèles hypothétiques de la transformation maligne	46
Figure 16 : Schéma représentatif de la relation entre la TGF- β et les cellules souches cancéreuses.....	48
Figure 17 : L'expression du TGF- β dans le cancer du sein triple négatif.....	50

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Résumé	
Introduction	1

Chapitre 01 : Epidémiologie et anatomie

1. Epidémiologie	3
2. Anatomie du sein	6
2.1. Développement de la glande mammaire durant la vie de la femme	7

Chapitre 02 : Processus de carcinogenèse

1. Définition du processus de carcinogenèse	8
2. Etapes de la carcinogenèse	9
2.1. L'initiation	9
2.2. La promotion.....	9
2.3. La progression.....	10
2.3.1. L'angiogenèse.....	10
2.3.2 Invasion et dissémination tumorale.....	10

Chapitre 3 : Rôle de la transition épithélio-mésenchymateuse dans la progression du cancer du sein

1. Définition de la transition épithélio-mésenchymateuse	16
2. Types de l'EMT.....	17
2.1 L'EMT de type 1.....	17
2.2 L'EMT de type 2.....	18

2.3 L'EMT de type 3.....	18
3. Les régulateurs de l'EMT.....	19
4. Rôle du facteur de croissance transformant- β (TFG- β)	19
5. Rôle des cellules souches cancéreuses (CSC)	20

Chapitre 4 : Impact de l'étude de l'EMT dans le développement de nouveaux traitements anticancéreux

1. Les thérapies anticancéreuses ciblant l'EMT.....	21
1.1 La chimiothérapie.....	23
1.1.1 L'EMT et la chimiorésistance.....	24
1.1.2 Les stratégies ciblant l'EMT.....	27
1.2 La radiothérapie.....	32
1.2.1. La Radiorésistance et les CSC.....	32
1.2.2 L'inhibition de la radiorésistance des CSC.....	37

Résultats (Synthèses) et discussions

1. Rôle du TGF beta dans l'EMT.....	41
2. Rôle des cellules souches cancéreuses dans l'EMT.....	44
3. Rôle des CSC et TGF- β dans les types du cancer de sein	49

Conclusion et perspectives

Références

Résumé

Le cancer du sein est le premier cancer qui touche la population féminine. Les décès qu'il cause sont le résultat de la dissémination métastatique, suite à une transition épithélio-mésenchymateuse (EMT). Cette dernière se présente comme un processus morphogénique fondamental dans lequel les cellules perdent leurs caractéristiques épithéliales afin d'acquérir des propriétés de cellules mésenchymateuses, qui leurs confèrent une mobilité et une invasion vers d'autres tissus distants. La voie de signalisation TGF- β agit sur la progression tumorale par l'induction de l'EMT, ainsi, qu'une population des cellules souches cancéreuses (CSC) d'un phénotype antigénique CD44+/CD24- ayant un rôle central dans la propagation et la résistance tumorales.

Mots clés : cancer du sein, EMT, TGF- β , CSC.

Abstract

Breast cancer is the first cancer that affects the female population. The death's cause is the result of metastatic dissemination, following an epithelial-mesenchymal transition (EMT). This latter is a fundamental morphogenic process in which cells lose their epithelial characteristics in order to acquire properties of mesenchymal cells, which give them increased mobility and invasion to invade other distant tissues. The TGF- β signaling pathway acts on tumor progression by inducing EMT, rather than, a population of cancer stem cells (CSCs) of an antigenic CD44+/CD24- phenotype playing a central role in tumor spread and resistance.

Keywords: breast cancer, EMT, TGF- β , CSC.

ملخص

سرطان الثدي هو أول سرطان يصيب الإناث. الوفيات التي يسببها هي نتيجة الانتشار النقيلي، بعد الانتقال الظهاري واللحمية المتوسطة (EMT)، هذه الأخيرة تظهر كعملية تشكّل أساسية حيث تفقد الخلايا خصائصها الظهارية لتنتهي باكتساب خصائص الخلايا اللحمية المتوسطة. ممّا يمنحهم مزيداً من الحركة وانتشار لتستوطن أنسجة أخرى بعيدة. يعمل مسار إشارات TGF- β على تقدم الورم من خلال تحري EMT، وبالتالي، فإن مجموعة من الخلايا الجذعية السرطانية (CSCs) ذات النمط الظاهري المستضدي CD44+/CD24- لها دور مركزي في انتشار و مقاومة الورم.

الكلمات المفتاحية: سرطان الثدي، EMT، TGF- β ، CSC.

Introduction

Le cancer est un enjeu majeur de santé publique à l'échelle planétaire. Il touche toutes les catégories de la population mondiale quel que soit leur âge, sexe ou encore leur niveau socioéconomique (1).

Plus de 1 050 000 nouveaux cas de cancer du sein surviennent chaque année, dont plus de 580 000 dans les pays développés (Europe de l'ouest et Amérique du nord) où il est plus fréquent qu'en Afrique ou en Asie (1).

Le cancer du sein est le premier cancer chez la femme en Algérie avec 12.000 nouveaux cas par an selon les données actuelles. La majorité sont découverte à un stade localement avancé (2).

Il résulte d'un dérèglement de certaines cellules épithéliales qui se multiplient d'une façon anarchique en forment le plus souvent une masse tumorale. Il en existe différents types qui n'évoluent pas de la même manière. Certains sont « agressifs » et évoluent très rapidement, d'autres plus lentement.

Les cellules cancéreuses peuvent rester dans le sein, ou encore se propager dans d'autres organes ce qui est une situation encore plus menaçante suite à un processus très complexe à multi-étapes spécifiques aux cancers solides (tumeur) appelé processus de carcinogenèse ; ce dernier résulte en partie d'une accumulation d'altérations génétiques.

La transition épithélio-mésenchymateuse est l'une des étapes de la carcinogenèse. Connue pour activer la cascade métastatique elle désigne le passage d'un groupe de cellules épithéliales à une forme mésenchymateuse, l'acquisition de ces propriétés va favoriser tout le développement de la tumeur primaire et la cascade métastatique.

L'EMT est induite par plusieurs voix de signalisation déclenchantes parmi elles ; la TGF- β qui engendre la transformation épithélio-mésenchymateuse en aval après sa production.

Dans le développement du cancer, elle favorise la différenciation des cellules et inhibe la prolifération, alors que dans la carcinogenèse la TGF- β sécrétée par les cellules tumorales change souvent sa fonction inhibitrice, ainsi régule positivement l'expression des facteurs de transcription tel que les protéines de la famille Twist (Twist1, Twist2) et des facteurs de transcription à doigts de zinc de la famille Snail (Snail1/Snail, Snail2/Slug) et de la famille Zeb (Zeb1, Zeb2/Sip1) qui sont impliqués dans le phénomène de l'EMT(3).

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail qui a pour objectif d'étudier le rôle de la TGF- β dans l'EMT et sa conséquence sur la progression métastatique du cancer du sein ce qui va aider à mieux développer des thérapies anticancéreux sélectives et ciblés.

Généralités

Chapitre 01 : Epidémiologie et anatomie

Le terme "cancer ou tumeurs malignes du sein" représente un groupe très hétérogène de proliférations cellulaires dites néoplasiques de la glande mammaire qui diffèrent tant du point de vue histologique (morphologie et architecture tissulaire microscopique) que de leur potentialité évolutive (4).

1. Epidémiologie

A partir de 20 dernières années du 20^{ème} siècle l'incidence des cancers est en augmentation, ceci est confirmé par les nouveaux cas enregistrés pour l'année 2018 (5).

Le cancer du sein occupe la première place en termes de nouveaux cas avec un taux de 24.2 % observée dans le monde (voir figure1). C'est aussi celui qui cause le plus grand nombre de décès chez la femme, avec 15 % des décès féminins par cancer (voir figure 2) (5).

Estimated number of new cases in 2018, worldwide, females, all ages

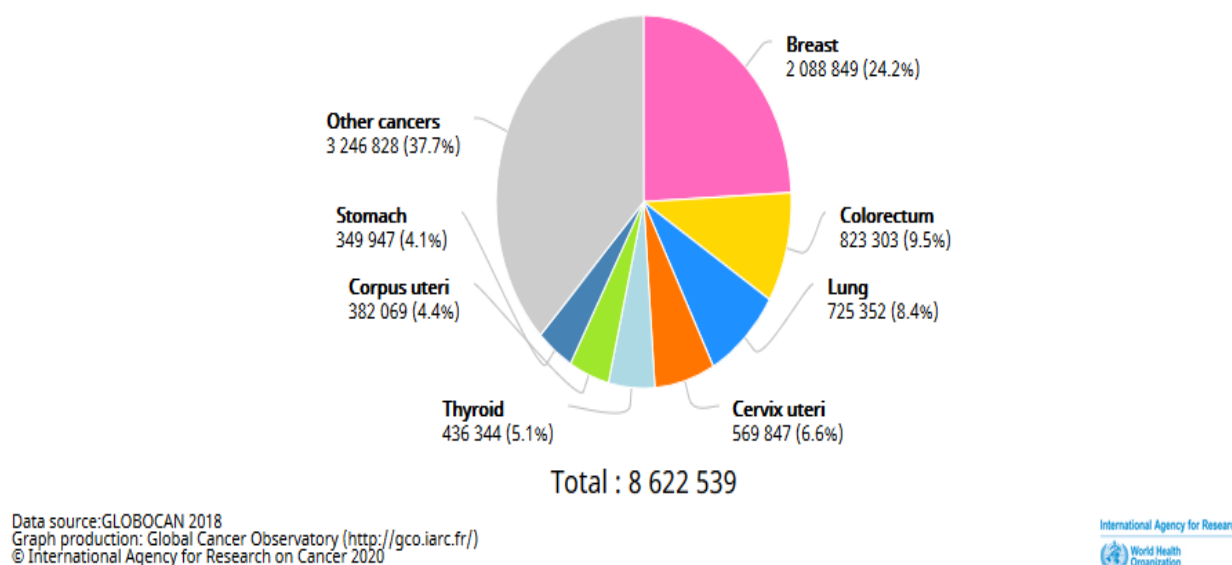


Figure 1 : Estimation du nombre de nouveaux cas dans le monde, en 2018 chez les femmes (5).

Selon la figure 1 : Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme, il occupe le premier rang avec un nombre de 2 088 849 nouveaux cas enregistré et d'une proportion de 24 %, à travers le monde pour l'année 2018.

Estimated number of deaths in 2018, worldwide, females, all ages

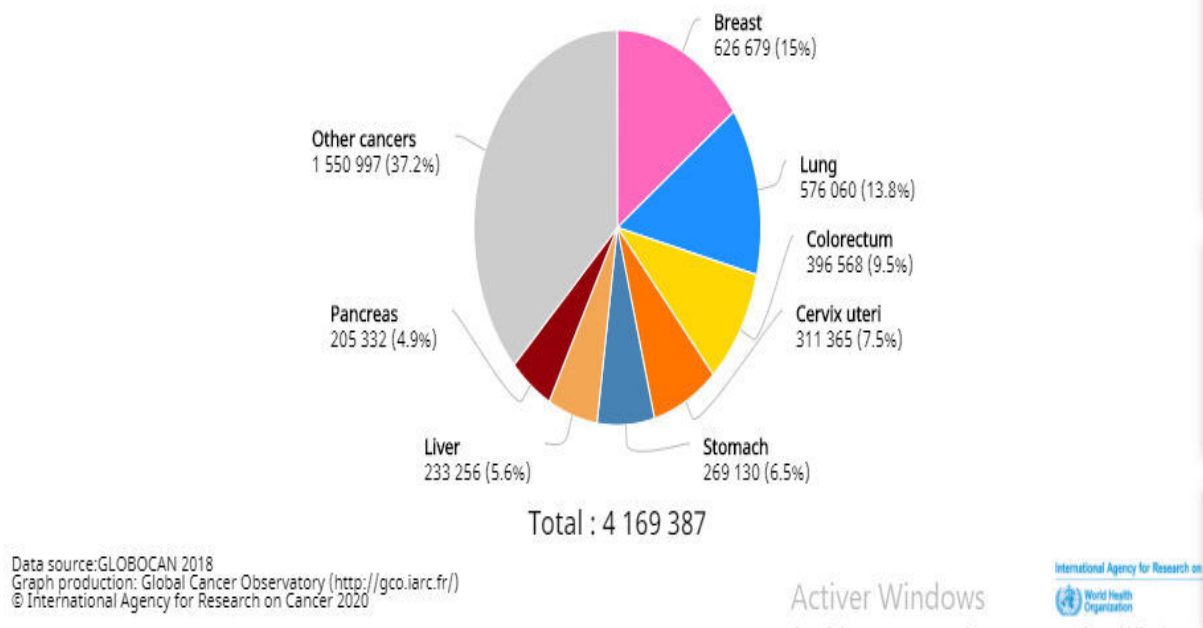


Figure 2 : Estimation du nombre de décès dans le monde, en 2018 chez les femmes (5).

Selon la figure 2 : Le cancer du sein est aussi la première cause de mortalité par cancer chez les femmes dans le monde, avec 626 679 décès, d'une proportion de 15% pour l'année 2018.

En Algérie, le cancer du sein touche une femme sur huit (1/8) au cours de sa vie, et touche autant la femme jeune que ménopausée. La moyenne d'âge est de 47 ans avec 20% de femmes avant 40 ans et 12% de femmes avant 30 ans (6).

Son incidence est en augmentation et reste la première cause de mortalité chez la femme. Selon L'IARC, 11847 cas ont été enregistré en 2018 (40 % des cancers chez la femme) et environ 18000 nouveaux cas sont attendus pour l'an 2040.

La mortalité due au cancer du sein est liée le plus souvent au diagnostic tardif. La taille tumorale moyenne est de 36 mm avec une atteinte ganglionnaire dans 2 sur 3 cas et diagnostic

métastatique dans 1 sur 5 des cas, ce qui peut être amélioré par le diagnostic et le dépistage précoce (6).

Les pathologies cancéreuses ne cessent pas d'augmenter d'une année à une autre d'où l'augmentation des incidences enregistrées chaque année notamment dans la wilaya de Boumerdes (6).

Chez les femmes, on remarque que le cancer du sein prend toujours la même place et avec des incidences de plus en plus élevées et cela malgré la grande sensibilisation par rapport aux facteurs de risques et l'encouragement de l'allaitement maternel et surtout pour les campagnes généralisées de dépistages qui se font à travers la wilaya. De ce fait, elle est nommée wilaya pilot pour l'année 2019 (statistiques des trois années de 2015 à 2017) (6).

Son incidence est en nette augmentation depuis 2015 où il présentait 44.61%, 45,58% en 2016 et 57,95% en 2017. 350 cas ont été enregistrés pour l'année 2019 (Figure 3) (6).

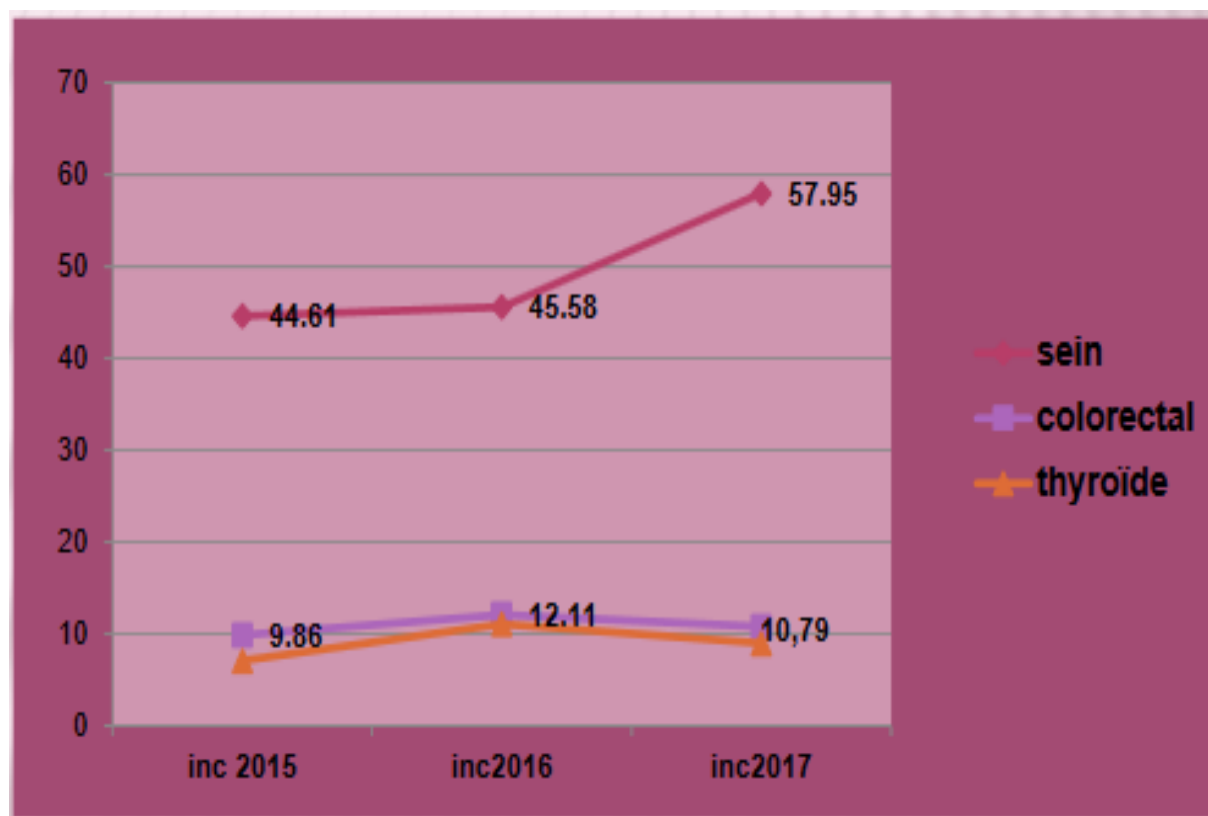


Figure 3 : Evaluation comparative des incidences des pathologies cancéreuses fréquentes, chez les femmes pour les années 2015,2016 et 2017(6).

Dans la wilaya de Boumerdes, dans un intervalle de 2ans [2015,2017], l'incidences du cancer du sein chez la population féminine est en rapide augmentation remarquable, par rapport aux autres types du cancer tel que le cancer de la thyroïde et le cancer colorectal où en remarque une claire diminution.

Le même registre a précisé que certaines communes sont plus touchées que d'autres, telles que la commune de Naceria dans la daïra de Bordj Menail ; qui ont enregistré des incidences de cancer de sein très élevées suivi par la daïra de Dellys (6).

2. Anatomie du sein

Les glandes mammaires sont des glandes exocrines, lactifères et sexuelles (7).

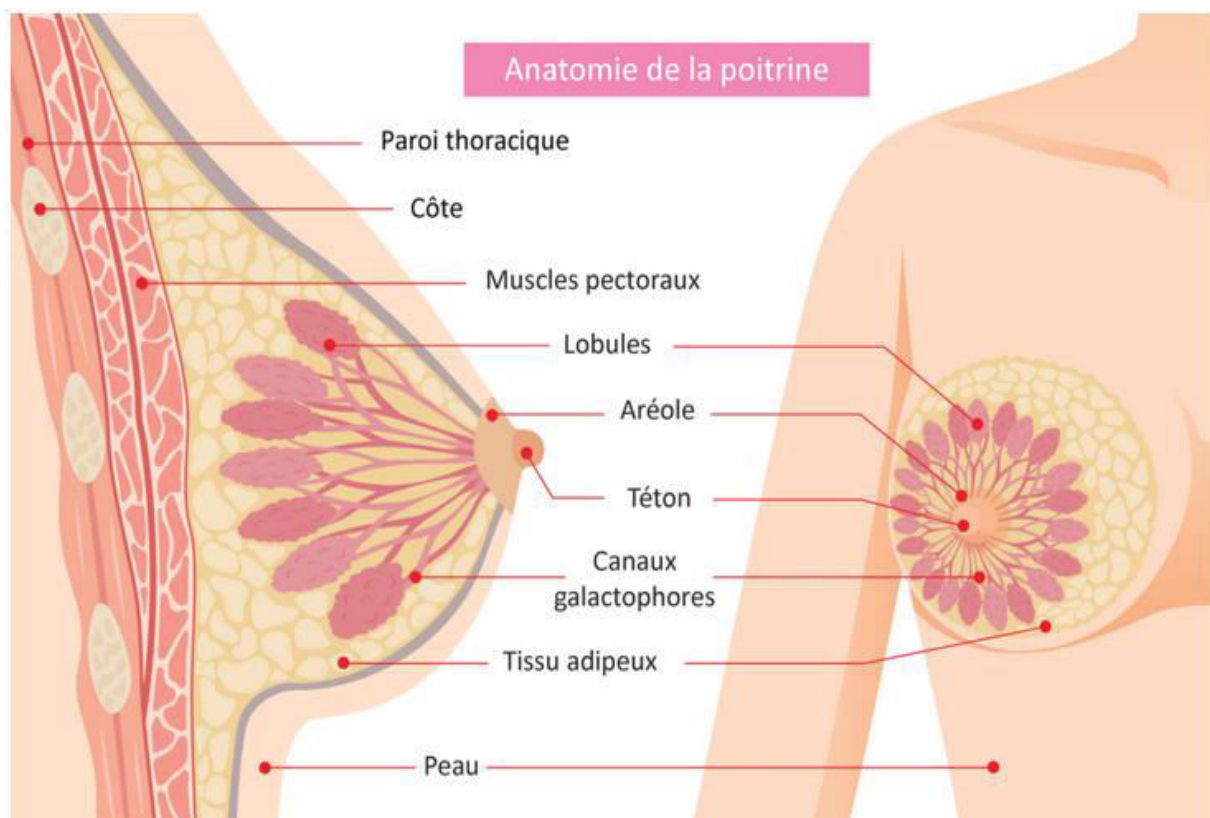


Figure 4 : Schéma structurel du sein (8).

Le sein est constitué par la glande mammaire qui se développe dans la panicule adipeuse.

Cette glande en grappe est constituée de 10 à 20 lobes. Chaque lobe est subdivisé en lobules et acini. De chaque lobe part un canal galactophore ou conduit lactifère. Ces conduits lactifères convergent vers le mamelon présentant une dilatation de 1cm avant de pénétrer dans le

mamelon appelée : le sinus lactifère et ils s'ouvrent au sommet du mamelon par des ostiums (Figure 4) (9).

2.1. Développement de la glande mammaire durant la vie de la femme

Le développement de la glande mammaire commence dès les premières semaines de la vie embryonnaire, il suit les étapes de la vie de la femme y compris ; puberté, grossesse, allaitement et ménopause.

Durant ses périodes, le sein subit plusieurs modifications physiologiques qui doivent être distinguées des modifications pathologiques (bénignes ou malignes).

La glande mammaire se développe et fonctionne sous l'influence des hormones sexuelles fabriquées par les ovaires. Ces hormones sont de deux types :

Les œstrogènes, qui permettent notamment le développement des seins au moment de la puberté et jouent un rôle important tout au long de la grossesse (assouplissement des tissus, augmentation du volume sanguin nécessaire à l'alimentation du bébé...etc.)

La progestérone qui joue notamment un rôle dans la différenciation des cellules du sein et sur le cycle mensuel, en préparant par exemple l'utérus à une éventuelle grossesse (densification et développement de la vascularisation de la muqueuse de l'utérus).

Au fil des ans, la glande mammaire se modifie. A partir de 40ans elle s'atrophie mais son volume ne diminue pas toujours compensé par l'augmentation des tissus graisseux.

Chapitre 02 : Processus de carcinogénèse

La glande mammaire est un organe en évolution permanente ce qui le rend plus susceptible aux transformations cancéreuses. Comme tout mécanisme tumoral, la carcinogenèse mammaire résulte de l'acquisition par les cellules d'un certain nombre de propriétés représentées en : l'indépendance vis-à-vis des signaux de prolifération, l'insensibilité aux signaux anti-prolifératifs, la résistance à l'apoptose, la prolifération illimitée, la capacité à induire l'angiogenèse, ainsi que le pouvoir d'invasion tissulaire et de diffusion métastatique (10).

Une cellule cancéreuse provoque, au sein du tissu où elle siège, la formation d'un amas cellulaire ou tumeur. Une tumeur est un cancer uniquement si ses cellules ont la capacité d'envahir d'autres tissus. Pour envahir un tissu, une cellule doit s'échapper du site primaire de la tumeur, pénétrer dans le sang ou les vaisseaux lymphatiques (intravasation), sortir du système sanguin ou lymphatique (extravasation) pour s'implanter dans un tissu (qui peut être éloigné du tissu ou siège de la tumeur primaire) et s'y développer, ce qui aboutit à la formation d'une tumeur secondaire ou métastase (11).

L'ensemble de modifications phénotypiques ciblant une cellule au cours du processus de transformation maligne sont le reflet de l'acquisition consécutive des changements génétiques. Ce processus complexe à multi-étape se déroule progressivement sur 20 ans ou plus et ce n'est pas une transition abrupte d'une croissance normale à une croissance tumorale (12).

La mutation de gènes critiques, comprenant des gènes suppresseurs de tumeur, des oncogènes et des gènes impliqués dans la réparation de l'ADN, conduit à une instabilité génétique et à une perte progressive de la différenciation (12).

L'incapacité des cellules cancéreuses à équilibrer la division cellulaire par la mort cellulaire (apoptose) et la formation de leurs propre système vasculaire (angiogenèse) conduit à une croissance tumorale (12).

La perte de la capacité d'interaction et la présentation d'une croissance non contrôlée par les cellules transformées conduisent à un envahissement des tissus environnants et à une dissémination par voie sanguine ou lymphatique pour gagner les organes distants (12).

1. Définition du processus de carcinogenèse

La transformation maligne est un processus multifactoriel, se déroule en plusieurs étapes, notamment une progression à partir d'une lésion bénigne (un adénome) vers une tumeur maligne (un carcinome). Cette évolution des cellules malignes est provoquée par l'accumulation

consécutives d'altérations des gènes responsables du contrôle de la prolifération cellulaire, de la mort cellulaire et du maintien de l'intégrité génétique (12).

La première cause du cancer du sein est l'agent de l'initiation tumorale qui est toujours inconnue, cependant, le développement cancéreux peut être initié par des agents environnementaux (des cancérogènes chimiques, des rayonnements, des virus) ou des facteurs génétiques héréditaires (12).

La tumeur est plutôt le résultat d'un processus évolutif mettant en jeu des générations successives de cellules qui tendent progressivement vers une prolifération cancéreuse (12).

2. Etapes de la carcinogenèse

La carcinogenèse est généralement un processus lent qui se déroule pendant de nombreuses années, voire des décennies, les cellules cancéreuses restent très vulnérables seules quelques-unes réussiront à atteindre le stade malin. Cette vulnérabilité permet d'intervenir et de franchir plusieurs stades du développement tumoral, ainsi de prévenir l'apparition de la maladie.

Cette carcinogenèse se déroule en trois étapes successives : l'initiation, la promotion et la progression tumorale. Dont chacune est d'une durée variable (12).

2.1. L'initiation

C'est une étape ponctuelle correspondante à l'altération du génome d'une seule cellule normale, lui conférant la propriété d'échapper aux régulations cellulaires, y compris, l'altérations de l'ADN d'origine endogène (erreurs au cours de la réplication de l'ADN), l'effet des radicaux libres sur l'ADN et les altérations induites par des facteurs environnementaux cancérogènes (13).

Une altération de l'ADN par un agent cancérogène génotoxique (virus, UV.) produit une mutation. Cette dernière n'est transmise aux cellules dérivantes de la cellule initiée, si elle n'est pas destinée à l'apoptose et si les altérations de l'ADN ne sont pas réparées (13).

2.2. La promotion

C'est une phase relativement longue au cours de laquelle la cellule initiée va proliférer et provoquer une expansion clonale de cellules mutées.

Divers facteurs endogènes (facteurs de croissance et hormones) ou exogènes (toxiques chimiques, facteurs alimentaires, etc.) à cause de leurs action répétitive, vont déréguler certains des mécanismes qui contrôlent la multiplication cellulaire en aboutissant à la formation d'une lésion précancéreuse (13).

2.3. La progression

Cette phase est à l'origine du phénomène de dissémination métastatique, elle résulte des interactions entre le stroma et l'épithélium (14).

Elle correspond à l'augmentation de la division anarchique qui échappe du contrôle cellulaire, de l'expression phénotypique de la malignité et de l'instabilité génétique de plus en plus marquée. L'accroissement du taux de division cellulaire augmente les risques de mutations.

C'est une phase qui se prolonge avec le temps, par l'acquisition progressive de caractéristiques de plus en plus malignes, notamment des mécanismes de l'invasion tumorale, de la capacité métastatique et de la résistance aux antimitotiques

Lors de la phase de progression, plusieurs mécanismes peuvent être observés :

- L'angiogenèse.
- L'invasion et dissémination tumorale.

2.3.1 L'Angiogenèse

L'angiogenèse tumorale est primordiale pour le développement de la tumeur. Une tumeur solide ne peut pas excéder 1 à 2mm³ la néo-vascularisation qui contribue à créer un environnement métabolique et immunitaire unique. En effet, l'angiogenèse tumorale participe à l'augmentation de l'afflux en oxygène et en nutriments, dont l'apport par simple diffusion n'est plus suffisant à la survie, la croissance et même à la dissémination de la tumeur (l'oxygène ne peut diffuser passivement que sur de courtes distances, de l'ordre d'une centaine de micromètres) (15).

2.3.2 Invasion et dissémination tumorale

Lorsque les cellules cancéreuses croissent et se divisent, elles acquièrent la capacité de déplacement de l'endroit où le cancer est apparu pour la première fois à d'autres parties du corps. Le cancer peut se propager de 3 façons.

- L'extension directe (invasion) signifie que la tumeur primitive se répand dans les tissus ou les structures à proximité (16).
- La dissémination par le système lymphatique est que les cellules cancéreuses s'échappent de la tumeur primitive et se propagent à une autre partie du corps en déplaçant par le système lymphatique (16).
- La dissémination par la circulation sanguine (dissémination hémotogène) exprime le détachement des cellules cancéreuses de la tumeur primitive, l'entrée dans la circulation sanguine et le déplacement vers un emplacement différent dans le corps (16).

L'envahissement locorégional se fait *via* les ganglions drainant le territoire concerné par la néoplasie (néoformation tissulaire). Dans le cas du cancer du sein, c'est souvent les ganglions axillaires homolatéraux qui sont atteints en premier.

La dissémination est favorisée par les cycles de multiplication non contrôlés qui donnent aux cellules tumorales une malignité de plus en plus marquée avec des populations cellulaires hétérogènes dans le cancer primitif (17).

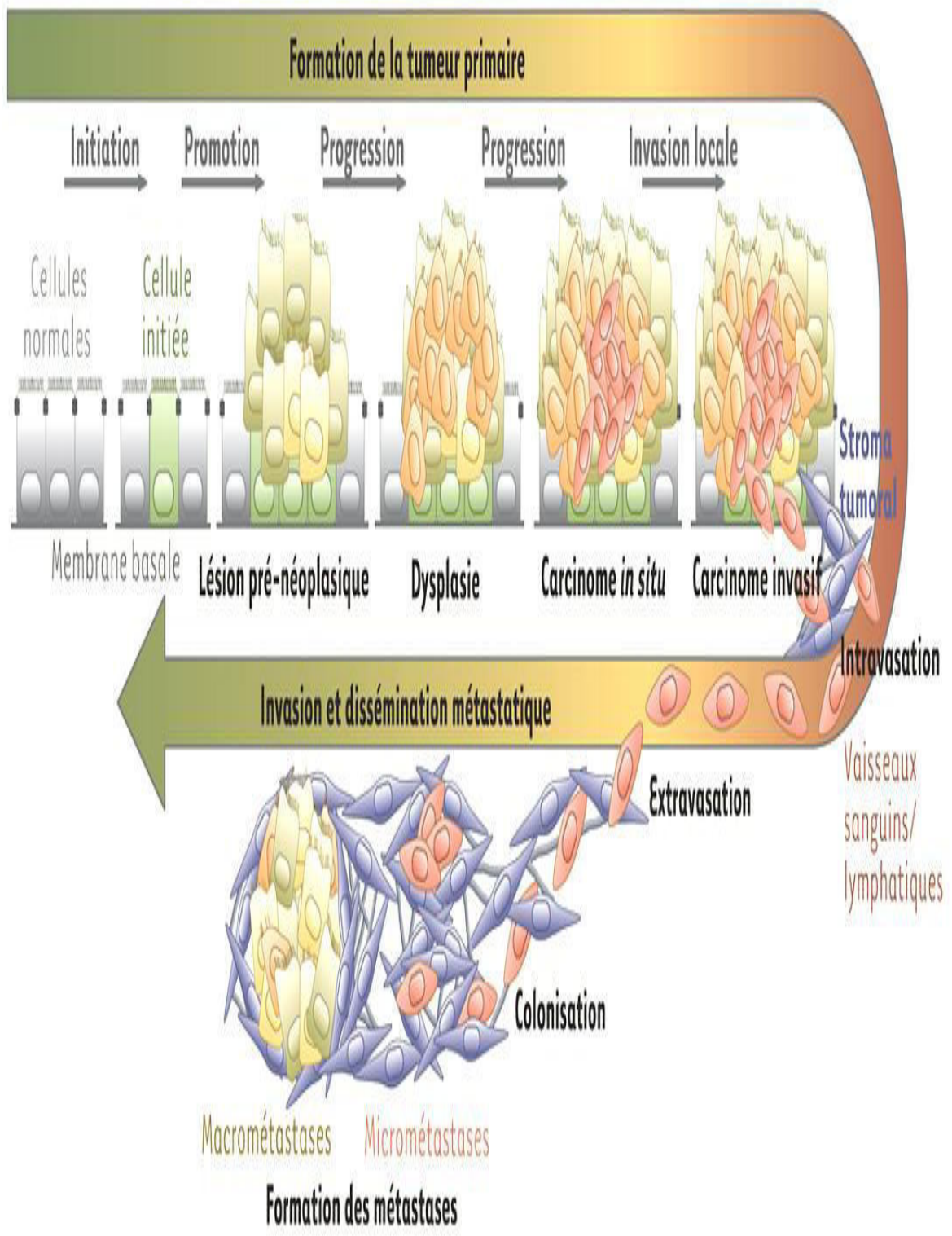


Figure 5 : Les principales étapes du développement d'une tumeur d'origine épithéliale (18).

- Dans les premières étapes de la carcinogenèse mammaire, les cellules épithéliales du sein vont subir des mutations au niveau de l'ADN qui activent le cycle cellulaire. Ensuite, il y a des gènes réparateurs d'ADN et des gènes suppresseurs de tumeurs qui doivent entrer en jeu pour les éliminer, car leur fonction est de contrôler l'activité cellulaire normale. Si ces processus ne sont pas complétés, il y aura une prolifération anormale de certaines cellules anormales.
- L'accumulation de mutations par ces cellules au fil des 14 divisions successives serait ensuite à l'origine de tumeurs (19), à la suite de la croissance incontrôlée des cellules cancéreuses et la formation d'une tumeur primaire située dans le sein, les cellules peuvent s'en détacher et s'étendre localement pour atteindre les nœuds axillaires via les vaisseaux lymphatiques ou migrer vers des organes distants comme les os, le foie, les poumons ou le cerveau formant des métastases. Ainsi, la métastase est une série complexe d'étapes au cours desquelles des cellules cancéreuses quittent la tumeur primaire et migrent vers d'autres parties du corps en utilisant le système lymphatique et/ou le système sanguin. En effet, des cellules malignes se détachent de la tumeur primaire et se lient aux protéines de la matrice extracellulaire (ECM), qui sépare la tumeur des tissus voisins. En dégradant ces protéines, les cellules cancéreuses envahissent l'ECM. Pour détenir un potentiel métastatique les cellules doivent posséder la capacité de proliférer, d'avoir acquis la mobilité et la perte de l'adhésion cellulaire. Un autre événement qui est critique est l'enclenchement du processus appelé l'angiogenèse.

Parmi les centaines d'articles que nous avons trouvé sur Pub Med et Google scholar ainsi que certaines thèses, nous avons choisi 45 articles entre 2003 et 2020. Notre choix a été basé sur l'étude du lien entre la TGF- β et l'EMT dans la progression du cancer du sein. D'autre part nous avons sélectionné les critères d'inclusion (cancer du sein, cancer du sein avec métastase), ainsi que, des critères d'exclusion (cancer du sein avec maladie chronique, cancer du sein avec d'autres types des cancers).

De cela nous avons choisi L'EMT grâce à son rôle important dans le processus métastatique d'où son absence égale à l'absence de sa dissémination.

Chapitre 03 : Rôle de la transition épithélio-mésenchymateuse dans la progression du cancer du sein

La dissémination métastatique repose sur un ensemble d'événements qui conduit à la colonisation d'un tissu distant de la tumeur primaire par des cellules cancéreuses. Il s'agit d'un processus à multi étapes, dans lequel chacune représente un obstacle et que seul un petit nombre de cellules réussit à franchir ces étapes (18).

Dans le développement tumoral, deux phénomènes intrinsèques interviennent à travers la favorisation de la dissémination au sein de l'organisme et la formation des métastases, y compris : la diversité génétique des cellules cancéreuses au sein d'une tumeur et la plasticité conférée à ces cellules à travers des signaux provenant du microenvironnement (18).

La transition épithélio-mésenchymateuse se caractérise par un processus dynamique et réversible, au cours duquel les cellules tumorales sont accordées par une capacité unique de motilité, de survie et d'adaptation aux différents stress et aux nouveaux environnements rencontrés au cours des différentes phases de la dissémination métastatique (18).

Au cours des phases initiales du processus malin, les cellules tumorales restent confinées au site initial du fait de l'importance des jonctions inter-cellulaires (jonctions serrées, jonctions adhérentes ou desmosomes) qui caractérisent les tissus épithéliaux (20).

Les cellules épithéliales normales présentent une polarisation apico-basale, une répartition localisée des molécules d'adhésion (les cadhérines et les intégrines), une latéralisation des jonctions inter-cellulaires et une polarisation des fibres d'actine. En outre, elles sont ancrées par leur pôle basal à un réseau dense de glycoprotéines et de protéoglycanes, appelé membrane basale, qui délimite le tissu épithélial de la matrice extracellulaire environnante. Cependant, au cours de la progression tumorale, les lésions peuvent devenir invasives par perte de ces jonctions et le franchissement de la membrane basale *via* la cascade métastatique (20).

Cette dernière inclue notamment la perte des jonctions inter-cellulaires et la production de métalloprotéases pour l'étape d'invasion, l'acquisition de capacités de survie dans la circulation, et le gain de capacités d'adaptation dans un nouveau microenvironnement.

Le franchissement de ces étapes repose également sur le développement d'interactions entre cellules tumorales et cellules du microenvironnement, conduisant en particulier, à la production de molécules pro-angiogéniques par les cellules endothéliales, les cellules du stroma et certaines cellules progénitrices du système hématopoïétique et à la sécrétion de métalloprotéases, de cathepsines et de glycosidases par les cellules stromales (21).

Selon le modèle classique de la progression tumorale et la croissance d'une tumeur évolue selon des phases d'expansion clonale qui font suite à la sélection de cellules ayant acquis des avantages de prolifération et de survie (22).

1. Définition de la transition épithélio-mésenchymateuse

La transformation épithélio-mésenchymateuse a été étudiée pour la première fois par Elizabeth Hay à l'aide d'un modèle de formation de stries primitives chez le poussin. Plus tard, les chercheurs ont décrit le processus comme une conversion morphologique se produisant à des endroits spécifiques dans l'épithélium embryonnaire pour donner naissance à des cellules migratoires distinctes. Par conséquent, le terme « transformation » a été remplacé par « transition » et le phénomène est devenu connu sous le nom de « la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT) ». Les cellules du cancer du sein comme beaucoup d'autres cellules cancéreuses, utilisent l'EMT qui permet aux cellules épithéliales de se débarrasser de leurs marqueurs et d'acquérir des caractéristiques mésenchymateuses (23-24).

L'EMT est un processus embryonnaire de transdifférenciation cellulaire permettant de générer des cellules mésenchymateuses à partir d'un épithélium structuré. Ce phénomène est dynamique et réversible, le processus de retour à un état épithélial étant appelé transition mésenchymo-épithéliale (MET) (25).

Dans l'EMT les cellules épithéliales perdent les jonctions adhérentes et serrées qui les maintiennent en contact avec leurs voisines et acquièrent des propriétés mésenchymateuses, notamment la morphologie fibroblastoïde, les changements caractéristiques de l'expression génique et le potentiel accru de motilité, ce qui leur permet de traverser la membrane basale et de migrer sur une longue distance (26-27).

Il convient de considérer l'EMT comme un processus dynamique et réversible, finement régulé par un ensemble de signaux issus du microenvironnement et des voies des signalisations. L'activation de ces voies conduit à l'expression de facteurs de transcription qui contrôlent l'expression de gènes impliqués dans le contrôle des interactions cellules-cellules, de la différenciation et de la motilité cellulaires. Ces facteurs de transcription inducteurs de l'EMT (FT-TEM) incluent les protéines BHLH de la famille Twist (Twist1, Twist2) et des facteurs de transcription à doigts de zinc de la famille Snail (Snail1/Snail, Snail2/Slug) et de la famille Zeb (Zeb1, Zeb2/Sip1) (28).

Le concept de EMT a été développé dans le domaine de l'embryologie mais récemment été étendu à la progression des tumeurs et aux métastases. Aussi impliquée dans des processus tels que la cicatrisation des plaies et les roulements des cellules souches.

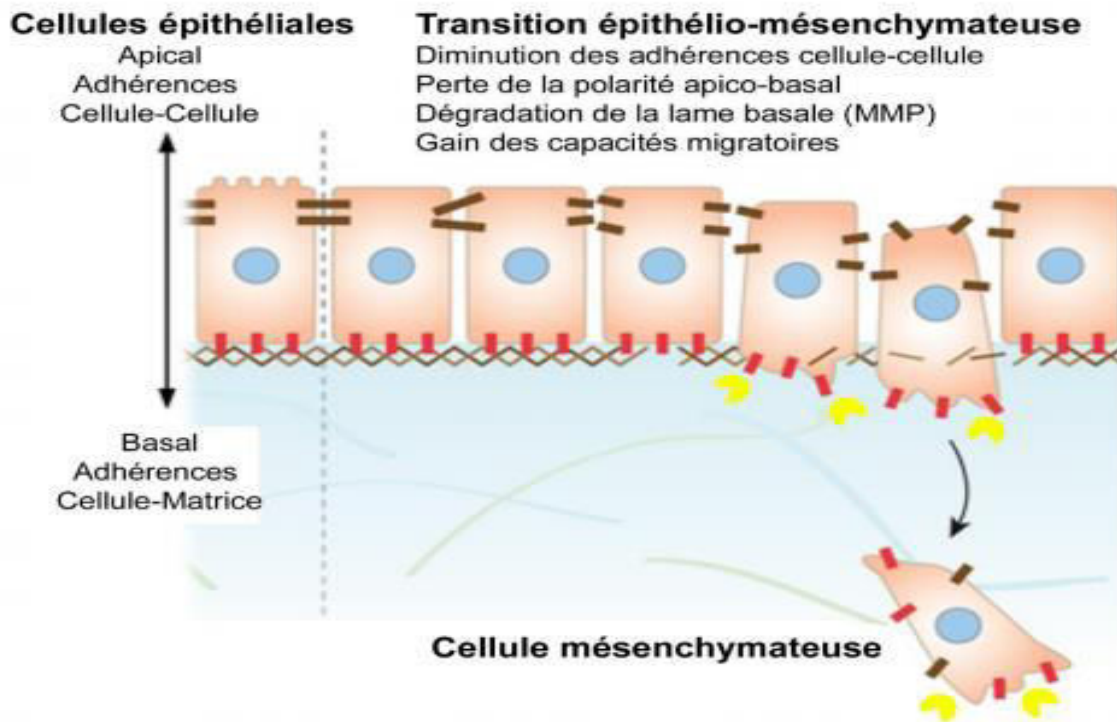


Figure 6 : Schéma des différentes étapes de la transition épithélio-mésenchymateuse (29).

(Marron, cadhérines ; rouge, intégrines ; bleu, noyaux ; jaune, MMPs.)

2. Types de l'EMT

Les EMT sont classés en trois types selon le contexte biologique dans lequel ils se produisent

2.1 L'EMT de type 1

Caractérisé par un ensemble des événements de transition qui permettent aux cellules épithéliales de devenir des cellules mésenchymateuses mobiles pendant l'implantation, la formation de l'embryon, la gastrulation et la migration de la crête neurale. Ces cellules mésenchymateuses primaires agissent comme des progéniteurs et génèrent des épithéliums

secondaires dans les organes méso-dermiques et endodermiques via la transition mésenchymo-épithéliale (MET) (30).

2.2 L'EMT de type 2

Il est associé à la cicatrisation des plaies, à la régénération des tissus et à la fibrose des organes. Dans ce processus, des fibroblastes tissulaires sont générés à partir de cellules épithéliales ou endothéliales lors de blessures et d'inflammations chroniques (30).

2.3 L'EMT de type 3

Ce dernier se produit dans les cellules cancéreuses épithéliales, est le processus par lequel les cellules cancéreuses situées au front invasif des tumeurs primaires, subissent une conversion phénotypique pour envahir la circulation et générer une lésion métastatique au niveau de tissus ou d'organes distants par l'EMT (30).

Ces trois types d'EMT représentent des processus biologiques considérablement différents (30).

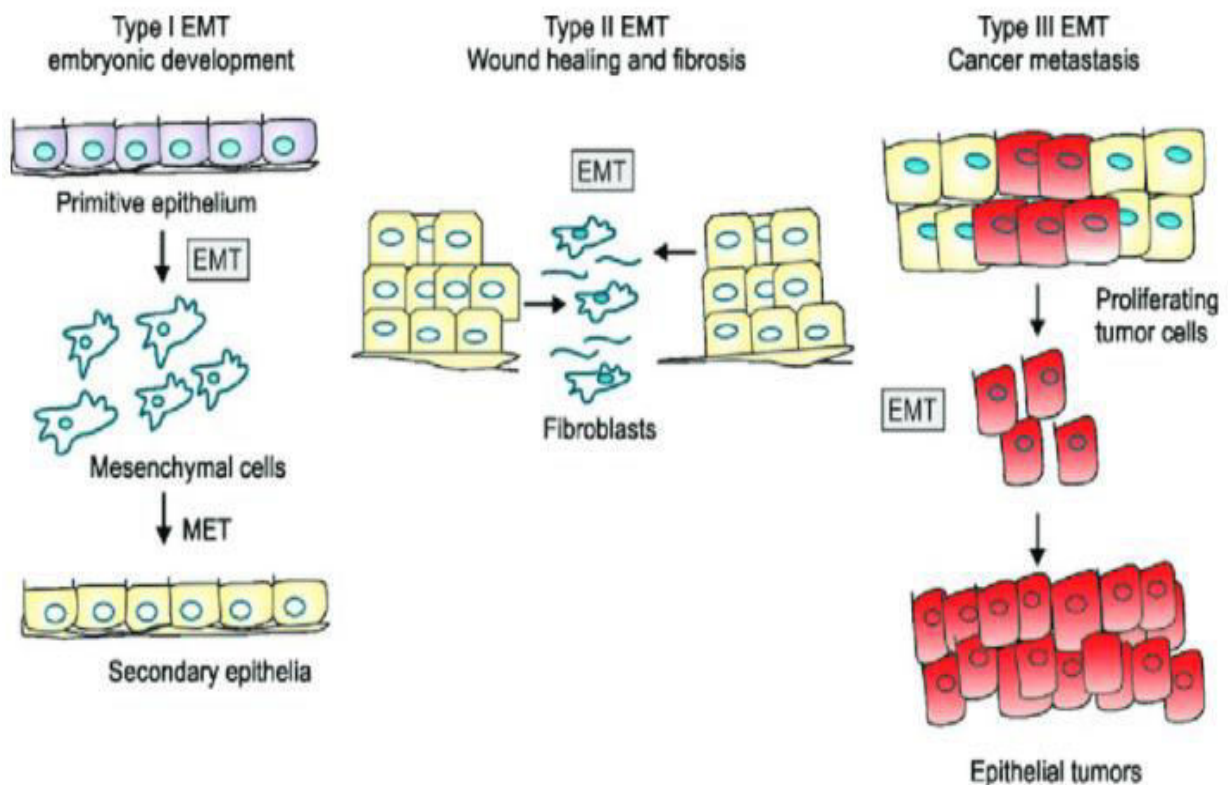


Figure 7 : Les trois types de la transition épithélio-mésenchymateuse (31).

3. Les régulateurs de l'EMT

L'une des caractéristiques de l'EMT est la perte d'expression de l'E-cadhérine, une molécule clé d'adhésion entre les cellules. En tant que gardien du phénotype épithélial, l'E-cadhérine aide à assembler les couches des cellules épithéliales et à maintenir la quiescence des cellules au sein de ces couches cellulaires (32).

L'EMT est organisée par l'activation d'une machinerie transcriptionnelle complexe, ces facteurs de transcription sont la famille des Twist, doigts de zinc (Snail1/Snail, Snail2/Slug, Zeb1, Zeb2/Sip1) (33), ainsi une grande majorité des voies de signalisation connues qui contrôlent la régulation tel les voies Wnt, Hedgehog et Notch, ainsi que des voies de signalisation empruntées par les cytokines de types TGF- β (*transforming growth factor- β*), EGF (*epidermal growth factor*), FGF (*fibroblast growth factor*) et HGF (*hepatocyte growth factor*) (34). La TGF- β est sans doute la cytokine dont le rôle au cours de l'EMT est le mieux caractérisé (34).

4. Rôle du facteur de croissance transformant- β (TGF- β)

Le facteur de croissance transformant β (TGF- β) est une cytokine sécrétée par de nombreux types cellulaires dont les plaquettes, les macrophages, les fibroblastes, les ostéoblastes et les cellules épithéliales. Elle régule la prolifération et la migration des cellules ainsi que la différenciation cellulaire. Plusieurs types de cellules cancéreuses produisent également du TGF- β .

La TGF- β joue un rôle dans le contrôle du développement embryogénique, de l'inflammation et de la réparation des tissus, ainsi que dans le maintien de l'homéostasie des tissus adultes, par conséquent, des altérations de la signalisation du TGF- β ont été impliquées dans de nombreuses maladies, y compris le cancer (35).

Au cours des premiers stades de la tumorigenèse, la TGF- β agit comme un suppresseur de tumeur en induisant l'apoptose des cellules normales (35).

A des stades avancés, lorsque les cellules cancéreuses ont acquis des mutations oncogènes et/ou ont perdu la fonction de gène suppresseur de tumeur, la TGF- β fonctionne comme un stimulateur des cellules tumorales et induit une transition dite épithélio-mésenchymateuse. Cette dernière conduit à des métastases (35).

5. Rôle des cellules souches cancéreuses (CSC)

Les cellules souches cancéreuses sont définies comme des cellules tumorales lorsqu'elles répondent à deux critères fondamentaux : la capacité de s'auto-renouveler et de générer tous les types de cellules cancéreuses présentes dans la tumeur en question. Comme les CSC possèdent des propriétés similaires aux cellules souches normales et qui permettent la croissance de la tumeur et surtout la résistance à certains traitements anticancéreux, la transplantation en série chez des souris immunocompromises (dépourvues du système immunitaire) reste le meilleur test fonctionnel pour définir une CSC (36).

Chapitre 4 : Impact de l'étude de l'EMT dans le développement de nouveaux traitements anticancéreux

Les thérapies anticancéreuses classiques utilisées pour traiter les cancers du sein agressifs peuvent être efficaces au départ, cependant, avec le temps, de nombreux patients rechutent. Une des explications pour cette rechute est la résistance thérapeutique des cellules souches cancéreuses (CSC) dans la tumeur (37).

Malgré que l'identification des CSC a permis l'émergence de nouveaux espoirs, leurs caractérisations a mis en évidence une certaine résistance aux différents traitements anticancéreux, tels que la radiothérapie (37) et la chimiothérapie (38).

De plus, il a récemment été montré que certaines cellules non-CSC pouvaient réacquérir le phénotype de cellules souches cancéreuses sous l'effet de traitement anticancéreux, enrichissant d'autant la population résistante (38).

D'autre part, la présence de marqueurs de l'EMT chez le patient est un indicateur de mauvais pronostic, de récentes données établissent une forte corrélation entre la plasticité octroyée par l'EMT et l'acquisition de propriétés de résistance (37).

Un tour d'horizon des différents mécanismes de radiorésistance, chimiorésistance, ainsi de reprogrammation et des approches thérapeutiques envisagées pour outrepasser ces résistances.

1. Les thérapies anticancéreuses ciblant l'EMT

En effet, après la thérapie, les cellules tumorales mammaires résiduelles affichent à la fois des caractéristiques mésenchymateuses et initiatrices de tumeurs (39).

Dans le but de ciblage des CSC, les stratégies utilisées comprennent les voies de signalisation : Notch, Wnt et Shh, mais aussi, des stratégies de criblage à haut débit. Ces derniers ont déjà produit des résultats tels que la salinomycine qui a été déjà identifiée à partir d'une bibliothèque composée de 16.000 petites molécules, basée sur sa cytotoxicité sélective vers les cellules mammaires enrichies en CSC. Cette étude a affirmé que les CSC présentant des caractéristiques mésenchymateuses peuvent être sélectivement ciblées (40).

La caractérisation de multiples voies de signalisation majoritairement activées dans les CSC (chapitre3) permettra la découverte et la focalisation sur des cibles plus efficace pour les éliminer. Par exemple, dans le cancer du sein, la voie de signalisation JAK2/Stat3 est spécifiquement nécessaire pour la croissance des populations de CSC (41). En outre, de nouvelles stratégies sont développées afin de cibler les enzymes cytoprotectrices telles que l'aldéhyde déshydrogénase (ALDH) ou les pompes à efflux de médicaments telles que les transporteurs ABC (42).

Aussi, la possibilité d'utiliser des biopsies de patients ouvre le chemin vers l'évaluation de l'efficacité de différentes thérapies in-vitro, de prévoir les réponses de ces patients aux traitements et même de désigner des stratégies thérapeutiques personnalisées (43). De plus, lorsque ces biopsies sont testées sur des modèles métastatiques de souris en combinaison avec des gènes rapporteurs et des techniques d'imagerie, une meilleure évaluation des stratégies thérapeutiques s'offre aux spécialistes suite d'une meilleure compréhension de la biologie des processus activés dans ces tumeurs (44).

Par ailleurs, certaines thérapies étaient initialement conçues pour prévenir la croissance et la dissémination tumorale à travers l'utilisation des inhibiteurs de l'angiogenèse ainsi que les inhibiteurs de la poly (ADP-ribose) polymérase-1 (PARP-1). Ces derniers ont été utilisés seuls ou en combinaisons avec la chimiothérapie et la radiothérapie. Par la suite, les chercheurs ont découvert qu'ils pouvaient promouvoir l'EMT suite à la régulation de la voie de signalisation TGF- β via PARP-1(45).

Cependant, une étude suivante a suggéré que PARP-1 peut jouer un rôle dans la stabilisation de la protéine Snail, suggérant à nouveau l'intérêt de son inhibition dans les traitements anticancéreux. D'après ces résultats, il est évident que l'ensemble de molécules qui exercent de multiples rôles dans les mêmes voies de signalisation et dont l'expression est contexte cellulaire-dépendante ne doivent pas être visé comme une cible des traitements anti-cancéreux. Par conséquent, des efforts ont été consacrés dans le but de la conception de thérapies spécifiques pour cibler à la fois l'EMT et les cellules souches cancéreuses (46).

En ce qui concerne l'EMT, la stratégie privilégiée a été le ciblage des voies de récepteurs à Tyrosine Kinase (EGFR, ErbB, PDGFR, etc) par l'utilisation des antagonistes des récepteurs ou des inhibiteurs sous forme d'anticorps ou de petites molécules (47).

Une autre cible d'inhibition est la voie de signalisation TGF- β ; via l'utilisation des mêmes stratégies ou encore à travers des anticorps neutralisants contre le TGF- β étaient en essai clinique de phase 1 (47).

Un autre point assez important, lorsque la cible est les voies de signalisation pléiotropiques ou bien qui jouent des rôles à la fois bénéfiques et néfastes comme la TGF- β ou l'hypoxie. À ce niveau, le ciblage des facteurs de transcription qui déclenchent le processus de l'EMT pourrait être avantageux, principalement parce qu'ils sont très faiblement exprimés voire non-exprimés dans les tissus adultes normaux. Cependant, les facteurs de transcription sont difficiles à cibler avec les approches classiques.

Les microARN et les ARN interférents sont faciles à concevoir et offriront une bonne spécificité. Malgré l'instabilité de ces ARNs, plusieurs études ont démontré une inhibition de la tumorigenèse et des métastases dans des modèles de souris en administrant des miRNAs et des siRNA-aptamer. (48- 49-50).

En termes de plasticité, concernant les thérapies ciblant des CSC ; l'EMT et les CSC représentent une limitation qui pourrait survenir. Ceci provient après une découverte qui a démontré que les cellules épithéliales mammaires normales et transformées peuvent être converties en cellules souches et en cellules souches cancéreuses respectivement (51). Ainsi, la possibilité de la génération de nouvelles cellules souches est possible malgré l'éventuelle inhibition des cellules souches préexistantes.

Par ailleurs, bien que l'EMT soit cruciale pour la dissémination de la tumeur et l'échappement aux mécanismes de sauvegarde cellulaires, les cellules tumorales reviennent au phénotype épithélial via le processus de la MET (Mesenchymal-epithelial transition) afin de former des métastases et de coloniser des nouveaux sites distants. Ce qui a rendu, les stratégies de ciblage uniquement des CSC ne peuvent pas être efficaces pour le traitement.

Dans le cancer, l'EMT est un événement transitoire, indiquant que l'invasion et les métastases sont deux processus indépendants qui impliquent probablement différents réseaux de gènes. Par conséquent, les stratégies ciblant l'EMT peuvent être efficaces pour le traitement des tumeurs primaires tout en étant, cependant, préjudiciables quant à la prévention des métastases. Néanmoins, les thérapies combinées ainsi que le progrès au niveau de la dissection des mécanismes de la plasticité cellulaire et l'interaction des cellules tumorales avec la niche métastatique seront cruciales pour concevoir des traitements plus efficaces.

1.1 La chimiothérapie

La chimiothérapie fait appel à des médicaments qui visent à la destruction des cellules cancéreuses déjà présentes dans l'organisme et à les empêcher de se multiplier, ainsi elle tente d'inhiber la croissance de la maladie et d'obtenir une régression de la tumeur cancéreuse qui peut se traduire par une rémission partielle de quelques mois à plusieurs années. Maintenant, plus du tiers des personnes atteintes de cancer peuvent bénéficier d'une rémission complète et d'une guérison éventuelle de leur maladie (52).

Le cancer du sein comme d'autres cancers que l'on croyait incurables, répondent très bien au traitement par chimiothérapie, surtout s'il est administré tôt dans le processus de la maladie (52).

Dans le traitement du cancer, la chimiothérapie peut correspondre à différents objectifs :

- Dans la plupart des cas de cancer local avancé ou de cancer avec des métastases disséminées dans l'organisme, la chimiothérapie est dite palliative, parce qu'elle freine la progression de la maladie et en atténue les effets sans toutefois réussir à éliminer complètement la maladie.
- Dans le cas de la chimiothérapie adjuvante, elle est associée à la chirurgie ou à la radiothérapie afin d'aider à la guérison des personnes malades. Dans ce contexte, c'est la thérapie multidisciplinaire, qui veut dire un traitement local combiné à un traitement systémique. La chimiothérapie adjuvante permet l'amélioration des chances de survie obtenues par la chirurgie ou par la radiothérapie seule (53).

La réactivation aberrante de l'EMT favorise l'initiation tumorale et promeut la dissémination métastatique. La présence de marqueurs de l'EMT chez un patient est un indicateur de mauvais pronostic. De plus, à travers de récentes données une forte corrélation entre la plasticité octroyée cette EMT et l'acquisition de propriétés de chimiorésistance est prouvée (37).

En fait, une activation des voies de signalisation impliquées dans l'EMT ou l'induction aberrante de facteurs de transcription embryonnaires situés en aval octroient aux cellules une chimiorésistance accrue. Contrairement, leur inhibition permet une restauration de la sensibilité envers différentes drogues.

Malgré l'établissement de la forte corrélation entre l'EMT comme un contributeur de l'acquisition de ces mécanismes de résistance et la résistance aux médicaments, une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires sous-jacents reste nécessaire grâce à diverses stratégies susceptibles de surmonter ces effets (37).

1.1.1 L'EMT et la chimiorésistance

Afin de comprendre les mécanismes de chimiorésistance, de gros efforts ont été faits ces dernières années. Parmi les approches utilisées a été l'établissement des profils d'expression génique à partir d'un pool de lignées tumorales issues de divers tissus. Ces profils étaient corrélés à la sensibilité aux drogues couramment utilisées pour traiter les tumeurs associées à

ces lignées. L'analyse de profils provenant de cancers du sein, en particulier, a ainsi permis de corréler la chimiorésistance des tumeurs à une signature génique contenant de nombreux marqueurs d'EMT (54).

À partir de là, il était valide d'envisager l'EMT comme un mécanisme moléculaire et cellulaire qui favorise l'acquisition d'un phénotype de résistance, en particulier, aux niveaux physiologique et pathologique, aussi, il a été démontré que différents facteurs de transcription embryonnaires induisant une transition épithélio-mésenchymateuse (FT-TEM) sont capables de neutraliser les systèmes de sauvegarde cellulaire.

Ils apparaissent comme des régulateurs majeurs des voies oncosuppressives dépendantes des protéines p53 et pRb (la protéine du rétinoblastome), par la favorisation d'un effet tant sur leur activation et leur stabilisation que sur leur activité transcriptionnelle. Même, ils étaient capables d'activer des voies de survie NF- κ B (Nuclear factor-kappa B) et AKT et de moduler l'expression ou l'activité des membres de la famille Bcl-2 en faveur des protéines antiapoptotiques (55).

Comme les FT-TEM sont impliqués dans la résistance à diverses classes de molécules génotoxiques dites molécules classiques telles que les anthracyclines, les poisons du fuseau mitotique ou encore les dérivés du platine de nouvelles classes de médicaments, telles que les inhibiteurs de tyrosine kinases, ciblant spécifiquement certaines voies moléculaires impliqués dans la progression tumorale, ont été développées. Cependant, très rapidement, plusieurs travaux ont mis en exergue l'apparition de résistances imputables à l'EMT (56).

L'expression des FT-TEM et l'engagement des cellules dans un programme d'EMT ont été recherchés dans divers cas de chimiorésistance. Ainsi, l'EMT semble impliquée dans la résistance en grande partie aux molécules thérapeutiques classiquement utilisées. Ces phénomènes de résistance sont retrouvés dans des organes et tissus variés tels que le sein et ne se limitent pas à un tissu donné (57-58).

Un nouvel horizon d'investigation est ouvert avec l'implication des micro-ARN dans la régulation de l'EMT (miR-200) et de l'oncogenèse de manière générale.

Plusieurs études ont détecté une perte d'expression de ces divers micro-ARN après un traitement par des molécules telles que les taxanes, le 5-FU (le 5-fluorouracil) et le cyclophosphamide sur des lignées tumorales mais aussi des échantillons tumoraux de patients (57-58). Ces détections ont démontré non seulement l'implication des micro-ARN (Chapitre 3)

dans l'induction d'une TEM mais aussi leur implication dans une probable baisse, ou encore une perte, de sensibilité des tumeurs à plusieurs molécules thérapeutiques.

En effet, les cellules humaines possèdent des protéines transmembranaires capables d'éluier différents substrats endogènes (protéines, ions, toxines, etc.). Au-delà de leur rôle primordial dans la physiologie humaine, un bon nombre de ces transporteurs (de la famille ABC) se trouvent être surexprimés par les cellules tumorales et sont corrélés à une plus grande probabilité d'échec du traitement (59). En réponse au traitement l'expression de ces transporteurs est augmentée, suggérant un mécanisme hautement adaptatif (60). Par conséquent c'est logique que plusieurs laboratoires se sont tournés vers l'étude d'une possible induction de l'expression de ces transporteurs au cours de l'EMT. Leurs résultats démontrent que l'induction d'une EMT conduit à un gain d'expression de divers transporteurs de la famille ABC (61). L'inhibition de ces facteurs, au niveau endogène, par interférence d'ARN dans des lignées tumorales mésenchymateuses, conduit non seulement à une réversion de l'EMT mais aussi à une baisse significative de l'expression des pompes à efflux, s'accompagnant d'un gain important en termes de chimiosensibilité.



Figure 8 : Les facteurs conduisant vers le phénomène de la chimiorésistance (37).

Figure 1 : Généralement les mécanismes conduisant vers une chimiorésistance sont multifactoriels, ils résultent de l'activité intrinsèque des facteurs de transcription embryonnaires et/ou de la reprogrammation génique associée. Les cellules engageant en EMT sont associées à une augmentation de la prévalence des résistances aux traitements classiques en oncologie.

1.1.2 Les stratégies ciblant l'EMT

D'après de nombreuses études concernant l'intervention de l'EMT notamment dans la résistance à la chimiothérapie, il semble possible de concevoir et d'évaluer des stratégies thérapeutiques ciblant cette EMT via différentes approches, soit pour inhiber son potentiel transformant ou encore pour limiter ses répercussions en termes de chimiorésistance (37).

Un des premiers axes de recherche a été la focalisation sur le ciblage des voies de signalisation qui régulent l'EMT, Ces voies sont très fortement interconnectées, ce qui peut présenter à la fois de nombreux avantages et tout autant d'inconvénients. Cette connectivité pourrait idéalement fournir une cible commune autorisant d'enrayer, ou tout au moins de perturber, toute la cascade de régulation de l'EMT. Cependant, un processus d'échappement idéal est présenté par l'abondance des intercommunications entre ces voies. De plus, dans divers cas de cancer ces voies sont fréquemment mutées à travers le masquage du site visé ou un taux d'expression aberrant de la cible peut, en conséquence, considérablement réduire l'efficacité de la drogue (37).

Ces voies sont visées par de nombreuses molécules qui sont déjà sur le marché à titre d'exemple (erlotinib, trastuzumab, rapamycine, ...etc.). Certaines d'entre elles présentaient des résistances majeures. Cependant, certains laboratoires tentaient de cibler les voies inductrices d'EMT via de multiples approches, dont certaines étaient en cours d'évaluation clinique (62). Une stratégie alternative consisterait à l'inactivation des FT-TEM et, par ce biais, l'EMT associée (voir figure 2A). Dans la majorité des tissus sains, l'absence d'expression des FT-TEM pourrait limiter la toxicité de telles approches a priori. En particulier, leur neutralisation pourrait permettre de restaurer les mécanismes de sauvegarde que sont la sénescence et l'apoptose (63- 64).

L'objectif des approches visant à restaurer ces mécanismes a été validé sur des modèles murins dans lesquels la régulation à souhait de l'expression de la protéine oncosuppressive p53 est possible (65). Par exemple, comme le gène TWIST1 est spécifiquement et invariablement associé à l'amplification du gène N-MYC, aussi, l'extinction de l'expression de TWIST1 in vitro induit la mort par apoptose des cellules, un modèle adéquat pour l'évaluation de ce type de stratégies ciblées pourrait se représenter grâce au neuroblastome (66).

L'expression du gène ZEB1 est inhibé par interférence d'ARN permet également de restaurer un mécanisme de sénescence, de revenir à un phénotype épithélial et de réinstaurer une certaine sensibilité aux molécules thérapeutiques classiques (67). Également, in vivo une diminution de la prise tumorale et de la dissémination métastatique est entraînée à travers la coadministration de paclitaxel et l'extinction du gène TWIST1 (68) (voir figure 3).

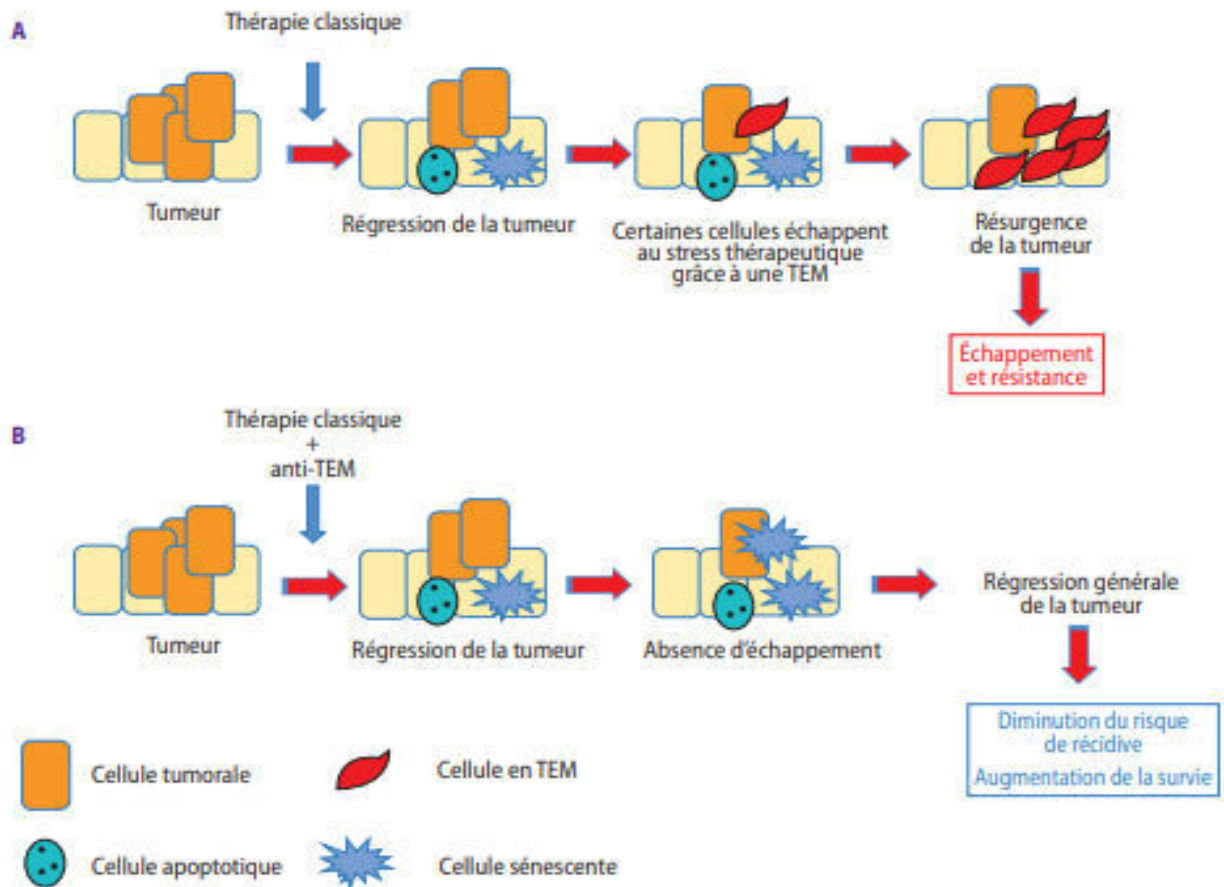


Figure 9 : La différence d'effet entre la thérapie classique standard et celle combinée (37).

(Figure 3) A. Après une administration d'un traitement anticancéreux classique, une régression tumorale est aboutie à travers l'induction de la mort des cellules par apoptose ou par leur entrée en sénescence. Néanmoins, la pression de sélection subie par ces cellules peut aboutir dans certains cas à l'induction d'une EMT, permettant aux cellules d'échapper au traitement, en engendrant les problèmes de récurrence.

B. Théoriquement, l'émergence d'une population résistante devrait être évitée suite à la combinaison d'une thérapie classique à une molécule ciblant l'EMT. Cette stratégie combinée devrait être plus efficace en permettant une régression globale de la tumeur.

Au-delà de la difficulté de cibler des protéines nucléaires, la redondance et l'inter-régulation des facteurs de transcription embryonnaires sont une nouvelle fois susceptibles de déjouer certaines stratégies.

Par ailleurs, dans certains cas, l'inhibition de ces facteurs pourrait avoir un effet inverse de celui escompté en favorisant la colonisation des sites secondaires via la réversion vers un phénotype épithélial (69-70). D'autres approches ont été orientées vers la vision de l'inhibition de

l'engagement des cellules dans le programme d'EMT ou à les éradiquer, une reprogrammation génique est complète associé à ce changement phénotypique, impliquant divers mécanismes épigénétiques, dont des restructurations de la chromatine (Figure 2B).

Le traitement de cellules en EMT par un inhibiteur d'histones désacétylases permet la restauration de l'expression de l'E-cadhérine et de la sensibilité au gefitinib (56). Néanmoins, cette stratégie reste à valider dans d'autres modèles expérimentaux. Des expériences de criblage à haut débit visant à identifier des molécules susceptibles d'éliminer préférentiellement les cellules mésenchymateuses ont débouché sur l'identification de la salinomycine, validée depuis sur divers modèles expérimentaux (Figure 2C) (71-72). Des effets collatéraux sur les cellules épithéliales adjacentes conduisant une nouvelle fois à l'émergence de cellules résistantes liée à l'expression des facteurs de transcription embryonnaires et à l'activation de la voie AKT, ont été Les premières analyses révélées (73). D'autres recherches à valider ont été pour identifier des récepteurs ou antigènes permettant un ciblage spécifique des cellules mésenchymateuses.

Puisque, la plasticité cellulaire conférée par l'EMT contribue à la transformation cellulaire, et aussi la probabilité de l'intérêt de limiter cette plasticité en forçant les cellules à s'engager dans un mécanisme de différenciation. Cette approche est utilisée avec succès dans le traitement des différents types de leucémie, où elle permet de différencier les précurseurs leucocytaires afin de potentialiser l'effet des protocoles thérapeutiques classiques. Par ailleurs, le traitement de cellules embryonnaires mises en culture en présence d'acide rétinoïque diminue la proportion de cellules mésenchymateuses, ce qui vient étayer cette hypothèse (74). À la suite de ces observations, le traitement par des agents différenciants des cellules tumorales ayant subi une EMT, puis, l'étude de leur potentiel de transformation serait intéressant. (Figure 2D).

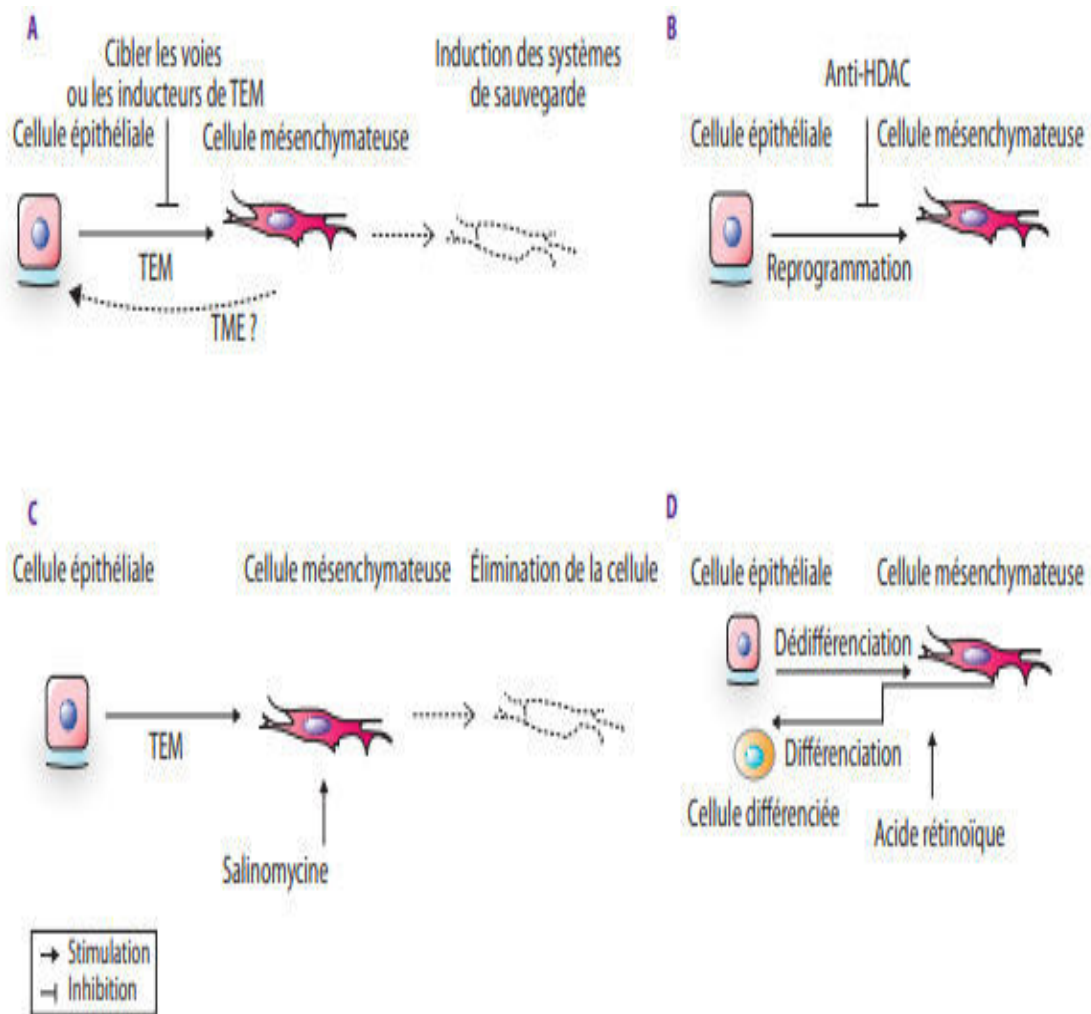


Figure 10 : Récapitulation des stratégies ciblant le processus de la TEM (37).

A. Le Ciblage des voies de signalisation de l’EMT et les inducteurs associés, peut conduire à l’activation de ces inducteurs ou à leur inactivation qui pourrait, en suite, empêcher l’engagement des cellules dans le processus d’EMT et/ou réactiver les systèmes de sauvegarde cellulaires.

B. L’inhibition de la reprogrammation génétique à travers l’utilisation des anti-histones désacétylases (anti-HDAC) pourrait, en conséquent, d’inhiber le remodelage de la chromatine nécessaire à la reprogrammation des cellules.

C. L’élimination spécifique des cellules en EMT, par l’identification des récepteurs et des antigènes exprimés à la surface des cellules mésenchymateuses de façon spécifique, munir de indispensables outils à la conception de vecteurs (liposomes, nanoparticules) capables d’acheminer des molécules thérapeutiques (la salinomycine, par exemple) pouvant éradiquer les cellules en TEM.

D. La favorisation de la différenciation en administrant des agents différenciants (comme l'acide rétinoïque) pourrait forcer les cellules à s'engager dans un mécanisme de différenciation et limiter leur plasticité et, donc, leur adaptabilité.

1.2. La radiothérapie

Est l'une des principales options thérapeutiques utilisées dans le traitement des cancers solides, notamment, dans le cancer du sein. Généralement, elle est appliquée après la chirurgie pour diminuer le risque de récurrence locale, mais aussi pour détruire d'éventuelles cellules tumorales résiduelles. D'ailleurs, en cas de traitement conservateur, la radiothérapie post-opératoire est obligatoire. Cette méthode se classe comme un traitement loco-régional utilisant les rayons à haute dose énergétique pour empêcher les cellules tumorales de se multiplier et à les détruire.

La dose d'irradiation est définie par la quantité de rayons émis, à rapporter à la durée de leur administration, par conséquent, une dose donnée est d'autant plus active qu'elle est concentrée sur une faible durée. La plupart des irradiations sont fractionnées en courtes séances quotidiennes pour plusieurs semaines pour permettre aux tissus normaux de se réparer entre deux séances, ce qu'ils font mieux que les tissus cancéreux (75). Il se distingue deux types de radiothérapie :

- La radiothérapie externe : vise à détruire les cellules à travers la peau dans le volume tumoral à irradier. Cette méthode est la plus courante à travers un accélérateur linéaire générateur.
- La curiethérapie : s'appuie sur l'utilisation des sources radioactives placées dans la tumeur et à son voisinage pour des tumeurs accessibles et de petit volume.

L'ensemble de ces techniques nécessitent des mesures préalables concernant le champ d'irradiation. Néanmoins, Pour plus d'efficacité sur les tissus cancéreux, le pris en considération des tissus sains avoisinants est demandé (76).

1.2.1. La Radiorésistance et les CSC

De multiples études ont démontré la radiorésistance des CSC (77-78). En particulier, la radiorésistance des CSC dans le cancer du sein a été démontré, en premier lieu. Ils ont ainsi montré que les cellules cultivées en mammosphères résistent mieux aux rayonnements ionisants que les cellules cultivées en monocouche. La fraction de cellules survivant est enrichie en CSC

CD44+ /CD24-/low, ALDH+ (side population) et cellules avec faible activité du protéasome (77-79-80).

Des espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont induites par les rayonnements ionisants, ces (ROS) sont responsables des lésions dans la cellule au niveau des acides nucléiques, des protéines et des lipides. L'irradiation au niveau de l'ADN provoque des dommages tels que des cassures simple et double-brin, par conséquent, une réponse aux ces dommages est établie à travers la protéine P53 qui est activée par les kinases ATM/ATR, recrutées au niveau des sites endommagés de l'ADN, ainsi que par les kinases Chk1 et Chk2. Après son activation, la p53 induit un arrêt du cycle cellulaire, la réparation de l'ADN ou encore la sénescence et l'apoptose de la cellule (81-82).

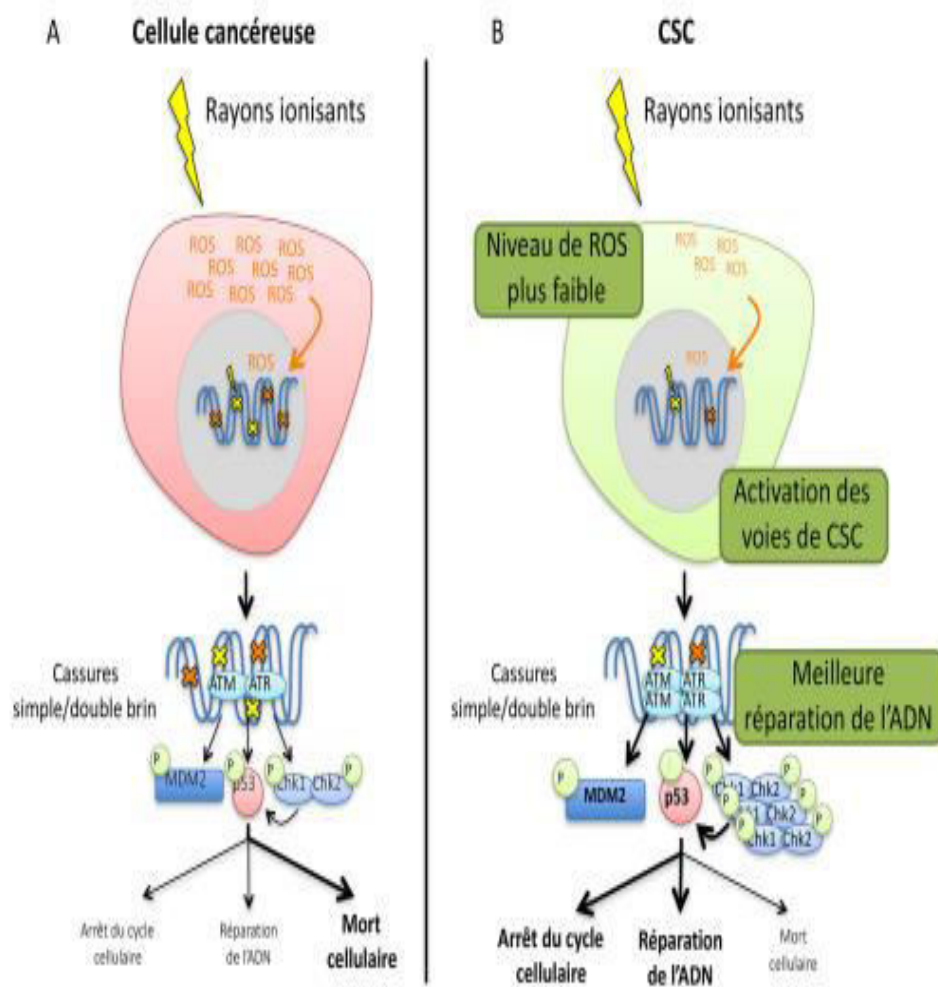


Figure 11 : Mécanisme de réponse des CSC à la radiothérapie et leur radiorésistance (38).

(Figure 03) Concernant le mécanisme de réponse à la radiothérapie et radiorésistance des CSC :

A. Représente la réponse des cellules cancéreuses à la radiothérapie ; les rayons ionisants induisent la production de ROS qui entraînent des cassures simple- et double-brin à l'ADN. Ces cassures sont responsables de l'activation des kinases ATM/ATR, ces dernier active les effecteurs dont p53 et Chk1/Chk2. La phosphorylation de MDM2 empêche sa liaison à p53, ainsi sa dégradation est inhibée. La p53 est aussi activé suite à la phosphorylation de Chk1/Chk2. Par conséquent, la cellule est orientée vers un arrêt du cycle, une réparation de l'ADN ou encore la mort cellulaire.

B. Représente la réponse à la radiothérapie dans les CSC et les mécanismes de radiorésistance ; Suite à l'irradiation, les CSC vont produire moins de ROS que les non-CSC, entraînant ainsi moins de dommages à l'ADN dus à ces derniers. Des voies de signalisation propres aux CSC (Wnt, Notch) sont activées préférentiellement dans les CSC. Enfin, il semblerait que les CSC soient capables de meilleures réparations de l'ADN

Ainsi, seules deux études montrent l'existence de certaines tumeurs ou lignées de cancer du sein pour lesquelles les CSC sont plus radiosensibles que les non-CSC et peuvent donc être éradiquées suite un traitement de radiothérapie (83-84).

Dans un premier temps, il est apparu que les CSC mammaires présentaient de meilleures défenses face au stress oxydatif, avec une production moins importante de ROS par les rayons ionisants (80). Cette radiorésistance des CSC est observée à la fois in vitro et in vivo, après l'effectuation d'une analyse ciblée des voies d'oxydoréduction par qRT-PCR multiplexée sur cellules uniques sur système microfluidique 96.96 Dynamic Array™ IFC for Gene Expression (Fluidigm®). Ils ont ainsi identifié que plusieurs gènes impliqués dans la biosynthèse du GSH (le glutathion) étaient surexprimés dans les CSC.

Par la suite, l'implication du glutathion par une déplétion des CSC en GSH a été validé, ce qui a entraîné une radiosensibilisation des cellules (80). Par ailleurs, ils ont pu montrer que la radiorésistance des CSC est directement corrélée avec l'expression de protéines scavenger telles que les thiorédoxines membranaires et les SOD (85) Ainsi, une inhibition combinée du métabolisme de GSH et des thiorédoxines avant irradiation augmente la survie globale des souris et s'accompagne d'une réduction du taux de CSC (86).

L'analyse des dommages à l'ADN et les mécanismes de réparation ont permis de mettre en évidence que la plus faible production de ROS dans les CSC engendrait moins de foyers γ H2AX (famille des histones H2A, membre X) (78-87-88), et donc moins de cassures et une meilleure réparation.

Après une exposition des CSC aux rayons ionisants, un arrêt marqué du cycle cellulaire en G2-S mit en place (jusqu'à 60 % de la population de CSC), avec une diminution de la cycline D et E (79-89) et une augmentation de la phosphorylation de CDC25c (90). Cet arrêt s'accompagne d'une augmentation de l'expression et/ou de la phosphorylation de Chk1 (91-92-93). De manière intéressante, l'inhibition de l'expression de Chk1 par ARNsi sensibilise les CSC à la radiothérapie en les conduisant vers une quiescence ou un arrêt du cycle en G2.

Par ailleurs, ils ont observé également qu'une diminution des foci γ H2AX, mais plus intéressant, une augmentation des foci RAD51, signe d'une activation plus importante des mécanismes de réparation par recombinaison homologue (homologous recombination repair pathway [HR]) (89).

Également, il a été observé une augmentation très importante de l'expression de la protéine DNA-PK (La protéine kinase dépendante de l'ADN) dans les mammosphères générées à partir des lignées MCF7 et T47D. Une inhibition par la doxycycline de l'expression de DNA-PK induit une diminution de la capacité oxydative mitochondriale et une diminution de l'activité glycolytique. Cette inhibition provoque une réduction de l'expression de NRF1/2 (Nuclear respiratory factor 1) et de ses cibles : les voies de signalisation Notch, Shh, Wnt, TGF β et Stat1/3 ; ce qui a pour conséquence une réduction de la capacité des cellules à former des sphères ainsi qu'une radiosensibilisation.

Également, le traitement par la radiothérapie résulte l'augmentation des voies de survie à travers l'induction de l'activation de nombreuses voies de signalisation, dont les voies canoniques impliquées dans le maintien du phénotype souche. Ainsi, il a été montré que l'expression de Jagged1 était augmentée, après irradiation fractionnée, en même temps que l'activation de son récepteur Notch1 (localisation nucléaire de Notch-ICD) (78). Aussi, il a été observé une augmentation de l'activité de la voie de signalisation Notch (94).

Dans la résistance des CSC à la radiothérapie, d'autres voies sont aussi impliquées dans le maintien du phénotype souche. Ainsi, l'activation de Wnt permet l'activation de la β -caténine, cependant, leurs inhibitions provoquent la radiosensibilisation des CSC (95).

Enfin, l'inhibition de mTOR (mammalian target of rapamycin) induit une augmentation de MnSOD (Manganese superoxide dismutase), ce qui a pour conséquence la diminution de la production de ROS. L'absence de ROS empêche l'activation de divisions symétriques et prévient ainsi l'enrichissement en CSC (96). A contrario, la metformine, utilisée en routine pour le traitement contre le diabète, active l'AMPK (AMP-activated protein kinase) qui inhibe à son tour mTOR. Dans ces conditions, l'expression des effecteurs sous-jacents (S6K1 et 4EBP1) essentiels à la survie des cellules est également diminuée, induisant une radiosensibilité des CSC (97).

L'organisation hiérarchique des tissus tumoraux où plusieurs sous-populations de cellules souches de cancer du sein (BCSC) sont capables de s'auto-renouveler et de maintenir l'architecture oligoclonale de la tumeur. Ainsi, il a été montré que cette sous-population même dans une lignée n'exprimant pas HER2, elle exprime le HER2 (98). Cette population de BCSC HER+ /CD44+ /CD24-/low est plus agressive que celle composée par les BCSC HER- /CD44+ /CD24-/low, avec une augmentation du pouvoir invasif, de la capacité à former des sphères, de la tumorigénicité et de la radiorésistance. Cependant, la radiosensibilisation de cette population est possible à travers le ciblage de l'inhibition de HER (38).

L'acquisition d'un caractère mésenchymateux dans le cancer du sein est associée à un sous-type plus agressif et plus invasif et à un enrichissement en BCSC (42). Sous l'influence de divers facteurs tels que les radiations ionisantes, la capacité de reprogrammation de non-CSC en CSC a été démontrée. C'est la reprogrammation radio-induite.

Dans le cancer du sein, des traitements aux radiations ionisantes sur des populations cellulaires purgées en BCSC induisent l'apparition de BCSC induites (iCSC) (99). Des échantillons de tumeurs mammaires de patientes, et de lignées cancéreuses mammaires telles que les SUM159PT ou les MCF-7 purgées en BCSC à l'aide de plusieurs marqueurs, régénèrent des cellules ALDH+, des cellules CD24- /CD44+, rapporteur de l'activité du protéasome.

De plus, les non-CSC irradiées présentent une capacité accrue à former des sphères et forment plus de tumeurs in vivo.

Par conséquent, la radiorésistance des BCSC (sous-populations de cellules souches de cancer du sein), se traduit par un enrichissement en BCSC après irradiation. Plusieurs équipes se sont interrogées sur l'origine de cet enrichissement. Il a ainsi été montré que les BCSC survivantes étaient recrutées dans une phase active du cycle cellulaire afin de repeupler la tumeur.

L'induction de BCSC est diminuée par l'inhibition de la voie de signalisation Notch(43). Ces observations de reprogrammation ont également été identifiées après traitement de chimiothérapie d'inhibiteur de HDAC avec une activation de la voie Wnt. Plus tard ils ont étudié l'implication de cellules présénescentes dans le phénomène d'enrichissement en BCSC après irradiation dans le cancer du sein (100). En effet, la radiothérapie entraîne une augmentation des cellules sénescentes.

1.2.2 L'inhibition de la radiorésistance des CSC

La croissance tumorale dans le cancer du sein est diminuée à travers l'inhibition de l'enrichissement en CSC et de la reprogrammation de CSC radio-induites (101). Dans ce contexte, ils ont utilisé le disulfirame (DSF), un inhibiteur des ALDH, couplé à un traitement au cuivre (Cu²⁺), ce qui résulte la perte des BCSC préexistantes et induites, après irradiation (38).

Dans ce contexte, l'utilisation du disulfirame (DSF), un dérivé du thiurame a été mis en place. De plus, au cours de la dernière décennie, plusieurs preuves indiquent que le DSF possède un grand potentiel pour le traitement des cancers humains (102), suite à la démonstration de son activité anticancéreuse dans des systèmes modèles à la fois in vitro et in vivo, aussi il a été testé dans des essais cliniques humains pour divers types de cancer (102), notamment dans le cancer du sein (38).

Il est également évident que, le DSF peut sensibiliser les cellules tumorales à la radiothérapie et augmenter la cytotoxicité des médicaments anticancéreux, ainsi le DSF peut servir de thérapie adjuvante (102). L'action anticancéreuse du DSF se base sur sa capacité à éliminer les CSC en ciblant l'aldéhyde déshydrogénase (ALDH), qui les marque, et à inhiber l'activité du protéasome dans les cellules cancéreuses par la formation des complexes avec des ions métalliques (102).

Le DSF module les voies de signalisation cellulaire et cible les mécanismes épigénétiques afin de ralentir la progression tumorale. Il induit également l'apoptose, inhibe la prolifération des cellules cancéreuses et supprime les métastases des cellules cancéreuses.

Étant donné que la pharmacocinétique du DSF est bien établie et qu'un profil d'innocuité a été enregistré, ce composé est un « ancien » médicament attrayant qui a un grand potentiel de développement rapide en un nouveau traitement anticancéreux (102).

D'après cette étude, l'utilisation du DSF chez l'homme est autorisée suite à la fourniture des preuves de ses activités anticancéreuses, des mécanismes moléculaires de son action qui ont été illustrés par de multiples études et aussi son potentiel de réutilisation en tant que nouveau médicament chimiothérapeutique dans un proche avenir (102).

Également, le DSF inhibe le protéasome, ce qui conduit à une inhibition normalement activée de NF- κ B après irradiation et responsable de l'expression de certains gènes associés au maintien des cellules souches normales et cancéreuses. D'autre part, et *in vivo*, l'utilisation combinée du DSF et de la radiothérapie permet la suppression de la croissance tumorale, associée à une diminution de l'expression de gènes de pluripotence et de la capacité à former des sphères (101).

En outre, l'utilisation des alltrans acide rétinoïque (ATRA) ou du DEAB (N,N-diéthylaminobenzaldéhyde) pour inhiber directement les ALDH induit une différenciation des cellules (perte de l'expression des marqueurs de CSC) et une diminution de l'agressivité (réduction de l'invasion/migration) (91-103). Mais, de manière plus intéressante, la population traitée est sensibilisée à la chimiothérapie et à la radiothérapie.

De même, le ciblage des cellules exprimant CD44 est possible, à travers une inhibition génique (ARNsh) (104) ou encore à travers des composants naturels tels que le phloroglucinol qui provoque une inhibition de la voie de signalisation KRAS/ PI3K/Akt et KRAS/RAF-1/ERK (105). Cette inhibition fait réduire l'expression des marqueurs de CSC Notch2 et la β -caténine, et a par conséquent, une sensibilisation à la fois à la chimiothérapie et à radiothérapie. De même, l'inhibition d'Akt (96), de l'EGFR (traitement combiné erlotinib et simvastatine ou de Src/p38/PKB (106) prévient l'enrichissement en CSC par radiothérapie.

D'autres traitements ciblant spécifiquement les CSC de cancer du sein se sont révélés efficaces pour radiosensibiliser les CSC. Ainsi, un cotraitement de vitamine D et de calcitriol agit sur la réduction de la capacité des cellules à former des sphères, de radiosensibiliser les CSC et de retarder la croissance tumorale dans un modèle de souris syngénique (MMTV-Wnt1) (107).

Aussi, une prise alimentaire de génistéine (faible dose nM) à long terme induit une augmentation de la mort cellulaire, une réduction de l'expression des marqueurs de CSC, ainsi qu'une diminution de la capacité à former des sphères (108).

Enfin, dans le but de cibler les CSC de cancer du sein d'une manière spécifique ils ont utilisé des nanoparticules fonctionnalisées (109). Ces derniers ont été chargées de paclitaxel en

exposant à leur surface des agents ciblant CD44 tels que des anticorps anti-CD44 ou de l'acide hyaluronique (ligand de CD44).

Cette stratégie permet l'élimination des CSC en localisant une forte concentration de substance antitumorale et ainsi de radiosensibiliser la tumeur. Moins spécifique, l'utilisation de particules gold nanoshell, de billes de silicone recouvertes d'une couche ultrafine d'or, permet une hyperthermie localisée au niveau de la tumeur. Ces billes sont préférentiellement internalisées par les BCSC (110). Bien que l'hyperthermie (42 °C) temporelle (20 minutes à 1 heure) générée par photothermie puisse provoquer (110- 111) ou non (109) une diminution de taux de CSC, également, une baisse de l'expression d'ALDH et de KLF4, il a systématiquement été observé une radiosensibilisation tumorale (109-111).

Dernièrement, cette étude de synthèse pourrait aider à identifier les patients appropriés au divers traitement et à l'ouverture de nouveaux horizons dans laquelle la thérapie anti-EMT pourrait donner de meilleures réponses au traitement et améliorer la survie des patients.

Résultats (Synthèse) et discussion

Le facteur de transcription Snail a été le premier répresseur de transcription découvert de l'E-cadhérine, et est l'un des facteurs de transcription les plus importants impliqués dans l'EMT. Décrit pour la première fois chez la drosophile comme un répresseur de la transcription homologue de la E-cadhérine et contrôlant ainsi l'embryogenèse, le Snail s'est avéré plus tard qu'il joue un rôle fondamental lors de l'EMT dans les cellules de mammifères (112)

En plus de sa fonction de répression de la E-cadhérine, Snail régule également l'expression d'autres molécules épithéliales, notamment les claudines, les occludines et la mucine-1, et induit l'expression de gènes associés à un phénotype mésenchymateux et invasif (113).

Trois protéines de la famille des Snail ont été identifiées chez les vertébrés : Snail1, Snail2, et Snail3. Ils ont observé que le Snail était fortement exprimé dans les cellules épithéliales et endothéliales du cancer du sein invasif, mais qu'il était indétectable dans le sein normal (114). Il a également été lié au grade de la tumeur, aux métastases, à la récurrence et au mauvais pronostic (115). En outre, les protéines de la famille Snail s'associent avec d'autres facteurs de transcription pour orchestrer une régulation concertée de l'EMT.

Des recherches récentes montrent que l'expression de Twist est fortement corrélée dans les tumeurs du sein humain (116). Le Snail et le Twist coopèrent pour induire l'expression de ZEB1 pendant l'EMT (117). De plus, les résultats actuels montrent que les microARN (miARN) sont également des régulateurs principaux de l'EMT (118).

Les microARN sont de petits ARN monocaténares de 20 à 22 nucléotides, non codants, qui modulent l'expression des gènes au niveau post-transcriptionnel (119). Les miARN ont été impliqués dans la régulation de diverses voies cellulaires et sont couramment dérégulés dans les cancers humains. Plusieurs rapports suggèrent que certains miARN, tels que le miARN-200, ciblent directement les ARNm ZEB1 et ZEB2 en régulant négativement la E-cadhérine dans les lignées cellulaires cancéreuses, supprimant ainsi la motilité cellulaire (120).

L'EMT est ainsi initiée en réponse à des conditions de stress et des signaux issus du microenvironnement qui font intervenir les voies de signalisation Wnt, Hedgehog et Notch, et des voies empruntées par les cytokines et facteurs de croissance TGF β , EGF, FGF et HGF (121).

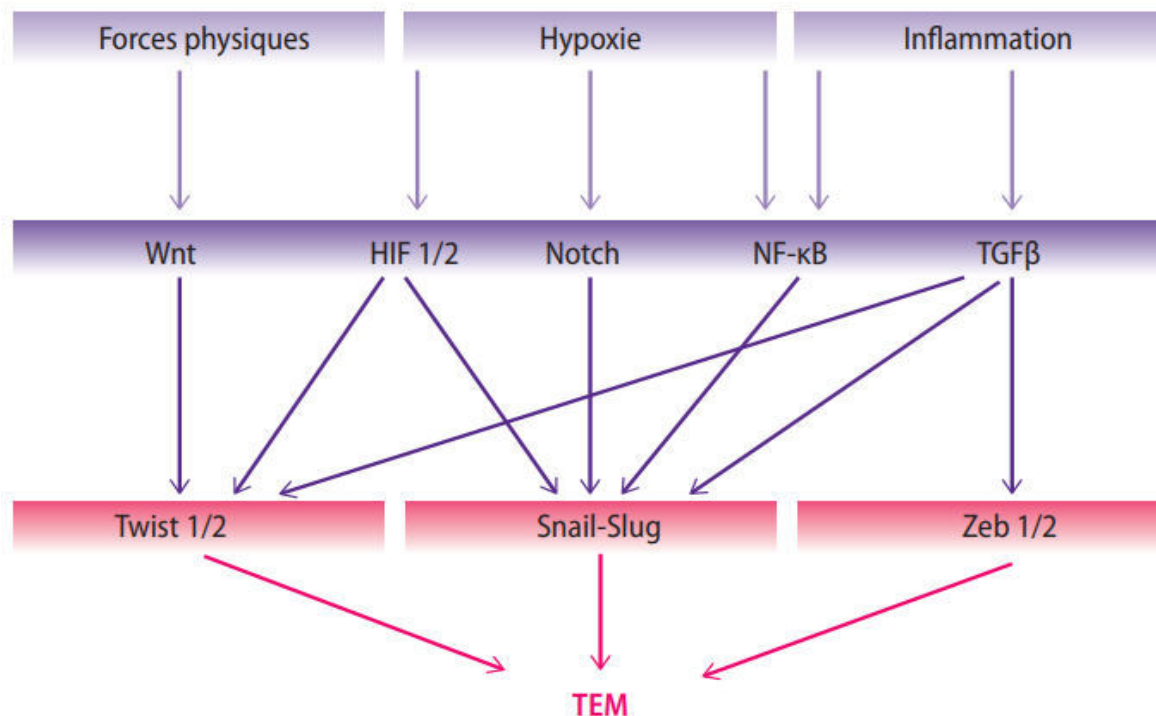


Figure 12 : Les facteurs de l'activation de l'EMT (122).

1. Rôle de TGF- β dans l'EMT

La signalisation TGF- β , impliquée comme un principal inducteur de l'EMT, joue un double rôle dans les cancers. Il supprime les premiers stades du développement des tumeurs en bloquant la prolifération et en induisant la mort cellulaire, mais elle peut ensuite contribuer à l'évolution maligne en favorisant l'invasion et la métastase (118).

La TGF- β est la première voie de signalisation décrite pour induire l'EMT, la voie de signalisation du TGF- β est activée lors de l'interaction avec les récepteurs de la sérine-thréonine kinase de type I et de type II liés au TGF- β (TGF- β RI et TGF- β ,RII) (123).

La liaison du ligand TGF- β RII active par phosphorylation directe la TGF β -RI induit l'activation des récepteurs Smad2 et Smad3 ses derniers vont former des complexes avec smad4 pour régler les facteurs de transcription responsable à l'EMT. La surexpression de Smad2 et Smad3 entraîne une augmentation de l'EMT, et la réduction des fonctions de Smad2 et Smad3 diminue le potentiel métastatique du sein. En outre, la signalisation du TGF- β peut se faire par des voies indépendantes de Smad, notamment l'activation de la phosphatidylinositol 3-kinase

(PI3K), la protéine MAPK et les petites GTPases de la famille Rho. Les deux voies dépendantes et indépendantes de Smad fonctionnent ensemble pour réguler la transcription des régulateurs principaux de l'EMT (123).

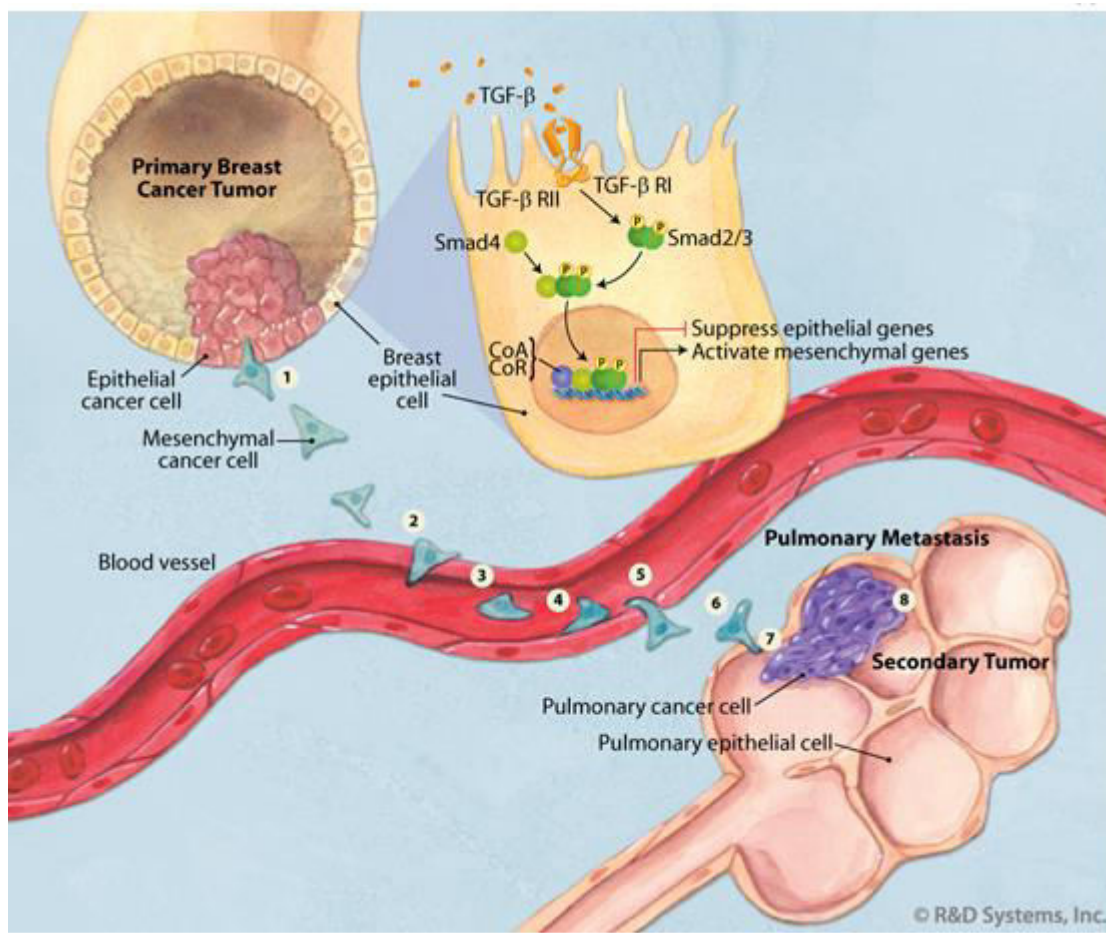


Figure 13 : Rôle du TGF- β dans les métastases (124).

Les cellules cancéreuses épithéliales du sein subissent une transition épithélio-mésenchymateuse pour acquérir un phénotype mésenchymateux

L'EMT induite par la TGF- β supprime les gènes épithéliaux et favorise l'expression des gènes mésenchymateuses.

Dans le cancer du sein, les cellules mésenchymateuses envahissent l'épithélium pulmonaire et prolifèrent sous forme de tumeurs secondaires.

Ce dernier nécessite une EMT, une intravasation des cellules mésenchymateuses, une migration à travers le système vasculaire, une adhérence, une extravasation, une invasion vers un autre tissu secondaire puis une transition mésenchymateuse vers l'épithélium et une prolifération distale.

Les microARN (miARN) sont les principaux régulateurs de l'expression des gènes dans le développement des glandes mammaires et le cancer du sein. Les résultats actuels montrent que certains miARN sont apparus comme de puissants régulateurs de l'EMT (26). L'expression de la famille miR-200 activé par la TGF- β augmente l'expression de la E-cadhérine dans les lignées de cellules cancéreuses en bloquant directement les ARNm ZEB1 et ZEB2, renforçant ainsi le phénotype épithélial, La perte de miR-200 est couramment observée dans les lignées cellulaires invasives de cancer du sein au phénotype mésenchymateux, ainsi la baisse de l'expression du miR-155 inhibe l'expression de l'EMT (123)

La miR-23a est régulée par la TGF- β 1 via les Smad, d'où sa sur-expression inhibe la E-cadherine en favorisant le déclenchement de l'EMT (125)

D'autre part, la présence de miR-335 a été associée à la suppression des métastases dans le cancer du sein humain. Une étude portant sur 20 tumeurs primaires du sein, montre que l'expression de miR-335 été inversement associée à la formation de lésions métastatiques. Les résultats suggèrent que miR-335 aide à réguler à la baisse les gènes métastatiques dans le cancer du sein, et la perte de miR-335 peut servir d'un indicateur de pronostique négatif (125).

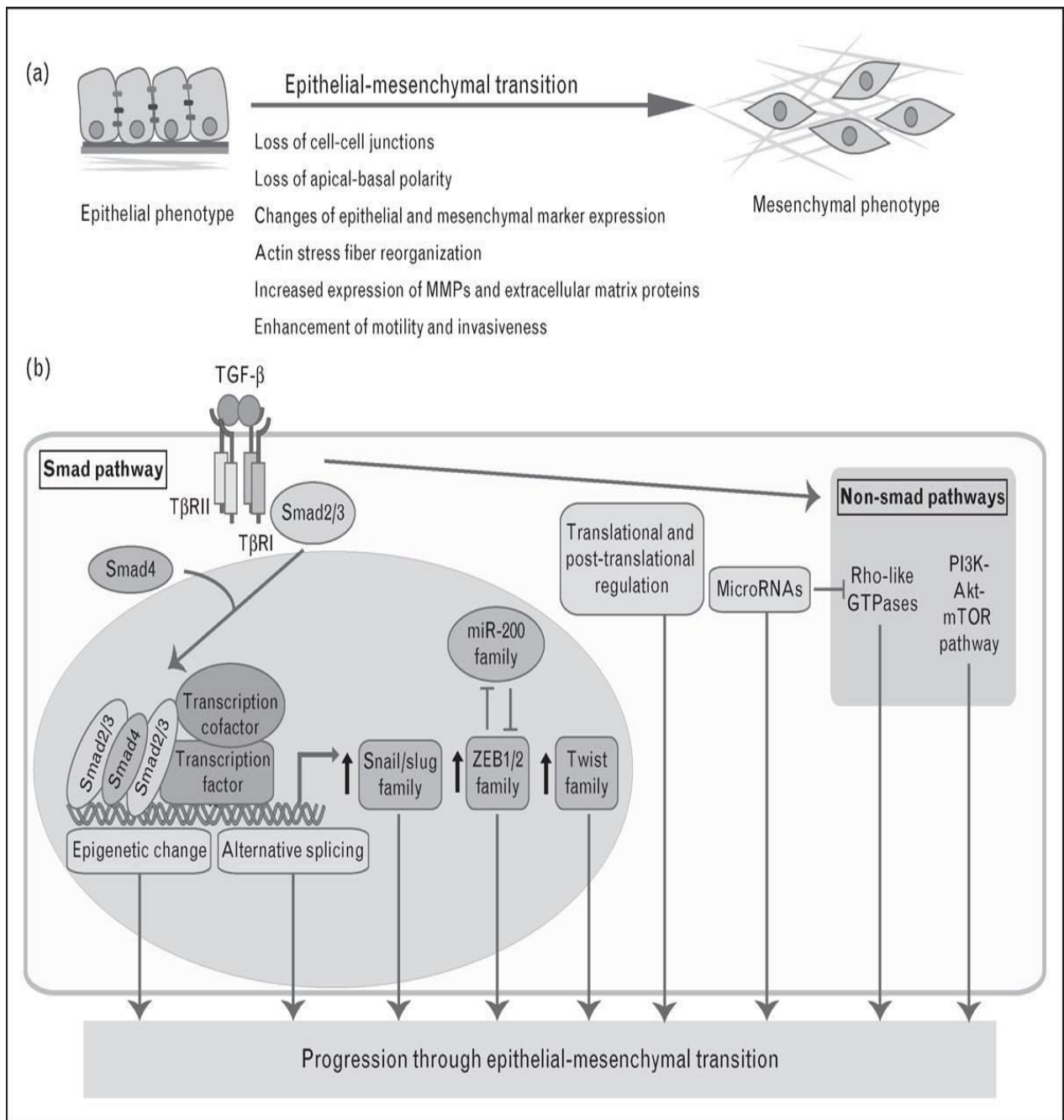


Figure 14 : Le rôle du TGF- β dans la progression de L'EMT (126).

2. Rôle des cellules souches cancéreuses dans l'EMT

Les cellules souches ont été longtemps étudiées pour leur rôle central dans le développement des organes. Cependant, les études actuelles suggèrent que les cellules ayant des caractéristiques de type souches / progéniteurs jouent un rôle essentiel dans la formation et la progression des tumeurs (127-128).

Les cellules souches cancéreuses (CSC) sont définies par leur capacité à développer ou initier de nouvelles tumeurs, à s'auto-renouveler (pouvoir reformer d'autres CSC lors du processus de division cellulaire) et à produire des cellules différenciées (capable de se différencier vers l'ensemble des composants cellulaires présents dans la tumeur/organe) (129). Elles ont été identifiées pour la première fois dans des tumeurs malignes humaines de leucémie myéloïde aiguë et ont été ensuite décrites dans des tumeurs solides, notamment des tumeurs du sein, du cerveau et du côlon (130).

Dans le cancer du sein, les CSC proviendraient directement des cellules souches normales (CSN) adultes de l'épithélium mammaire qui seraient seules le siège des transformations et altérations génétiques tumorales. Les cellules d'une tumeur possèdent un potentiel de prolifération limité en dehors d'un petit nombre de cellules cancéreuses par rapport aux CSC qui ont la capacité de proliférer de façon indéfinie et de donner naissance à toutes les autres cellules contenues dans la masse tumorale (131).

L'origine cellulaire des cancers a longtemps été expliquée par le modèle stochastique, dans ce dernier chaque cellule composante d'un tissu même différenciée, elle peut à la suite d'une accumulation de mutations acquises de façon aléatoire, de se proliférer de façon indéfinie et de former un clone tumoral indépendant. Le second modèle dit le modèle hiérarchique qui se considère la cellule souche cancéreuse comme un moteur de l'activité tumorigène des cancer (131). C'est le concept d'origine clonal des tumeurs.

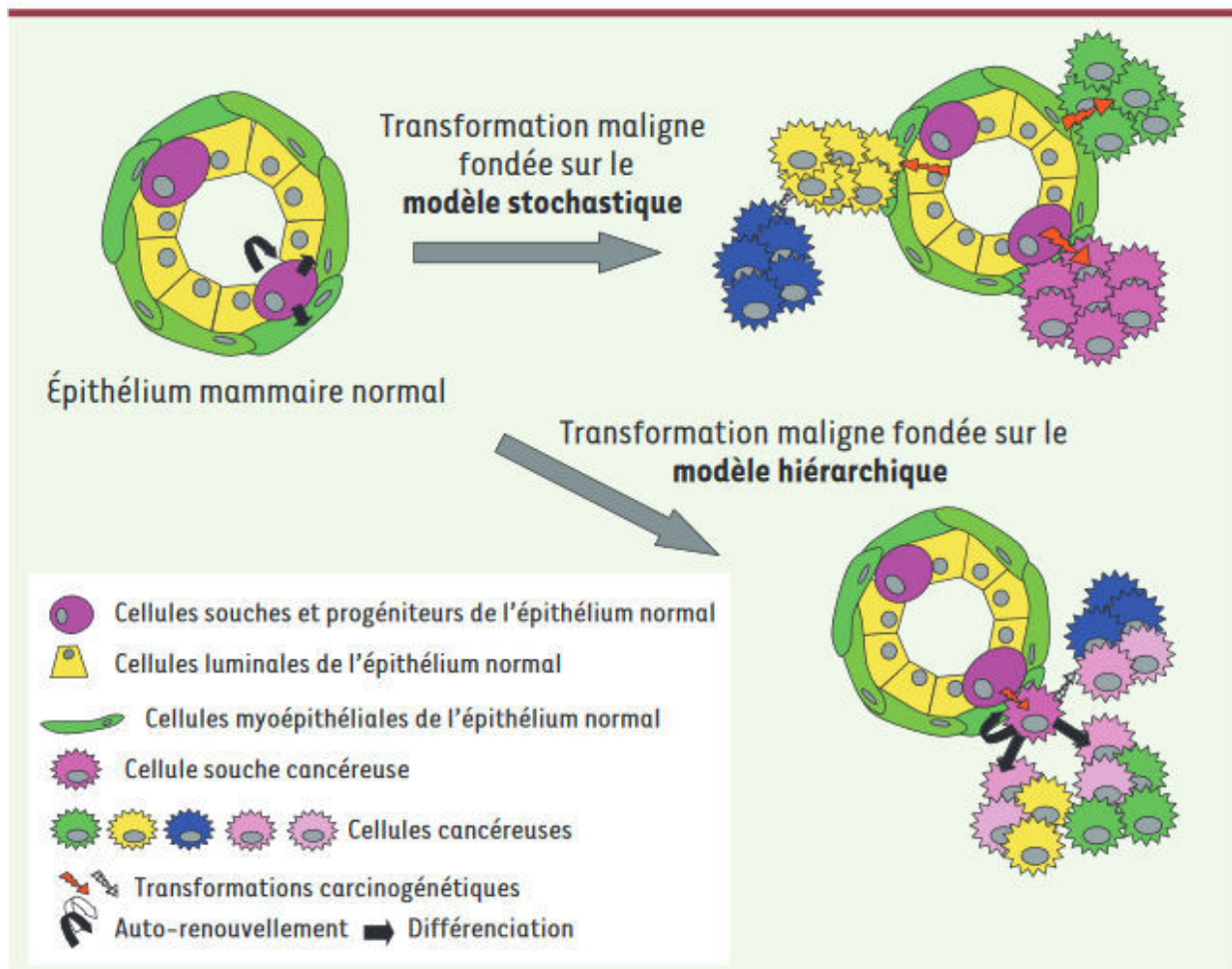


Figure 15 : Les deux modèles hypothétiques de la transformation maligne (132).

Cependant, plusieurs observations sont difficiles à mettre en accord avec la notion que les cellules différenciées sont la seule cible de multiples événements de transformation. En particulier, puisque les cellules différenciées en phase terminale composante de la plupart des tissus épithéliaux se prolifèrent rarement et sont souvent continuellement remplacées dans les tissus épithéliaux, la probabilité qu'une seule cellule individuelle accumule un ensemble de mutations nécessaires pour former une tumeur est faible (133).

D'autre part, la plupart des tumeurs sont hétérogènes composées de diverses cellules qui présentant différents degrés de différenciation et de transformation, ce qui rend complexe de comprendre comment une cellule cible bien différenciée peut donner naissance à plusieurs types de cellules moins différenciées, même si on considère la possibilité que le processus de transformation induise un certain degré de dédifférenciation (133).

Enfin, si on considère que chaque cellule cancéreuse atteinte d'un nombre de mutations possède la capacité de former une tumeur, par quoi se peut s'expliquer l'injection d'un grand nombre pour former une nouvelle tumeur dans des modèles expérimentaux de xénogreffes ? (133-134).

Ces diverses questions trouvent leurs réponses dans un concept plus récent : le modèle hiérarchique. En effet, de nombreuses données montrent que comme ce qui se passe dans le système hématopoïétique, les tissus épithéliaux sont soumis à un remodelage et à un renouvellement continu d'une manière étroitement régulée. Ce renouvellement tissulaire implique une hiérarchie cellulaire comprenant des cellules souches donnant naissance à des cellules progénitrices précoces puis tardives. Cette notion comprend plusieurs caractéristiques ; d'abord les cellules souches ou progénitrices ont la capacité de donner naissance à tous les types cellulaires du tissu dans lequel se trouvent. De plus, elles ont le potentiel d'un renouvellement illimité ce qui font d'elles de parfaits candidats susceptibles d'acquérir les mutations nécessaires à l'initiation de la transformation tumorale (133-134).

Plusieurs rapports démontrent que l'EMT induite par la TGF- β induit une différenciation des cellules de carcinome et conduit à la génération de CSC à partir de cellules cancéreuses différenciées.

En 2003, des CSC ont été isolées pour la première fois à partir de métastases issues de cancer du sein. Puis, il a été démontré qu'une petite sous-population de cellules cancéreuses ayant un phénotype antigénique CD44+/CD24- présentait des propriétés de CSC (135).

Des observations récentes relient l'EMT aux CSC, suggérant que le processus de l'EMT pourrait faciliter la génération de cellules cancéreuses présentant les caractéristiques mésenchymateuses nécessaires à la dissémination ainsi que les propriétés d'auto-renouvellements nécessaires à l'initiation de tumeurs secondaires (136), l'induction de l'EMT dans des cellules épithéliales mammaires humaines immortalisées par l'expression de Snail, Twist, ou l'exposition au TGF- β , entraîne une capacité accrue à former des sphères tumorales et à produire des cellules ayant une signature de cellules souches (CD44+/CD24-).

Ces cellules adoptent un phénotype mésenchymateux, sont fortement enrichies en cellules initiatrices de tumeurs et sont apparentées aux CSC du sein (137).

Ces preuves suggèrent qu'il pourrait y avoir un lien direct entre l'EMT et l'acquisition de propriétés qui ressemblent à celles des CSC suite à la signalisation du TGF- β , qui pourraient

être des conditions préalables à la métastase des cellules cancéreuses. Donc la voie de signalisation TGF- β est l'un des principaux moteurs de ces processus (138).

L'analyse des tissus du cancer du sein a permis d'identifier une corrélation significative entre le sous-type de cancer du sein à faible taux de Claudine et les signatures d'expression génique pour l'EMT et les CSC, ce qui renforce le lien entre l'EMT et les CSC (139).

La boucle de rétroaction ZEB/miR-200 est censée tenir compte d'une telle liaison EMT-CSC au niveau moléculaire. Cette boucle est une force motrice de la progression du cancer vers la métastase en contrôlant l'état des CSC (140).

La découverte du lien étroit entre les EMT et les CSC qui confèrent aux cellules tumorales des caractéristiques des CSC à travers un mécanisme moléculaire plausible pour la métastase.

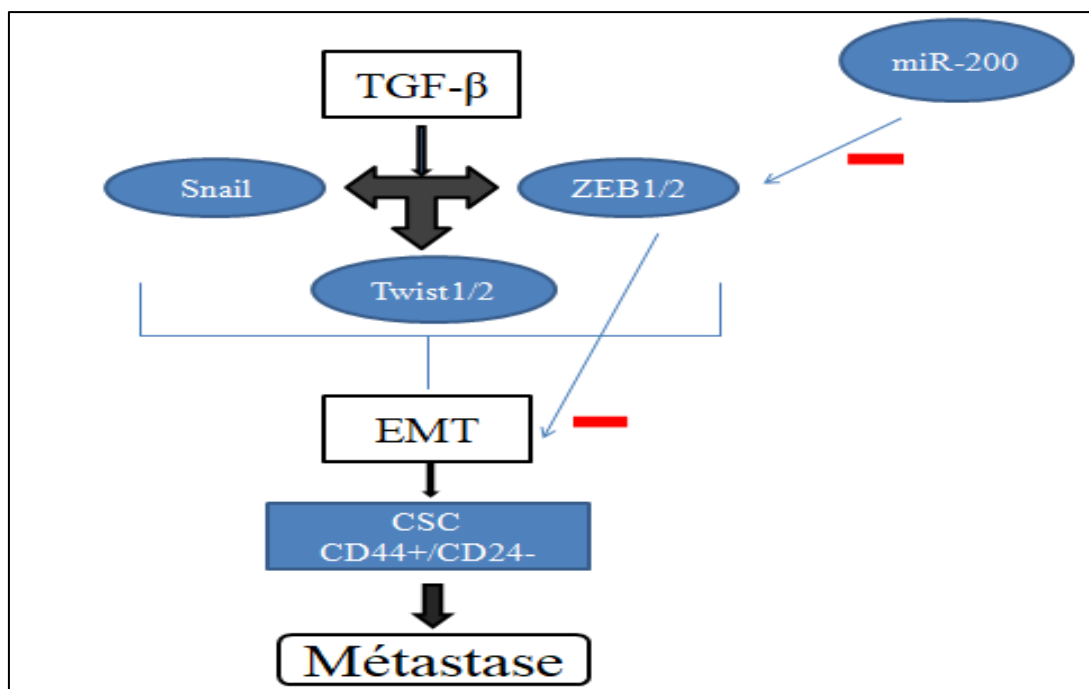


Figure 16 : schéma représentatif de la relation entre la TGF- β et les CSC.

Les études de cette synthèse confirment que l'EMT est le processus responsable de la métastase suite à l'absence de la E-cadherine et la présence des marqueurs de l'EMT.

Par contre d'autres études sur ce processus assurent que la présence de l'EMT dans la tumeur primaire ne permet pas de conclure que l'EMT est réellement nécessaire pour la métastase (141).

La cascade de métastases est en plusieurs étapes très complexes et la nature de la transition de l'EMT rendent difficile de tirer des conclusions causales concernant l'importance de l'EMT pour la formation de métastases chez les patients cancéreux. En outre, la migration mésenchymateuse ne représente qu'un des multiples modes de migration que les cellules cancéreuses peuvent utiliser pour quitter les limites des tissus, et une interférence ou une interaction thérapeutique avec la migration mésenchymateuse pourrait activer des voies de récupération, ou réactiver des cellules tumorales dormantes, disséminées dans le mésenchyme, en induisant une EMT (141) (une autre thérapie peut activer autres types de cellules cancéreuses).

Donc l'inhibition de l'EMT est une approche thérapeutique intéressante qui pourrait avoir un effet significatif sur l'évolution de la maladie et les traitements anti cancéreux.

3. Rôle des CSC et TGF- β dans les types du cancer de sein

Le cancer du sein est classé en plusieurs sous-types basé sur l'expression des récepteurs d'œstrogènes (ER), des récepteurs de progestérone (PR), le récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain (HER2), et le cancer du sein triple négatif (TNBC) le sous-type le plus agressif, qui a le taux de survie global le plus faible de tous les sous-types de cancer du sein (142).

Le TNBC apparaît généralement à un âge précoce et le risque de récurrence est élevé.

Les cellules tumorales TNBC n'expriment pas le récepteur d'œstrogène et de progestérone ni le gène HER2 ; il n'existe donc pas de thérapie endocrinienne cliniquement spécifique ni de pharmacothérapie ciblée pour le TNBC (143).

Le sous-type de cancer du sein qui a un faible taux de claudine a le plus haut taux de cellules souches épithéliales mammaires, ce qui conduit à l'hypothèse que les cellules souches mammaires les plus primitives pourraient être la cellule d'origine du sous-type claudin-low du cancer du sein (144). Ce type est caractérisé par une expression faible à absente des marqueurs de différenciation des cancers luminaux (ER, PR, HER2) (145). Donc la majorité des tumeurs à faible taux de claudine sont des cancers du sein triple négatif (146).

Ces études ont montré qu'il y a une teneur plus élevée des CSC (CD44+ / CD24-) spécifique au cancer du sein dans le TNBC d'où sa gravité contrairement au ER, PR et HER2 grâce au TGF-

β qui influence la population de cellules souches cancéreuses du sein suite à son mode de signalisation (138).

Une autre étude histochimique sur des patients atteints d'un cancer du sein du type TNBC, et autres patients atteints d'un cancer non-TNBC ont été sélectionnés comme groupe témoin (140).

Les résultats présentent un total de 42 cas de TNBC qui ont exprimé la TGF- β à un niveau élevé (52,5%), alors que le taux d'expression du TGF- β chez les patients non-TNBC était de (27,5%).

L'expression du TGF- β était plus élevée dans les tissus atteints de TNBC que dans les tissus non-TNBC qui est plus faible.

Les tests d'invasion et de migration utilisés ont démontré que la migration et l'invasion étaient accrues dans les cellules de la lignée cellulaire TNBC lorsque les cellules étaient traitées avec 5 ng/ml de TGF- β par rapport au groupe de contrôle. Par conséquent, des niveaux d'expression élevés de TGF- β , peuvent jouer un rôle important dans le développement du TNBC (143). Ce qui suggère que l'expression de TGF- β du tissu TNBC pourrait être un biomarqueur pronostique potentiel.

La présente étude et d'autres études antérieures indiquent que l'expression du TGF- β dans les tissus TNBC peuvent être impliqués dans l'apparition et le développement du TNBC (143).

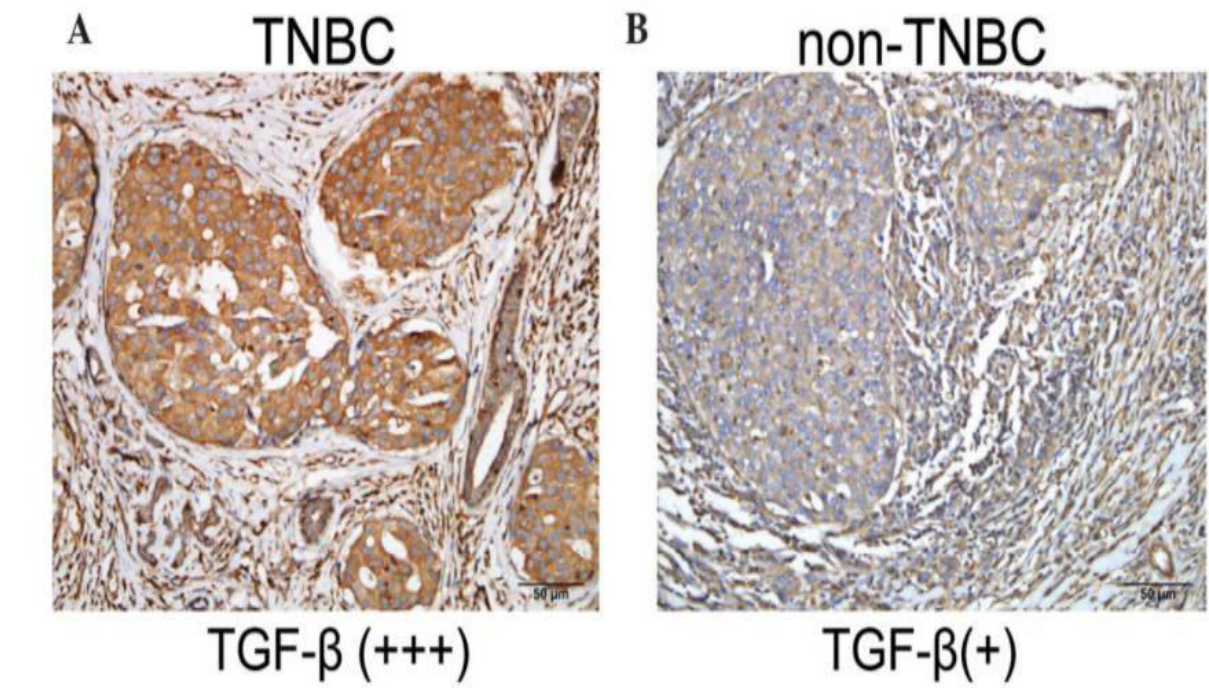


Figure 17 : L'expression du TGF- β dans le TNBC (68).

Conclusion et perspectives

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez les femmes dans le monde. Ses décès sont causés par une invasion locale et des métastases à distance des cellules tumorales.

L'EMT, ce phénomène complexe du développement et de progression de la tumeur qui implique une reprogrammation majeure de l'expression des gènes qui conduit à des modifications du comportement des cellules, se résulte d'une induction aberrante de l'EMT embryonnaire et présente de multiples effets néfastes sur la progression tumorale, qu'il s'agisse de l'initiation, du développement de la tumeur primaire, et de la dissémination métastatique ou du risque de récurrence (147).

Dans la progression tumorale, les rôles cruciaux de l'EMT lui valent d'être de plus en plus étudiée, tant au niveau de ses mécanismes de régulation que de ses conséquences. En tant que nouvelle cible thérapeutique, le concept de l'EMT prend donc tout son sens (37).

Cependant, plusieurs possibilités d'échappement sont possibles à travers l'interconnexion importante de l'ensemble des voies de signalisation et facteurs de transcription qui régule ce mécanisme, ainsi que, l'inter-régulation des FT-TEM (37) d'où leurs activations diminue les jonctions cellulaires et donc favorisent le développement de la tumeur primaire et la cascade métastatique. Cette dernière est l'aspect le plus mal compris dans le cancer du sein, un problème qui est responsable de la mortalité des patients atteints du cancer à travers le manque des outils efficaces pour comprendre le réseau complexe des voies de signalisation qui conduit ce processus de l'EMT. Ce dernier ne représente qu'une partie du processus d'invasion de la tumeur et de métastases.

La découverte de nombreux facteurs de transcription et voies de signalisation qui régulent l'EMT activés dans des modèles de tumeurs du sein et qu'ils le favorisent dans le contexte de la progression de la tumeur, permet de mieux comprendre les différents rôles de la signalisation TGF- β dans la progression des carcinomes et conduiront à la mise au point de nouvelles stratégies thérapeutiques plus efficaces pour la future prévention des cancers et des métastases.

Ces études ont montré que le TGF- β peut induire l'EMT et enrichir les cellules souches cancéreuses qui sont étroitement liées à la progression du cancer.

Une population de cellules souches tumorales du phénotype (CD44+/CD24-) peut initier le développement de la tumeur ainsi les cellules tumorales partagent de nombreuses caractéristiques des CSC. L'EMT confère aux cellules tumorales les caractéristiques des CSC qui fournissent aussi un mécanisme moléculaire plausible pour la métastase et la récurrence des tumeurs. Plusieurs défis restent à relever pour s'attaquer pleinement le mécanisme fondamental et à la réglementation de l'EMT.

En partie, il semble donc que cette population de CSC soit la clé d'un efficace traitement anticancéreux. La variabilité dans les mécanismes impliqués dans le maintien de phénotype des CSC et la diversité de leurs marqueurs rendent d'autant plus difficiles leur étude et leur ciblage. Cependant, des études cliniques ciblant spécifiquement les CSC ont été entreprises (148).

Dans le cadre du cancer du sein, plusieurs essais cliniques ont été réalisés ou sont en cours. Ainsi, un traitement inhibiteur de la voie Notch (GSI : inhibiteur de la γ -sécrétase, RO4919097 ou MK0752) seul ou en combinaison avec des agents de chimiothérapie (paclitaxel, docétaxel, tamoxifène ou létrozole) de patientes atteintes, en particulier, de cancers de sein essentiellement très avancés, voire métastatiques a montré des résultats prometteurs (38).

Aussi, l'association GSI et docétaxel a montré une réduction du taux de CSC (CD44+ / CD24- /low ; ALDH+), une réduction de la capacité des cellules à former des sphères à partir de biopsies, et surtout une faible toxicité et des preuves (très) préliminaires de son efficacité (38).

Par ailleurs, un protocole tenta préférentiellement à cibler les cellules CD44+, à travers l'élaboration d'un traitement combinant 0,5 % de peroxyde d'hydrogène et 0,83 % de sodium hyaluronate C (ligand de CD44) par injection intratumorale, administré avant irradiation, a révélé une efficacité relative avec une radiosensibilisation partielle. Ainsi, les auteurs n'ont observé qu'une seule récurrence sur 72 patientes aux stades précoces de cancer du sein (stage 0, un patient ; stage I, 23 ; stage II, 48) sur une période de suivi de 51,1 mois (149).

De plus, concernant les chimiothérapies (néo)adjuvantes et des radiothérapies conventionnelles, l'irradiation des tumeurs par protons semble plus efficace que l'irradiation par photons pour une dose d'efficacité biologique relative équivalente. Ainsi, il a été observé une perte des marqueurs de CSC, une diminution de l'agressivité cellulaire, une augmentation de la production de ROS, et encore une augmentation de l'apoptose (150)

Malgré les difficultés dues à la radiorésistance intrinsèque des CSC ou à leur plasticité phénotypique, l'avancée des connaissances permet aujourd'hui d'envisager de cibler spécifiquement cette population.

Certains miARN sont apparus comme des régulateurs de l'EMT soit positivement ou négativement selon le type des miARN. Cela pourra aider à mieux comprendre le réseau de la TGF- β et servir comme une nouvelle option qui cible la signalisation de TGF- β pour l'intervention en cas de cancer du sein.

Il est toujours difficile de déterminer si une molécule ou une voie particulière est spécifique au programme d'EMT ou fonctionne en parallèle avec d'autres programmes ainsi les interactions sont mal connues.

Par conséquent, ils devront développer de meilleurs marqueurs en utilisant une immunohistochimie et de développer de meilleures méthodes de détection pour établir un lien de cause à effet entre l'EMT et les différentes étapes de la métastase à l'avenir, de faire des études en forme 3D pour bien illustrer le lien mais aussi des études profondes sur les miARN pour cibler la voie de signalisation TGF- β afin d'inhiber sa fonction dans le cas d'EMT.

Les progrès réalisés dans le criblage et la conception rationnelle de nouvelles molécules devraient rapidement apporter de nouvelles solutions fiables dans l'optimisation de la prise en charge et de la survie des patientes, surtout que, certaines des stratégies envisagées laissent entrevoir un espoir et même une forte présomption quant à leur faisabilité.

Face à cette complexité, l'enjeu majeur reste la détermination d'un bon traitement pour chaque patiente, en prenant compte du bénéfice et aussi des risques de ces traitements pour chacune d'elles. Par conséquent, l'objectif est d'allonger la survie de la patiente tout en réduisant au maximum les effets indésirables des traitements mais aussi de la pathologie.

Actuellement, dans le cancer du sein, la chirurgie est le traitement le plus décisif qui consiste à retirer les cellules cancéreuses, le plus souvent associée à une radiothérapie qui va « tuer » les cellules cancéreuses restantes ou alors empêcher la multiplication de ces cellules.

Références

- (1) MAAMRI, A. (2015). Epidemiological data on cancer in the world and in Morocco Bibliographical review. *Annals of Health Sciences*, 1(1), 20-29.
- (2) BOUKRIF, F., & HADJOU, D. (2020). The interest of serum protein electrophoresis and immunofixation in the diagnosis of multiple myeloma.
- (3) Jacqueroud, L. (2015). Identification and characterization of the transcriptional complexes of the TWIST1 protein essential for tumor progression (Doctoral dissertation).
- (4) Puddu, M., & Tafforeau, J. (2005). Opportunity for breast cancer screening in women aged 40-49. *Nr, 1*, 1-267.
- (5) Cancer To Day. International Agency For Research on Cancer
- (6) Dr Rahmoun Souhila. Registre des cancers 2017. Institut National De Santé Publique.
- (7) Dr Chenafa. 2020. Service d'anatomie normale CHU ORAN.
- (8) Acteur de ma santé, Le sein : à la découverte de son anatomie.
- (9) Une maladie très hétérogène, Site de Recherche Intégrée sur le Cancer.
- (10) Bouzahar & Deffar Khalissa. 2016. Mechanisms of oncogenesis.
- (11) Tumeur maligne ou bénigne : définition, différence et symptômes.
- (12) Mécanismes du développement tumoral, cancerogenemulti-etapes, The Metastasis Research Society (UK).
- (13) Comment une cellule devient cancéreuse, Ligue contre le cancer, Comité de côte d'or, 2020.
- (14) Cours de médecine Sorbonne université ; partie 1cancerologie générale, chapitre 3 biologie du cancer.
- (15) Treps, L., & Gavard, J. (2015). L'angiogenèse tumorale-Quand l'arbre de vie tourne mal. *médecine/sciences*, 31(11), 989-995.
- (16) Bacac, M., & Stamenkovic, I. (2008). Metastatic cancer cell. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.*, 3, 221-247.
- (17) ALLIOUA Fakia, DELLAL Khaldia & Pr. Oudai. 2014. Breast cancer.
- (18) Moyret-Lalle, C., Pommier, R., Bouard, C., Nouri, E., Richard, G., & Puisieux, A. (2016). Plasticité des cellules cancéreuses et dissémination métastatique. *Médecine /sciences*, 32(8-9), 725-731.
- (19) Key, T. J., & Verkasalo, P. K. (1999). Endogenous hormones and the aetiology of breast cancer. *Breast Cancer Research*, 1(1), 18.
- (20) Geiger, T. R., & Peeper, D. S. (2009). Metastasis mechanisms. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 1796(2), 293-308.
- (21) Fukumura, D., Xavier, R., Sugiura, T., Chen, Y., Park, E. C., Lu, N., ... & Seed, B. (1998).

- Tumor induction of VEGF promoter activity in stromal cells. *Cell*, 94(6), 715-725.
- (22) Cahill, D. P., Kinzler, K. W., Vogelstein, B., & Lengauer, C. (1999). Genetic instability and darwinian selection in tumours. *Trends in cell biology*, 9(12), M57-M60.
- (23) Li, C. J., Chu, P. Y., Yiang, G. T., & Wu, M. Y. (2019). The Molecular Mechanism of Epithelial–Mesenchymal Transition for Breast Carcinogenesis. *Biomolecules*, 9(9), 476.
- (24) Seton-Rogers, S. (2016). Untangling EMT's functions. *Nature reviews Cancer*, 16(1), 1-1.
- (25) Ouzounova, M., & Puisieux, A. (2017). Transition épithélio-mésenchymateuse et cellules d'origine des cancers. *Bulletin du Cancer*, 104(12), 1068-1071.
- (26) Kalluri, R., & Neilson, E. G. (2003). Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *The Journal of clinical investigation*, 112(12), 1776-1784.
- (27) Kalluri, R., & Weinberg, R. A. (2009). The basics of epithelial-mesenchymal transition. *The Journal of clinical investigation*, 119(6), 1420-1428.
- (28) Puisieux, A., Brabletz, T., & Caramel, J. (2014). Oncogenic roles of EMT-inducing transcription factors. *Nature cell biology*, 16(6), 488-494.
- (29) Andrieu, C. (2018). Rôle de MMP14/MT1-MMP au cours de la transition épithélio-mésenchymateuse et de la migration des crêtes neurales dans l'embryon de poulet (Doctoral dissertation, Université Paul Sabatier-Toulouse III).
- (30) Kalluri, R. (2009). EMT: when epithelial cells decide to become mesenchymal-like cells. *The Journal of clinical investigation*, 119(6), 1417-1419.
- (31) Nishad, R., Nakuluri, K., Motrapu, M., & Pasupulati, A. K. (2017). Epithelial-mesenchymal transition of glomerular podocytes: implications in proteinuria. *MGM J Med Sci*, 4(1), 1-9.
- (32) Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*, 144(5), 646-674.
- (33) Peinado, H., Olmeda, D., & Cano, A. (2007). Snail, Zeb and bHLH factors in tumour progression: an alliance against the epithelial phenotype?. *Nature reviews cancer*, 7(6), 415-428.
- (34) Zavadil, J., & Böttinger, E. P. (2005). TGF- β and epithelial-to-mesenchymal transitions. *Oncogene*, 24(37), 5764-5774.
- (35) Hao, Y., Baker, D., & ten Dijke, P. (2019). TGF- β -mediated epithelial-mesenchymal transition and cancer metastasis. *International journal of molecular sciences*, 20(11), 2767.
- (36) Felipe de Sousa, E. M., Vermeulen, L., Medema, J. P., & Guessous, I. (2011). Cellules souches cancéreuses et futures modalités thérapeutiques du cancer. *Rev Med Suisse*, 7, 774-777.

- (37) Jacqueroud, L., & Ansieau, S. (2013). La transition épithélio-mésenchymateuse: de la plasticité à la chimiorésistance. *Correspondances en Onco-Théranostic*, 3, 126-31.
- (38) Bailleul-Dubois, J., Bidan, N., Le Bourhis, X., & Lagadec, C. (2017). Effet de la radiothérapie sur les cellules souches cancéreuses de cancer du sein: résistance, reprogrammation et traitements. *Oncologie*, 19(3-4), 77-84.
- (39) Creighton, C. J., Li, X., Landis, M., Dixon, J. M., Neumeister, V. M., Sjolund, A., ... & Chang, J. C. (2009). Residual breast cancers after conventional therapy display mesenchymal as well as tumor-initiating features. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(33), 13820-13825.
- (40) Gupta, P. B., Chaffer, C. L., & Weinberg, R. A. (2009). Cancer stem cells: mirage or reality?. *Nature medicine*, 15(9), 1010-1012.
- (41) Marotta, L. L., Almendro, V., Marusyk, A., Shipitsin, M., Schemme, J., Walker, S. R., ... & Polyak, K. (2011). The JAK2/STAT3 signaling pathway is required for growth of CD44+ CD24–stem cell–like breast cancer cells in human tumors. *The Journal of clinical investigation*, 121(7), 2723-2735.
- (42) Alison, M. R., Lim, S. M., & Nicholson, L. J. (2011). Cancer stem cells: problems for therapy?. *The Journal of pathology*, 223(2), 148-162.
- (43) Anido, J., Sáez-Borderías, A., González-Juncà, A., Rodón, L., Folch, G., Carmona, M. A., ... & Seoane, J. (2010). TGF- β receptor inhibitors target the CD44^{high}/Id1^{high} glioma-initiating cell population in human glioblastoma. *Cancer cell*, 18(6), 655-668.
- (44) Israel, B. E. B., Tilghman, S. L., Parker-Lemieux, K., & Payton-Stewart, F. (2018). Phytochemicals: Current strategies for treating breast cancer. *Oncology Letters*, 15(5), 7471-7478.
- (45) Lönn, P., van der Heide, L. P., Dahl, M., Hellman, U., Heldin, C. H., & Moustakas, A. (2010). PARP-1 attenuates Smad-mediated transcription. *Molecular cell*, 40(4), 521-532.
- (46) Alison, M. R., Lim, S. M., & Nicholson, L. J. (2011). Cancer stem cells: problems for therapy?. *The Journal of pathology*, 223(2), 148-162.
- (47) Chua, K. N., Sim, W. J., Racine, V., Lee, S. Y., Goh, B. C., & Thiery, J. P. (2012). A cell-based small molecule screening method for identifying inhibitors of epithelial-mesenchymal transition in carcinoma. *PloS one*, 7(3), e33183.

- (48) Dassie, J. P., Liu, X. Y., Thomas, G. S., Whitaker, R. M., Thiel, K. W., Stockdale, K. R., ... & Giangrande, P. H. (2009). Systemic administration of optimized aptamer-siRNA chimeras promotes regression of PSMA-expressing tumors. *Nature biotechnology*, 27(9), 839-846.
- (49) Kota, J., Chivukula, R. R., O'Donnell, K. A., Wentzel, E. A., Montgomery, C. L., Hwang, H. W., ... & Mendell, J. T. (2009). Therapeutic microRNA delivery suppresses tumorigenesis in a murine liver cancer model. *Cell*, 137(6), 1005-1017.
- (50) Ma, L., Reinhardt, F., Pan, E., Soutschek, J., Bhat, B., Marcusson, E. G., ... & Weinberg, R. A. (2010). Therapeutic silencing of miR-10b inhibits metastasis in a mouse mammary tumor model. *Nature biotechnology*, 28(4), 341-347.
- (51) Chaffer, C. L., Brueckmann, I., Scheel, C., Kaestli, A. J., Wiggins, P. A., Rodrigues, L. O., ... & Weinberg, R. A. (2011). Normal and neoplastic nonstem cells can spontaneously convert to a stem-like state. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(19), 7950-7955.
- (52) Hamadi, L., & Hamidi, A. (2018). Case study: CHAHIDS MAHMOUDI private hospital in Tizi-Ouzou (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- (53) Hamadi, L., & Hamidi, A. (2018). Case study: CHAHIDS MAHMOUDI private hospital in Tizi-Ouzou (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- (54) McConkey, D. J., Choi, W., Marquis, L., Martin, F., Williams, M. B., Shah, J., ... & Dinney, C. (2009). Role of epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) in drug sensitivity and metastasis in bladder cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, 28(3-4), 335-344.
- (55) Ansieau, S., Morel, A. P., Hinkal, G., Bastid, J., & Puisieux, A. (2010). TWISTing an embryonic transcription factor into an oncoprotein. *Oncogene*, 29(22), 3173-3184.
- (56) Witta, S. E., Gemmill, R. M., Hirsch, F. R., Coldren, C. D., Hedman, K., Ravdel, L., ... & Bunn, P. A. (2006). Restoring E-cadherin expression increases sensitivity to epidermal growth factor receptor inhibitors in lung cancer cell lines. *Cancer research*, 66(2), 944-950.
- (57) Li, Q. Q., Chen, Z. Q., Cao, X. X., Xu, J. D., Xu, J. W., Chen, Y. Y., ... & Xu, Z. D. (2011). Involvement of NF- κ B/miR-448 regulatory feedback loop in chemotherapy-induced epithelial-mesenchymal transition of breast cancer cells. *Cell Death & Differentiation*, 18(1), 16-25.

- (58) Cui, S. Y., Huang, J. Y., Chen, Y. T., Song, H. Z., Feng, B., Huang, G. C., ... & De, W. (2013). Let-7c governs the acquisition of chemo-or radioresistance and epithelial-to-mesenchymal transition phenotypes in docetaxel-resistant lung adenocarcinoma. *Molecular Cancer Research*, 11(7), 699-713.
- (59) Sun, S. S., Hsieh, J. F., Tsai, S. C., Ho, Y. J., Lee, J. K., & Kao, C. H. (2000). Expression of mediated P-glycoprotein multidrug resistance related to Tc-99m MIBI scintimammography results. *Cancer letters*, 153(1-2), 95-100.
- (60) Trock, B. J., Leonessa, F., & Clarke, R. (1997). Multidrug resistance in breast cancer: a meta-analysis of MDR1/gp170 expression and its possible functional significance. *Journal of the National Cancer Institute*, 89(13), 917-931.
- (61) Saxena, M., Stephens, M. A., Pathak, H., & Rangarajan, A. (2011). Transcription factors that mediate epithelial–mesenchymal transition lead to multidrug resistance by upregulating ABC transporters. *Cell death & disease*, 2(7), e179-e179.
- (62) Sabbah, M., Emami, S., Redeuilh, G., Julien, S., Prévost, G., Zimmer, A., ... & Gespach, C. (2008). Molecular signature and therapeutic perspective of the epithelial-to-mesenchymal transitions in epithelial cancers. *Drug resistance updates*, 11(4-5), 123-151.
- (63) Tran, P. T., Shroff, E. H., Burns, T. F., Thiyagarajan, S., Das, S. T., Zabuawala, T., ... & Felsher, D. W. (2012). Twist1 suppresses senescence programs and thereby accelerates and maintains mutant Kras-induced lung tumorigenesis. *PLoS Genet*, 8(5), e1002650.
- (64) Ansieau, S., Bastid, J., Doreau, A., Morel, A. P., Bouchet, B. P., Thomas, C., ... & Puisieux, A. (2008). Induction of EMT by twist proteins as a collateral effect of tumor-promoting inactivation of premature senescence. *Cancer cell*, 14(1), 79-89.
- (65) Prieto, L. I., & Baker, D. J. (2019). Cellular senescence and the immune system in cancer. *Gerontology*, 65(5), 505-512.
- (66) Valsesia-Wittmann, S., Magdeleine, M., Dupasquier, S., Garin, E., Jallas, A. C., Combaret, V., ... & Puisieux, A. (2004). Oncogenic cooperation between H-Twist and N-Myc overrides failsafe programs in cancer cells. *Cancer cell*, 6(6), 625-630.
- (67) Arumugam, T., Ramachandran, V., Fournier, K. F., Wang, H., Marquis, L., Abbruzzese, J. L., ... & Choi, W. (2009). Epithelial to mesenchymal transition contributes to drug resistance in pancreatic cancer. *Cancer research*, 69(14), 5820-5828.

- (68) Shen, J., Sun, H., Xu, P., Yin, Q., Zhang, Z., Wang, S., ... & Li, Y. (2013). Simultaneous inhibition of metastasis and growth of breast cancer by co-delivery of twist shRNA and paclitaxel using pluronic P85-PEI/TPGS complex nanoparticles. *Biomaterials*, *34*(5), 1581-1590.
- (69) Tsai, J. H., Donaher, J. L., Murphy, D. A., Chau, S., & Yang, J. (2012). Spatiotemporal regulation of epithelial-mesenchymal transition is essential for squamous cell carcinoma metastasis. *Cancer cell*, *22*(6), 725-736.
- (70) Ocaña, O. H., Córcoles, R., Fabra, Á., Moreno-Bueno, G., Acloque, H., Vega, S., ... & Nieto, M. A. (2012). Metastatic colonization requires the repression of the epithelial-mesenchymal transition inducer Prrx1. *Cancer cell*, *22*(6), 709-724.
- (71) Gupta, P. B., Onder, T. T., Jiang, G., Tao, K., Kuperwasser, C., Weinberg, R. A., & Lander, E. S. (2009). Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening. *Cell*, *138*(4), 645-659.
- (72) Kusunoki, S. K., Kato, K., Tabu, K., Inagaki, T., Okabe, H., Kaneda, H., Suga, S., Terao, Y., Taga, T., Tadeka, S., (2014). *The inhibitory effect of salinomycin on the proliferation, migration and invasion of human endometrial cancer stem-like cells* (Doctoral dissertation). 129(3), 598-605.
- (73) Kuo, S. Z., Blair, K. J., Rahimy, E., Kiang, A., Abhold, E., Fan, J. B., ... & Ongkeko, W. M. (2012). Salinomycin induces cell death and differentiation in head and neck squamous cell carcinoma stem cells despite activation of epithelial-mesenchymal transition and Akt. *BMC cancer*, *12*(1), 1-14.
- (74) Romano, L. A., & Runyan, R. B. (2000). Slug is an essential target of TGF β 2 signaling in the developing chicken heart. *Developmental biology*, *223*(1), 91-102.
- (75) Hamadi, L., & Hamidi, A. (2018). Case study: CHAHIDS MAHMOUDI private hospital in Tizi-Ouzou (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- (76) Laurent, C. (2013). *Pratique clinique en pédiatrie des internes en médecine générale, lors du stage ambulatoire de gynéco-pédiatrie, en cabinet de médecine générale, en Midi-Pyrénées* (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- (77) Al-Assar, O., Muschel, R. J., Manton, T. S., McKenna, W. G., & Brunner, T. B. (2009). Radiation response of cancer stem-like cells from established human cell lines after sorting for

surface markers. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 75(4), 1216-1225.

(78) Phillips, T. M., McBride, W. H., & Pajonk, F. (2006). The response of CD24⁻/low/CD44⁺ breast cancer-initiating cells to radiation. *Journal of the National Cancer Institute*, 98(24), 1777-1785.

(79) Lagadec, C., Vlashi, E., Della Donna, L., Meng, Y., Dekmezian, C., Kim, K., & Pajonk, F. (2010). Survival and self-renewing capacity of breast cancer initiating cells during fractionated radiation treatment. *Breast cancer research*, 12(1), R13.

(80) Diehn, M., Cho, R. W., Lobo, N. A., Kalisky, T., Dorie, M. J., Kulp, A. N., ... & Clarke, M. F. (2009). Association of reactive oxygen species levels and radioresistance in cancer stem cells. *nature*, 458(7239), 780-783.

(81) Bailleul-Dubois, J., Bidan, N., Le Bourhis, X., & Lagadec, C. (2017). Effect of radiotherapy on breast cancer stem cells: resistance, reprogramming and treatment. *Oncology*, 19(3-4), 77-84.

(82) Tutt, A., & Yarnold, J. (2006). Radiobiology of breast cancer. *Clinical oncology*, 18(3), 166-178.

(83) Kim, S. Y., Rhee, J. G., Song, X., Prochownik, E. V., Spitz, D. R., & Lee, Y. J. (2012). Breast cancer stem cell-like cells are more sensitive to ionizing radiation than non-stem cells: role of ATM. *PLOS one*, 7(11), e50423.

(84) Filipova, A., Seifrtova, M., Mokry, J., Dvorak, J., Rezacova, M., Filip, S., & Diaz-Garcia, D. (2014). Breast cancer and cancer stem cells: a mini-review. *Tumori Journal*, 100(4), 363-369.

(85) Lagadec, C., Dekmezian, C., Bauché, L., & Pajonk, F. (2012). Oxygen levels do not determine radiation survival of breast cancer stem cells. *PloS one*, 7(3), e34545.

(86) Rodman, S. N., Spence, J. M., Ronnfeldt, T. J., Zhu, Y., Solst, S. R., O'Neill, R. A., ... & Fath, M. A. (2016). Enhancement of radiation response in breast cancer stem cells by inhibition of thioredoxin-and glutathione-dependent metabolism. *Radiation research*, 186(4), 385-395.

(87) Karimi-Busheri, F., Rasouli-Nia, A., Mackey, J. R., & Weinfeld, M. (2010). Senescence evasion by MCF-7 human breast tumor-initiating cells. *Breast Cancer Research*, 12(3), R31.

- (88) Yin, H., & Glass, J. (2011). The phenotypic radiation resistance of CD44⁺/CD24⁻ or low breast cancer cells is mediated through the enhanced activation of ATM signaling. *PLoS one*, 6(9), e24080.
- (89) Al-Assar, O., Mantoni, T. S., Lunardi, S., Kingham, G., Helleday, T., & Brunner, T. B. (2011). Breast cancer stem-like cells show enhanced homologous recombination due to a larger S-G2 fraction.
- (90) Tian, Y. H., Xie, G. Z., Ren, C., Sun, Q. Q., Sun, A. M., Liu, Y., & Yuan, Y. W. (2011). Radiation-induced G2 phase arrest may contribute to the radioresistance of breast cancer stem cells. *Nan fang yi ke da xue xue bao= Journal of Southern Medical University*, 31(1), 53-56.
- (91) Croker, A. K., & Allan, A. L. (2012). Inhibition of aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity reduces chemotherapy and radiation resistance of stem-like ALDH^{hi} CD44⁺ human breast cancer cells. *Breast cancer research and treatment*, 133(1), 75-87.
- (92) Yang, Z. X., Sun, Y. H., He, J. G., Cao, H., & Jiang, G. Q. (2015). Increased activity of CHK enhances the radioresistance of MCF-7 breast cancer stem cells. *Oncology Letters*, 10(6), 3443-3449.
- (93) Harper, J. W., & Elledge, S. J. (2007). The DNA damage response: ten years after. *Molecular cell*, 28(5), 739-745.
- (94) Phillips, T. M., Kim, K., Vlashi, E., McBride, W. H., & Pajonk, F. (2007). Effects of recombinant erythropoietin on breast cancer-initiating cells. *Neoplasia*, 9(12), 1122-1129.
- (95) Zhang, Y., Wu, M., Han, X., Wang, P., & Qin, L. (2015). High-Throughput, Label-Free Isolation of Cancer Stem Cells on the Basis of Cell Adhesion Capacity. *Angewandte Chemie International Edition*, 54(37), 10838-10842.
- (96) Lai, Y., Yu, X., Lin, X., & He, S. (2016). Inhibition of mTOR sensitizes breast cancer stem cells to radiation-induced repression of self-renewal through the regulation of MnSOD and Akt. *International Journal of Molecular Medicine*, 37(2), 369-377.
- (97) Song, C. W., Lee, H., Dings, R. P., Williams, B., Powers, J., Dos Santos, T., ... & Park, H. J. (2012). Metformin kills and radiosensitizes cancer cells and preferentially kills cancer stem cells. *Scientific reports*, 2, 362.

- (98) Duru, N., Fan, M., Candas, D., Menea, C., Liu, H. C., Nantajit, D., ... & Li, J. J. (2012). HER2-associated radioresistance of breast cancer stem cells isolated from HER2-negative breast cancer cells. *Clinical cancer research*, *18*(24), 6634-6647.
- (99) Lagadec, C., Vlashi, E., Della Donna, L., Dekmezian, C., & Pajonk, F. (2012). Radiation-induced reprogramming of breast cancer cells. *Stem cells*, *30*(5), 833-844.
- (100) Gao, X., Sishc, B. J., Nelson, C. B., Hahnfeldt, P., Bailey, S. M., & Hlatky, L. (2016). Radiation-induced reprogramming of pre-senescent mammary epithelial cells enriches putative CD44+/CD24-/low stem cell phenotype. *Frontiers in oncology*, *6*, 138.
- (101) Li, F., Zhou, K., Gao, L., Zhang, B., Li, W., Yan, W., ... & Jiang, Q. (2016). Radiation induces the generation of cancer stem cells: A novel mechanism for cancer radioresistance. *Oncology letters*, *12*(5), 3059-3065.
- (102) Jiao, Y., N Hannafon, B., & Ding, W. Q. (2016). Disulfiram's anticancer activity: Evidence and mechanisms. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, *16*(11), 1378-1384.
- (103) Yan, Y., Li, Z., Xu, X., Chen, C., Wei, W., Fan, M., ... & Huang, J. (2016). All-trans retinoic acids induce differentiation and sensitize a radioresistant breast cancer cells to chemotherapy. *BMC complementary and alternative medicine*, *16*(1), 1-11.
- (104) Pham, P. V., Phan, N. L., Nguyen, N. T., Truong, N. H., Duong, T. T., Le, D. V., ... & Phan, N. K. (2011). Differentiation of breast cancer stem cells by knockdown of CD44: promising differentiation therapy. *Journal of translational medicine*, *9*(1), 209.
- (105) Kim, R. K., Uddin, N., Hyun, J. W., Kim, C., Suh, Y., & Lee, S. J. (2015). Novel anticancer activity of phloroglucinol against breast cancer stem-like cells. *Toxicology and applied pharmacology*, *286*(3), 143-150.
- (106) Kim, R. K., Cui, Y. H., Yoo, K. C., Kim, I. G., Lee, M., Choi, Y. H., ... & Lee, S. J. (2015). Radiation promotes malignant phenotypes through SRC in breast cancer cells. *Cancer science*, *106*(1), 78-85.
- (107) Jeong, Y., Swami, S., Krishnan, A. V., Williams, J. D., Martin, S., Horst, R. L., ... & Diehn, M. (2015). Inhibition of mouse breast tumor-initiating cells by calcitriol and dietary vitamin D. *Molecular cancer therapeutics*, *14*(8), 1951-1961.

- (108) Sims-Mourtada, J., Opdenaker, L. M., Davis, J., & Wu, C. (2015). Long-term, low dose genistein decreases stem cell populations and sensitizes inflammatory breast cancer cell lines to radiation. *Cancer Stud Mol Med*, 2, 60-5.
- (109) He, L., Gu, J., Lim, L. Y., Yuan, Z. X., & Mo, J. (2016). Nanomedicine-mediated therapies to target breast cancer stem cells. *Frontiers in pharmacology*, 7, 313.
- (110) Burke, A. R., Singh, R. N., Carroll, D. L., Wood, J. C., D'Agostino Jr, R. B., Ajayan, P. M., ... & Torti, S. V. (2012). The resistance of breast cancer stem cells to conventional hyperthermia and their sensitivity to nanoparticle-mediated photothermal therapy. *Biomaterials*, 33(10), 2961-2970.
- (111) Atkinson, R. L., Zhang, M., Diagaradjane, P., Peddibhotla, S., Contreras, A., Hilsenbeck, S. G., ... & Rosen, J. M. (2010). Thermal enhancement with optically activated gold nanoshells sensitizes breast cancer stem cells to radiation therapy. *Science translational medicine*, 2(55), 55ra79-55ra79.
- (112) Wu, Y., & Zhou, B. P. (2010). Snail: more than EMT. *Cell adhesion & migration*, 4(2), 199-203.
- (113) Wu, Y. D., & Zhou, B. P. (2010). TNF- α /NF- κ B/Snail pathway in cancer cell migration and invasion. *British journal of cancer*, 102(4), 639-644.
- (114) Parker, B. S., Argani, P., Cook, B. P., Liangfeng, H., Chartrand, S. D., Zhang, M., ... & Nacht, M. (2004). Alterations in vascular gene expression in invasive breast carcinoma. *Cancer research*, 64(21), 7857-7866.
- (115) Chen, W., Wang, H., Tang, Y., Liu, C., Li, H., & Li, W. (2010). Multidrug resistance in breast cancer cells during epithelial-mesenchymal transition is modulated by breast cancer resistant protein. *Chin J Cancer*, 29(2), 151-157.
- (116) Dave, N., Guaita-Esteruelas, S., Gutarra, S., Frias, A., Beltran, M., Peiro, S., & Herreros, A. G. (2011). Functional cooperation between Snail1 and twist in the regulation of ZEB1 expression during epithelial to mesenchymal transition. *Journal of Biological Chemistry*, 286(14), 12024-12032.
- (117) Stefani, G., & Slack, F. J. (2008). Small non-coding RNAs in animal development. *Nature reviews Molecular cell biology*, 9(3), 219-230.
- (118) Wang, Y., & Zhou, B. P. (2013). Epithelial-mesenchymal transition—a hallmark of

breast cancer metastasis. *Cancer hallmarks*, 1(1), 38-49.

(119) Gregory, P. A., Bert, A. G., Paterson, E. L., Barry, S. C., Tsykin, A., Farshid, G., ... & Goodall, G. J. (2008). The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1. *Nature cell biology*, 10(5), 593-601.

(120) Thiery, J. P., & Sleeman, J. P. (2006). Complex networks orchestrate epithelial–mesenchymal transitions. *Nature reviews Molecular cell biology*, 7(2), 131-142.

(121) Huber, M. A., Kraut, N., & Beug, H. (2005). Molecular requirements for epithelial–mesenchymal transition during tumor progression. *Current opinion in cell biology*, 17(5), 548-558.

(122) Heldin, C. H., Landström, M., & Moustakas, A. (2009). Mechanism of TGF- β signaling to growth arrest, apoptosis, and epithelial–mesenchymal transition. *Current opinion in cell biology*, 21(2), 166-176.

(123) Katsuno, Y., Lamouille, S., & Derynck, R. (2013). TGF- β signaling and epithelial–mesenchymal transition in cancer progression. *Current opinion in oncology*, 25(1), 76-84.

(124) Balanis, N., Wendt, M. K., Schiemann, B. J., Wang, Z., Schiemann, W. P., & Carlin, C. R. (2013). Epithelial to mesenchymal transition promotes breast cancer progression via a fibronectin-dependent STAT3 signaling pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 288(25), 17954-17967.

(125) Tournigand, C. (2008). Academy of Sciences of the USA. *Nat Cell Biol*, 10, 295-305.

(126) Wang, Y., & Zhou, B. P. (2013). Epithelial-mesenchymal transition—a hallmark of breast cancer metastasis. *Cancer hallmarks*, 1(1), 38-49.

(127) Katsuno, Y., Lamouille, S., & Derynck, R. (2013). TGF- β signaling and epithelial–mesenchymal transition in cancer progression. *Current opinion in oncology*, 25(1), 76-84.

(128) Reiman, J. M., Knutson, K. L., & Radisky, D. C. (2010). Immune promotion of epithelial-mesenchymal transition and generation of breast cancer stem cells. *Cancer research*, 70(8), 3005-3008.

(129) Gupta, P. B., Chaffer, C. L., & Weinberg, R. A. (2009). Cancer stem cells: mirage or reality? *Nature medicine*, 15(9), 1010-1012.

(130) Singh, S. K., Hawkins, C., Clarke, I. D., Squire, J. A., Bayani, J., Hide, T., ... & Dirks, P. B. (2004). Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature*, 432(7015), 396-401.

(131) Krivtsov, A. V., Twomey, D., Feng, Z., Stubbs, M. C., Wang, Y., Faber, J., ... & Golub, T. R. (2006). Transformation from committed progenitor to leukaemia stem cell initiated by MLL–AF9. *Nature*, 442(7104), 818-822.

(132) Ginestier, C., Korkaya, H., Dontu, G., Birnbaum, D., Wicha, M. S., & Charafe-Jauffret,

- E. (2007). La cellule souche cancéreuse-Un pilote aux commandes du cancer du sein. *médecine/sciences*, 23(12), 1133-1140.
- (133) Polyak, K., & Hahn, W. C. (2006). Roots and stems: stem cells in cancer. *Nature medicine*, 12(3), 296-300.
- (134) Shipitsin, M., & Polyak, K. (2008). The cancer stem cell hypothesis: in search of definitions, markers, and relevance. *Laboratory Investigation*, 88(5), 459-463.
- (135) Ponti, D., Costa, A., Zaffaroni, N., Pratesi, G., Petrangolini, G., Coradini, D., ... & Daidone, M. G. (2005). Isolation and in vitro propagation of tumorigenic breast cancer cells with stem/progenitor cell properties. *Cancer research*, 65(13), 5506-5511.
- (136) Hollier, B. G., Evans, K., & Mani, S. A. (2009). The epithelial-to-mesenchymal transition and cancer stem cells: a coalition against cancer therapies. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 14(1), 29-43.
- (137) Mani, S. A., Guo, W., Liao, M. J., Eaton, E. N., Ayyanan, A., Zhou, A. Y., ... & Campbell, L. L. (2008). The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell*, 133(4), 704-715.
- (138) Singh, A., & Settleman, J. E. M. T. (2010). EMT, cancer stem cells and drug resistance: an emerging axis of evil in the war on cancer. *Oncogene*, 29(34), 4741-4751.
- (139) Herschkowitz, J. I., Zhao, W., Zhang, M., Usary, J., Murrow, G., Edwards, D., ... & Hilsenbeck, S. G. (2012). Comparative oncogenomics identifies breast tumors enriched in functional tumor-initiating cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(8), 2778-2783.
- (140) Iliopoulos, D., Lindahl-Allen, M., Polytarchou, C., Hirsch, H. A., Tsihchlis, P. N., & Struhl, K. (2010). Loss of miR-200 inhibition of Suz12 leads to polycomb-mediated repression required for the formation and maintenance of cancer stem cells. *Molecular cell*, 39(5), 761-772.
- (141) Bill, R., & Christofori, G. (2015). The relevance of EMT in breast cancer metastasis: Correlation or causality?. *FEBS letters*, 589(14), 1577-1587.
- (142) Liu, Z., Li, M., Jiang, Z., & Wang, X. (2018). A comprehensive immunologic portrait of triple-negative breast cancer. *Translational oncology*, 11(2), 311-329.
- (143) Ding, M. J., Su, K. E., Cui, G. Z., Yang, W. H., Chen, L., Yang, M., ... & Dai, D. L. (2016). Association between transforming growth factor- β 1 expression and the clinical features of triple negative breast cancer. *Oncology letters*, 11(6), 4040-4044.
- (144) Prat, A., & Perou, C. M. (2009). Mammary development meets cancer genomics. *Nature medicine*, 15(8), 842-844.

(145) Prat, A., Parker, J. S., Karginova, O., Fan, C., Livasy, C., Herschkowitz, J. I., ... & Perou, C. M. (2010). Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. *Breast cancer research*, 12(5), R68.

(146) Creighton, C. J., Li, X., Landis, M., Dixon, J. M., Neumeister, V. M., Sjolund, A., ... & Fan, C. (2009). Residual breast cancers after conventional therapy display mesenchymal as well as tumor-initiating features. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(33), 13820-13825.

(147) Thiery, J. P., Acloque, H., Huang, R. Y., & Nieto, M. A. (2009). Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *cell*, 139(5), 871-890.

Article A

(148) Andersson, E. R., & Lendahl, U. (2014). Therapeutic modulation of Notch signalling— are we there yet?. *Nature reviews Drug discovery*, 13(5), 357-378.

(149) Ogawa, Y., Kubota, K., Aoyama, N., Yamanishi, T., Kariya, S., Hamada, N., ... & Miyamura, M. (2015). Non-surgical breast-conserving treatment (KORTUC-BCT) using a new radiosensitization method (KORTUC II) for patients with stage I or II breast cancer. *Cancers*, 7(4), 2277-2289.

(150) Zhang, X., Lin, S. H., Fang, B., Gillin, M., Mohan, R., & Chang, J. Y. (2013). Therapy-resistant cancer stem cells have differing sensitivity to photon versus proton beam radiation. *Journal of Thoracic Oncology*, 8(12), 1484-1491.