



Etude du rôle du corégulateur transcriptionnel RIP140 dans le métabolisme glucidique et la différenciation des cellules cancéreuses

Valentin Jacquier

► To cite this version:

Valentin Jacquier. Etude du rôle du corégulateur transcriptionnel RIP140 dans le métabolisme glucidique et la différenciation des cellules cancéreuses. Sciences agricoles. Université Montpellier, 2020. Français. NNT : 2020MONTT084 . tel-03340471

HAL Id: tel-03340471

<https://theses.hal.science/tel-03340471>

Submitted on 10 Sep 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Biologie Santé

École doctorale CBS2 N°168

Unité de recherche IRCM INSERM U1194

Etude du rôle du corégulateur transcriptionnel RIP140 dans le métabolisme glucidique et la différenciation des cellules cancéreuses

Présentée par Valentin JACQUIER

Le 17 décembre 2020

Sous la direction de Stéphane Jalaguier
et Catherine Teyssier

Devant le jury composé de

Eric SOLER, DR, IGMM CNRS-UMR 5535

Jean-Max PASQUET, DR, BMGIC U1035 INSERM

Marie-Luce VIGNAIS, CR, IRMB INSERM U1183

Stéphane JALAGUIER, CR, IRCM INSERM U1194

Laurent YVAN-CHARVET, DR, C3M INSERM U1065

Chantal THIBERT, CR, Centre de Recherche UGA / Inserm U 1209 / CNRS UMR 5309

Président de Jury

Examineur

Examineur

Directeur de thèse

Rapporteur

Rapporteur



UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER

REMERCIEMENTS

Je tiens ici à remercier toutes les personnes qui ont rendu cette thèse possible.

Je remercie d'abord tous les membres du jury : **Dr. Jean-Max Pasquet, Dr. Laurent Yvan-Charvet, Dr. Chantal Thibert, Dr. Éric Soler** et **Dr. Marie-Luce Vignais** pour avoir pris le temps de juger ce travail.

Mes remerciements s'adressent ensuite à ma directrice de thèse **Dr. Catherine Teyssier** pour son encadrement généreux tout au long de ma thèse. Merci de m'avoir accompagné depuis le début et transmis ton savoir. Merci d'avoir trouvé la patience pour m'aider cette dernière année. Merci pour tout.

Je souhaite remercier sincèrement les Docteurs **Jean-Emmanuel Sarry, Jérôme Tamburini** et **Sandrina Kinet** d'avoir suivi et encouragé la progression de ce travail en qualité de membres du comité de suivi de thèse.

Je remercie également tous les membres de l'équipe SHeC ainsi que le personnel de l'IRCM qui ont contribué à rendre ces années de travail si agréables !

Vincent, merci d'avoir accepté de m'accueillir dans ton équipe. Merci également pour ton expertise scientifique et les conseils que tu as pu me transmettre tout au long de cette thèse.

Marion et **Stéphan**, je vous remercie infiniment pour le temps que vous m'avez consacré lors de mes sollicitations et pour vos conseils scientifiques au cours de nos réunions d'équipe. Je vous remercie également pour tous les repas que nous avons partagé et où nous avons pu échanger nos bonnes blagues et autres anecdotes culturelles.

Abdel, merci pour tous ces bons moments partagés à la paillasse. Je reviendrai te passer du funk et de la soul dans le laboratoire !

Sandrine, je sais que tous les thésards qui sortent de cette équipe le disent, mais tu as vraiment été comme une deuxième maman pour moi aussi. Merci pour toute l'aide, les soutiens (les plantes) que tu m'as apportés et j'espère qu'on se reverra vite.

Nour et **Sam**, merci d'avoir égayé ma première année de thèse. Je pense que nos fous rires nous ont tous fait du bien, peut-être moins aux autres.

Habib, merci de m'avoir rassuré sur le déroulé de la thèse grâce à ton flegme légendaire et d'avoir partagé tes connaissances de chimiste.

Yannick et Antoine, merci les gars pour tous ces agréables moments en culture et au badminton. Vous m'avez aidé à tenir pendant toute cette troisième année. Je reviendrais vite ne vous inquiétez pas, j'aurais peur de vous manquer.

J'aimerais également remercier tous les doctorants qui ont commencé l'aventure en même temps que moi. Malgré les manip, nous avons quand même réussi à organiser de belles choses ensemble (je pense à la 10^{ème} JET et la raclette géante entre autres) et j'apprécie toujours de vous croiser au détour d'un couloir pour discuter de l'avancée de la thèse.

J'aimerais enfin remercier l'IRCM pour m'avoir accueilli pendant ces trois années, l'équipe pédagogique de l'UM pour leur accueil chaleureux lors de mes heures de monitorat, ainsi que le ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche pour avoir financé ces travaux.

Parce que rien n'aurait été possible sans le soutien de mes proches :

A toute **la dream team** de Ploemeur, vous êtes bien trop nombreux pour que je vous nomme tous, mais vous vous reconnaitrez. Merci à vous tous, vous avez été mon ciment pendant ces trois années et j'ai chéri tous les moments où on a pu se voir. Vous m'avez soutenu jusqu'au bout et je me réjouis du fait que j'aurais encore plus l'occasion de vous voir quand j'aurais terminé. *A tantôt en Bretagne !*

A mes amis de Brest, **Pierre et Lucille**. Je ne pensais pas rencontrer des personnes aussi belles durant mes études, et je me réjouis à chacune de nos retrouvailles que l'on soit resté en contact.

A tous mes amis de Montpellier, que ça soit du master ou de la thèse. Merci d'avoir rendu ces 5 ans dans le sud si agréables. Je suis chanceux de vous avoir trouvés et le soutien que vous m'avez apporté m'a permis d'arriver là où j'en suis aujourd'hui. Merci à tous, et bon courage à ceux qui termineront l'année prochaine ou les années d'après, vous êtes les bienvenus en Bretagne quand vous voulez !

Pour terminer j'aimerais remercier les membres de ma famille. Mes frères d'abord, **Pierre-Vincent et Alexis**. Merci pour tout, je vous dois énormément sur beaucoup de choses. Etant le petit dernier vous avez été mes modèles, et quels bons modèles (peut-être pas pour tout dira Maman) ! Vous êtes les personnes avec qui je ris le plus et j'espère rire pendant encore longtemps à vos côtés !

A **mes parents**. Merci pour tout, je vais être cliché mais vous êtes la raison de ma réussite et de là où j'en suis aujourd'hui. Vous m'avez donné le goût d'apprendre et d'être curieux, vous m'avez entouré d'amour et soutenu dans mes choix. Vous avez été patient avec moi et je n'aurais pas assez d'une vie pour vous rendre tous ce que vous m'avez apporté.

Préambule

Les cancers représentent la 2^{ème} cause de mortalité dans le monde et entraîné 8,7 millions de morts en 2015. Ces dernières années les travaux de recherche ont permis de grandes avancées sur la compréhension des mécanismes entraînant le développement de ces maladies mais également leur résistance aux traitements. Ceci a permis le développement de thérapies dites ciblées, permettant de prodiguer le bon traitement au bon patient. Cependant de nombreuses parts d'ombre subsistent dans de nombreux cancers pour lesquels l'arsenal thérapeutique reste restreint, soulignant le besoin continu de nouvelles cibles diagnostiques et thérapeutiques dans ce domaine.

L'équipe Signalisation Nucléaire et Cancer, dirigée par le docteur Vincent Cavailles, s'intéresse aux différentes implications du corégulateur transcriptionnel RIP140 tant au niveau physiologique qu'au niveau cancéreux, notamment dans les cancers gastro-intestinaux et mammaires. A ce jour, RIP140 représente un marqueur pronostique dans le cancer du côlon ainsi que le cancer du sein. Le but de mon travail de thèse a été d'étudier le rôle de RIP140 dans la régulation du métabolisme glucidique et la différenciation des cellules cancéreuses. Ce projet a été financé pendant trois ans par une bourse ministérielle obtenue auprès de l'école doctorale CBS2.

Afin d'assurer une bonne compréhension de mes travaux de thèse, vous trouverez d'abord dans l'introduction, une étude bibliographique portant sur le corégulateur transcriptionnel RIP140, les leucémies aiguës myéloïdes et enfin le métabolisme des cellules cancéreuses. A la suite, une première partie de résultats portant sur la régulation du métabolisme glucidique des cellules cancéreuses par RIP140 *via* un dialogue entre p53 et HIF2 α sous la forme d'un article en cours de soumission. Une deuxième partie de résultats portera sur le contrôle de la prolifération et de la différenciation induite par l'ATRA des cellules de leucémies aiguës myéloïdes par RIP140. L'ensemble de mes résultats sera enfin discuté dans la dernière partie avec une mise en perspective.

Table des matières

Liste des figures et tableaux	1
Liste des abréviations	2
INTRODUCTION	5
1. Le corégulateur transcriptionnel RIP140	7
1.1 Présentation de RIP140	7
1.2 Fonctions physiologiques	14
1.3 Implication dans la cancérogenèse	24
2. Les Leucémies Aiguës Myéloïdes	33
2.1 Généralités	33
2.2 Diagnostic	33
2.3 Etiologie et facteurs de risques	34
2.4 Physiopathologie	35
2.5 Classification	37
2.6 Pronostic	39
2.7 Traitements	41
3. Le métabolisme des cellules cancéreuses	48
3.1 Généralités	48
3.2 Les différentes voies métaboliques cellulaires	49
3.3 le métabolisme des cellules cancéreuses	54
3.4 L'effet Warburg	60
OBJECTIFS DE LA THESE	73
RESULTATS	74
1) Inhibition de la prolifération dépendante de la glycolyse par RIP140 grâce à une régulation du dialogue transcriptionnel entre le facteur induit par l'hypoxie et p53	74
a) Introduction	74
b) Article	76

2) RIP140 contrôle la prolifération des cellules leucémiques <i>via</i> une augmentation de l'apoptose et contre les effets de l'ATRA	155
a) Introduction	155
b) Article	157
DISCUSSION ET PERSPECTIVES	192
Bibliographie	199

Liste des figures et tableaux

Figure 1 : The hallmarks of cancer	5
Figure 2 : Interactome de RIP140	8
Figure 3 : Schématisation des différentes modifications post-traductionnelles de RIP140	9
Figure 4 : RIP140 inhibe la translocation à la membrane de GLUT4	18
Figure 5 : Rôle de l'expression de RIP140 dans la balance entre les macrophages de types M1 et M2	20
Figure 6 : exemple de recombinaison tissulaire entre l'épithélium de glande mammaire et le mésenchyme de glande salivaire	22
Figure 7 : Schématisation de la voie Wnt	27
Figure 8 : Les différentes lignées hématopoïétiques et leurs cancers	30
Figure 9 : Les différentes classes de mutation responsables du développement des AML	35
Figure 10 : Mode d'action des anthracyclines	41
Figure 11 : Tomographie par émission de positrons	48
Figure 12 : La glycolyse	50
Figure 13 : La voie des pentoses phosphates	51
Figure 14 : le cycle de Krebs	52
Figure 15 : chaîne respiratoire mitochondriale	53
Figure 16 : métabolisme de la proline	55
Figure 17 : La voie des pentoses phosphates dans un contexte cancéreux	58
Figure 18 : Résumé des voies métaboliques de l'effet Warburg	60
Figure 19 : les régulateurs de l'expression et du fonctionnement des transporteurs GLUT1 et GLUT3	61
Figure 20 : La voie de signalisation Akt et ses effets sur le métabolisme cellulaire	63
Figure 21 : Régulation de l'effet Warburg par les membres de la famille p53 et leurs mutants	67
Figure 22 : Dégradation ou stabilisation de HIF1-α en fonction du taux d'oxygène	68
Figure 23 : Les régulations de l'effet Warburg par le facteur HIF-1	69
Figure 24 : Modèle de l'interférence entre p53 et HIF-1α.	70
Tableau 1 : Expression de RIP140 dans différentes cellules hématopoïétiques	31
Tableau 2 : Classification FAB des AMLs	37
Tableau 3 : Classification des AML mise à jour en 2016 par l'organisation mondiale de la santé	38
Tableau 4 : Classification des catégories de risque en fonction du caryotype et des mutations	40

Liste des abréviations

Acétyl-coA	Acétyl-coenzyme A
ADC	<i>Antibody-drug conjugate</i>
AF	<i>Activation fuction</i>
AG	Acides gras
Ahr	<i>Aryl hydrocarbon receptor</i>
AML	Leucémies aiguës myéloïdes
AMPK	<i>AMP-activated protein kinase</i>
APL	Leucémies aiguës promyélocitaires
AR	Récepteurs des androgènes
ATO	Arsenic trioxide
ATP	Adénosine triphosphate
ATRA	<i>All-trans retinoic acid</i>
CIDEA	<i>Cell Death Inducing DFFA Like Effector A</i>
CR	Rémission complète
CtBP	<i>Carboxyl terminal binding protein</i>
DBP	<i>D Site of albumin promoter (albumin D-Box) binding protein</i>
E2	17 β -estradiol
ELN	European Leukemia Network
ER	Estrogen receptor
ERR	<i>Estrogen related receptor</i>
ERR	<i>Estrogen receptor-related receptors</i>
FAD	Flavine adénine dinucléotide
FLAG-IDA	Combinaison Fludarabine, Cytarabine, Idarubicin et G-CSF
FLT3	<i>Fms-like tyrosine kinase 3</i>
FMN	Flavine mononucléotide
G6P	Glucose-6-phosphate
G6PD	Glucose-6-phosphate déshydrogénase
G6PDH	Glucose-6-phosphate déshydrogénase
G-CSF	Facteur de stimulation des colonies de granulocytes
GO	Gemtuzumab ozogamicin
GR	Récepteur des glucocorticoïdes

HDAC	Histones désacétylases
HIF	Facteurs inductibles par l'hypoxie
Hk	Hexokinase
IDH	Isocitrates déshydrogénases
IDH1	Isocitrate déshydrogénase 1
LLC	Leucémie lymphoïde chronique
LXR	<i>Liver X receptor</i>
MDM2	<i>Murine double minute 2</i>
MEF	<i>Mouse embryonic fibroblasts</i>
mtDNA	ADN mitochondrial
NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide
NFS	Numération de la formule sanguine
NF-κB	<i>Nuclear factor-kappa b</i>
NK	Natural killer
OXPHOS	Phosphorylation oxydative
PDK	<i>Pyruvate dehydrogenase kinase</i>
PDK1	<i>Pyruvate dehydrogenase kinase isoform 1</i>
PDK2	<i>Pyruvate dehydrogenase kinase isoform 2</i>
PGC-1α	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha</i>
PGR	Récepteur de la progestérone
PKM1	<i>Pyruvates kinases type M1</i>
PKM2	<i>Pyruvate kinase type M2</i>
PPAR	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor</i>
PPP	Voie des pentoses phosphates
R5P	Ribose 5-phosphate
RA	Acide rétinoïque
RAR	Récepteur de l'acide rétinoïque ou <i>Retinoic acid receptor</i>
RD	Domaines répresseurs
RN	Récepteurs nucléaires
ROR	<i>RAR-related orphan receptor</i>
ROS	Espèces réactives de l'oxygène
RXR	Récepteur X des rétinoïdes
s-AML	<i>Secondary AML</i>
t-AML	<i>Therapy-related myeloid leukemia</i>
TIGAR	<i>TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator</i>

TR	Récepteur des hormones thyroïdiennes
TRM	Mortalité liée au traitement
UCP1	UCP1

INTRODUCTION

Le cancer est une pathologie qui semble moderne et liée à une société industrialisée. Elle est pourtant bien plus ancienne puisque l'on retrouve des traces d'ostéosarcomes sur des fossiles de dinosaures *Centrosaurus* vieux de 75 millions d'années (Ekhtiari et al. 2020). Chez les hominidés, on retrouve également des traces d'ostéosarcomes datées entre 1,6 et 1,8 millions d'années dans la région du Swartkrans en Afrique du Sud (Odes et al. 2016). Pour l'homme, les plus anciennes traces écrites remontent au papyrus dit « d'Edwin Smith », daté de 3000 ans avant J.C, dans lequel l'auteur y fait la description de 8 cas de tumeurs pour lesquelles « il n'y a pas de traitement », mais sans toutefois

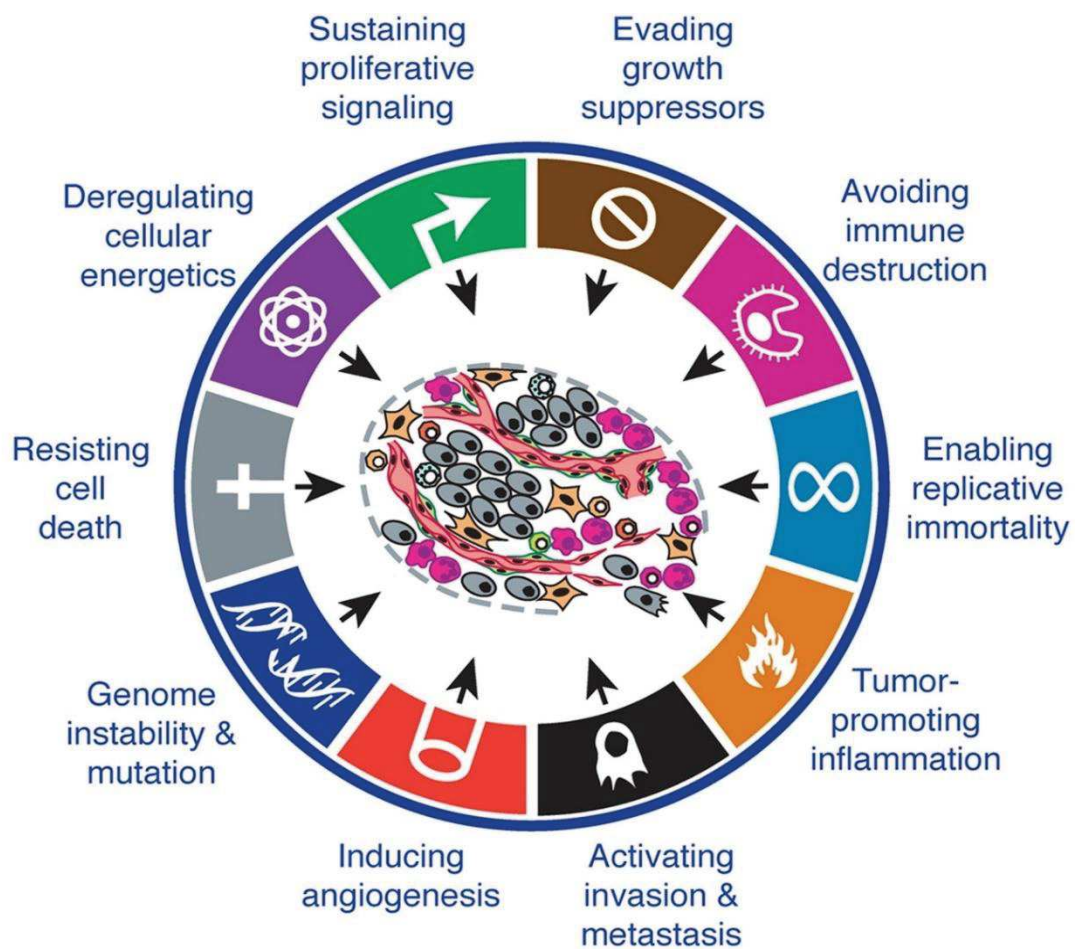


Figure 1 : The hallmarks of cancer

Adapté de Hanahan et Weinberg 2011

utiliser le mot cancer (Hajdu 2011). En effet la paternité du mot « cancer » revient à Hippocrate, qui décrivait, entre le 5^{ème} et le 4^{ème} siècle avant JC, les tumeurs du sein comme ayant un aspect de crabe, « Krakinos » en grec ou « cancer » en latin. Depuis, la médecine et la recherche ont grandement avancé, et un autre manuscrit fera peut-être date comme le papyrus d'Edwin Smith, c'est celui de

Douglas Hanahan et Robert Weinberg (*Hanahan et Weinberg 2000*). Dans cet article, les deux chercheurs y font l'inventaire des caractéristiques des cellules cancéreuses ou « *Hallmarks of cancer* » dans la langue de Shakespeare. Ces différentes caractéristiques sont causées par l'accumulation d'altérations génétiques et épigénétiques dérégulant les différentes fonctions biologiques de la cellule et l'amenant à devenir cancéreuse. Elles correspondent à l'autostimulation de la prolifération cellulaire ainsi que l'échappement aux inhibiteurs de celle-ci, l'activation de l'invasion cellulaire et donc l'apparition de métastases, la résistance à l'apoptose ainsi qu'à la mort répliquative et enfin l'induction de la vascularisation, ou angiogenèse. Par la suite, avec les progrès de la recherche, Hanahan et Weinberg ont pu ajouter quatre autres caractéristiques aux cellules cancéreuses :

- Deux à l'origine du développement tumoral et le favorisant, appelées « *enabling characteristics* », que sont l'instabilité génétique et l'inflammation.
- Deux autres caractéristiques que sont l'échappement au système immunitaire et la reprogrammation métabolique à laquelle je m'intéresserai dans le troisième chapitre.

Ces caractéristiques sont régulées par des facteurs de transcription, des kinases, des enzymes métaboliques, mais également des corégulateurs transcriptionnels, tel RIP140, comme nous allons le voir ci-après, dont l'expression et/ou l'activité est modifiée dans un contexte cancéreux.

1. Le corégulateur transcriptionnel RIP140

1.1 Présentation de RIP140

1.1.1 Mise en évidence

Les récepteurs nucléaires (RN) forment une famille de facteurs de transcription dont l'activité est régulée par des ligands. Ces ligands peuvent être des hormones (œstrogènes, progestérone, etc) mais également des molécules liposolubles comme l'acide rétinoïque ou les oxystérols. Ces ligands se fixent sur le domaine de liaison au ligand (*Ligand Binding Domain* ou LBD) situé en C-terminal des RN. Les RN interagissent directement avec l'ADN au niveau de séquences nucléotidiques spécifiques, les *Hormones Responsive Elements* (HRE), grâce à leur domaine central de liaison à l'ADN, le *DNA Binding Domain* (DBD). Cette liaison directe leur permet de réguler positivement ou négativement l'expression des gènes en fonction de la séquence de fixation mais aussi des protéines avec lesquels ils interagissent. Dans les années 90, Les équipes de recherche travaillant sur les RN ont donc cherché à identifier les différents partenaires se liant à ces récepteurs et agissant sur leur activité transcriptionnelle.

Parmi les récepteurs nucléaires étudiés, figuraient les récepteurs des œstrogènes (*Estrogen Receptor* ou ER). L'activité de ces récepteurs est régulée par deux régions activatrices :

- la région AF1 (*activation function 1*) située en N-terminal dont la transactivation n'est pas dépendante de la fixation du ligand
- la région AF2 (*activation function 2*) située dans le domaine de liaison du ligand dont la fixation de ce dernier est nécessaire à sa transactivation.

Cette dernière région est hautement conservée dans la famille des RN et est essentielle à l'activation de la transcription. Différentes protéines interagissant avec les ER ont été identifiées à cette époque grâce à des techniques d'études d'interactions protéine-protéine *in vitro*, tel que le GST-Pulldown ou le Far-Western Blot. C'est ainsi que l'équipe du Dr Parker a mis en évidence une protéine de 140 kDa interagissant spécifiquement avec le domaine AF2 du récepteur des œstrogènes. Appelée RIP140 pour *Receptor Interacting Protein of 140 kDa* ou NRIP1 pour *Nuclear Interacting Protein 1* (Cavallès et al. 1994). Cette protéine est l'un des premiers cofacteurs transcriptionnels à avoir été isolé et a depuis été identifiée comme interagissant avec de nombreux RN et facteurs de transcription.

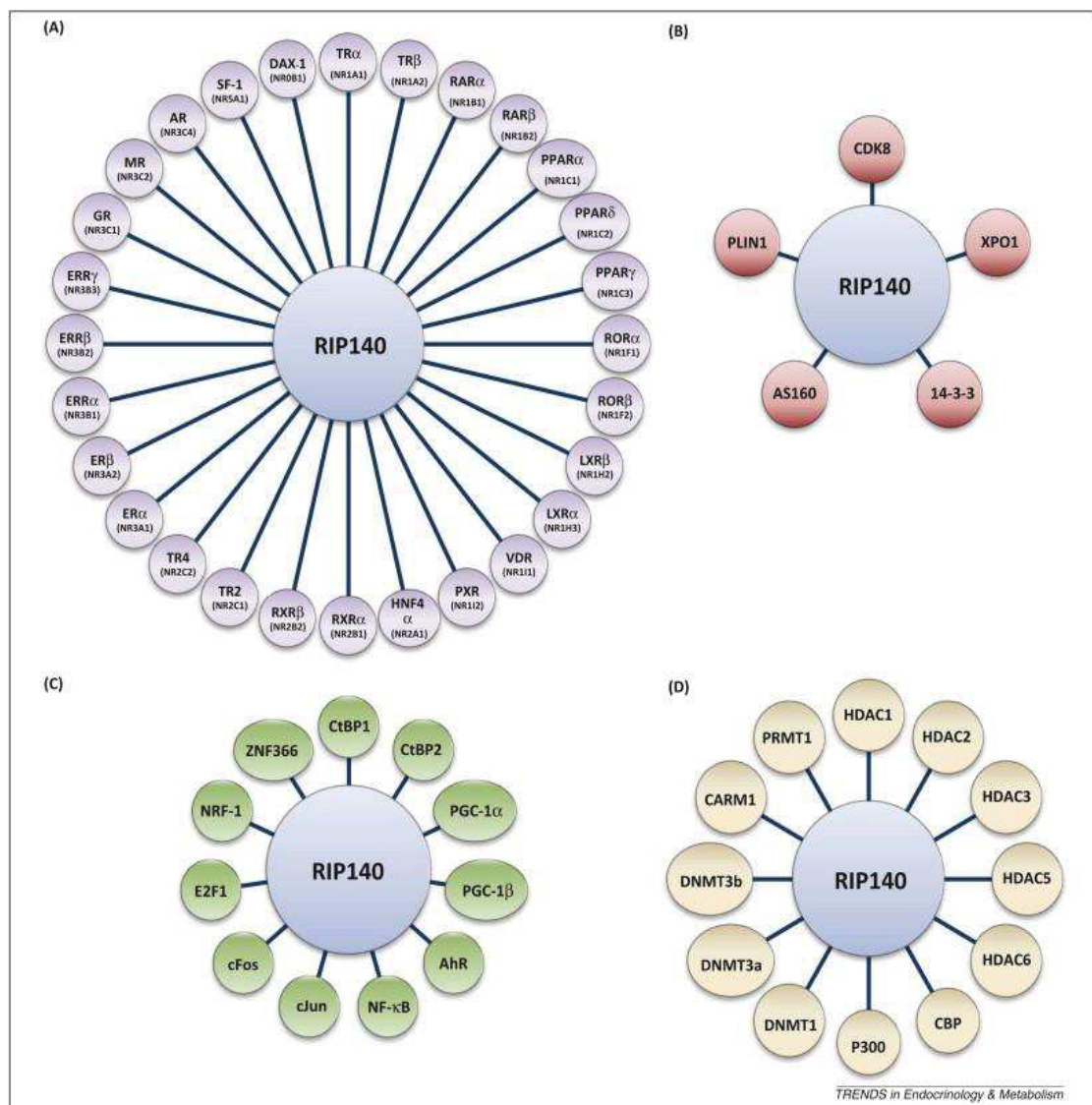


Figure 4 : Interactome de RIP140

(A) Interaction avec différents récepteurs nucléaires (B) Interaction avec les protéines (C) Interactions avec les facteurs de transcriptions (D) Interactions avec les protéines modifiantes les histones ou l'ADN

(Nautiyal, Christian, et Parker 2013)

1.2.2 Structure

RIP140 est une protéine de 1158 acides aminés dont le gène est situé dans la région q11.2 du chromosome 21 humain et dont la séquence est relativement conservée entre les espèces (83% d'homologie avec la forme murine de la protéine).

Exprimée de manière ubiquitaire chez l'homme, la localisation subcellulaire de RIP140 est principalement nucléaire grâce à deux séquences de localisation nucléaire (NLS). L'une, monopartite et située au niveau de l'acide aminé 97 (KRKR) et l'autre, bipartite et située en position 856 (KKRKx10KKMK).

De nombreux domaines fonctionnels ont été identifiés au cours du temps, notamment grâce à des expériences de mutagenèse. Parmi ces domaines, on trouve neuf *nuclear-receptor-interacting boxes*, composés de motifs LxxLL, répartis sur toute la molécule (Heery et al. 1997). De manière intéressante, ces motifs interagissent préférentiellement avec les différents récepteurs nucléaires. Ainsi le récepteur des hormones thyroïdiennes β (TR β) interagit avec les motifs 3, 5 et 8 (Moore et al. 2004) alors que le récepteur des glucocorticoïdes (GR), ER α et le récepteur de l'acide rétinoïque α (RAR α) interagissent avec le motif 6 (Heery et al. 1997). Enfin, la protéine est également dotée d'un

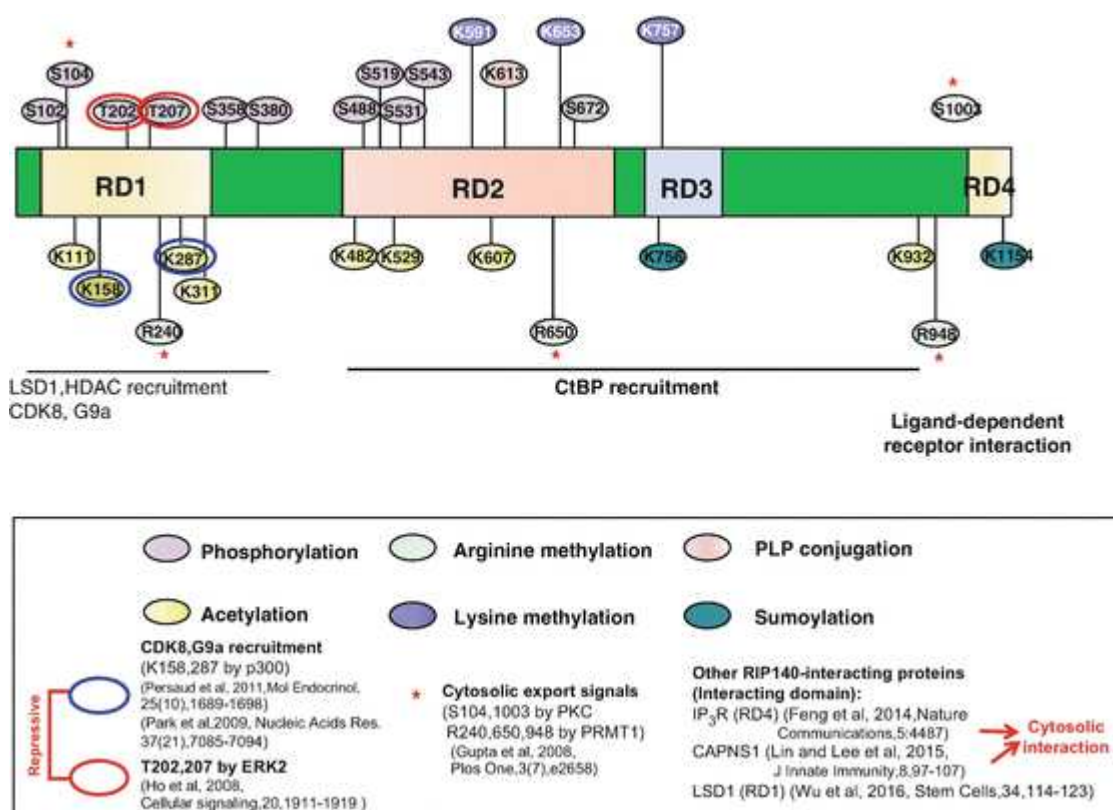


Figure 5 : Schématisation des différentes modifications post-traductionnelles de RIP140

(Lee, Ho, et Wei 2018)

motif LxxML, situé entre les acides aminés 1070 et 1074, lui permettant d'interagir spécifiquement avec le récepteur RAR et le récepteur X des rétinoïdes (RXR) (Wei 2004).

D'un autre côté, RIP140 possède 4 domaines répresseurs (RD) lui permettant de réprimer l'expression de ses gènes cibles (Castet et al. 2004) (Christian, Tullet, et Parker 2004). Le premier RD est situé entre les acides aminés 27 et 199 et permet le recrutement des Histones désacétylases (HDAC) de classe I et II. Le second est quant à lui situé entre les acides aminés 429 et 739 et permet d'interagir avec des CtBP (*Carboxyl terminal binding protein*) grâce à deux motifs PIDLS et PINLS. Ces deux types de protéines permettent un remodelage de la chromatine par modifications post-traductionnelles des histones qui résulte dans la répression de la transcription des gènes. Enfin, les deux derniers domaines répresseurs sont situés dans la région carboxyl-terminale de la protéine, entre les acides aminés 753 et 804 pour le RD3 et 1118 et 1158 pour le RD4. Cependant, ils n'ont pas d'effecteurs connus à ce jour, même si leur action répressive semble être liée aux modifications post-traductionnelles de la protéine.

1.2.3 Régulation de l'expression de RIP140

Sa séquence codante a longtemps été considérée comme étant composée d'un seul exon dépourvu d'intron, mais par la suite 3 exons courts non codants ont été identifiés dans la région 5' (Augereau et al. 2006). Il est également intéressant de noter que la séquence du promoteur de RIP140 est située à 100 kilobases du codon start.

L'expression de RIP140 est finement régulée par de nombreux facteurs de transcription ainsi que par des RN. RIP140 est également impliqué dans de nombreuses boucles de rétrocontrôle négatif permettant une régulation fine de nombreux phénomènes physiologiques. En effet, il a été démontré qu'une stimulation de cellules de lignées cancéreuses avec de 17 β -estradiol (E2), un agoniste des ER, entraîne une augmentation du niveau d'ARN messager de RIP140, détectable après seulement 30 minutes de stimulation. De plus, des expériences plus approfondies avec les agonistes spécifiques des formes α et β des ER, ont montré que ER α régule préférentiellement l'expression de RIP140 (Escande et al. 2006).

On retrouve ce phénomène pour RAR α également. En effet, RIP140 inhibe son activité, mais lorsque l'on administre de l'acide rétinoïque, un agoniste de RAR, cela entraîne une augmentation de l'expression de RIP140 (Kerley et al. 2001).

D'un autre côté, l'agoniste de Ahr (*Aryl hydrocarbon receptor*), le 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine ou TCDD est également capable d'induire la transcription de RIP140. Cependant, cette stimulation est

abolie en présence de E2, suggérant une compétition entre les deux RN au niveau du promoteur de RIP140. (Augereau et al. 2006)

Il est également intéressant de noter que l'expression de RIP140 est, elle-même, régulée par E2F1. En effet, ce dernier peut se fixer sur le promoteur de RIP140 *via* un *E2F response element*, permettant ainsi de réguler son expression par le biais du facteur de transcription SP1 (Docquier et al. 2012).

Enfin, il a récemment été montré que l'expression de RIP140 dans le foie murin est cyclique et régulée par des facteurs de transcription de l'horloge interne. En effet, le promoteur de *RIP140* possède une séquence *D-BOX* ainsi qu'un élément de réponse à ROR (*RAR-related orphan receptor*) permettant la fixation de manière cyclique de facteur de transcription tel que DBP (*D Site of albumin promoter (albumin D-Box) binding protein*) ou E4bp4 (Zhao et al. 2020).

1.1.4 Régulation de l'activité de RIP140

De nombreux sites de modifications post-traductionnelles agissant sur l'activité de RIP140 ont été identifiés. Tout d'abord, RIP140 possède 11 sites de phosphorylation, 9 sur des sérines en position 104, 358, 380, 488, 519, 531, 543, 672 et 1003, et deux sur des thréonines en position 202 et 207 (Huq et al. 2005). La phosphorylation de ces deux derniers résidus par une MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) entraîne une augmentation de l'activité répressive de RIP140, par modification conformationnelle du RD1, permettant le recrutement des HDACS (Gupta et al. 2005). L'acétylation de RIP140 a également un impact sur son activité de répresseur transcriptionnel et sa localisation cellulaire en fonction de la région ciblée. D'un côté, une hyperacétylation de la partie N-terminale entraîne une augmentation de l'activité répressive et de la translocation nucléaire. D'un autre côté, une acétylation de la partie centrale a l'effet inverse. Cette opposition de fonction pourrait notamment expliquer les variations d'activité régulatrice de RIP140 entre les différents tissus. Il est également intéressant de noter qu'une acétylation de la lysine 446 entraîne une perte d'interaction avec les CtBP, expliquant en partie les effets de perte d'activité répressive. L'acétylation de la protéine peut avoir lieu sur 9 lysines situées en position 111, 158, 287, 311, 446, 482, 529, 607 et 932 (Huq et Wei 2005). Enfin, il a été prouvé que l'acétylation de la partie N-terminale de RIP140 est essentielle au recrutement et à l'interaction avec la protéine kinase, cycline-dépendante, 8 (*cyclin-dependent kinase* ou CDK8) afin de réprimer l'expression du gène impliqué dans la signalisation rétinocytaire, *CRABP1* (Persaud et al. 2011).

Concernant la méthylation, celle-ci se retrouve sur trois résidus arginines en position 240, 650 et 948. Par mutagénèse dirigée, l'équipe du Dr Lina Wei a montré qu'une méthylation de ces résidus entraîne une perte de l'activité répressive de RIP140 par deux mécanismes :

- 1) une diminution du recrutement des HDACS par RIP140

2) par une augmentation de son export nucléaire dû à une hausse de ses interactions avec l'exportine 1 (Mostaqul Huq et al. 2006).

Trois autres sites de méthylation existent également sur les lysines 591, 653 et 757. Ils permettent une nouvelle fois à RIP140 d'exercer une plus grande activité répressive lorsqu'ils sont méthylés. Cependant, et de manière intéressante, des expériences de mutagenèse ont montré qu'une mutation de ces lysines augmente le niveau de méthylation des arginines, mais la mutation des arginines n'a aucun effet sur la méthylation des lysines. De plus, des analyses par spectrométrie de masse du niveau de méthylation de RIP140 dans des fibroblastes embryonnaires de souris en cours de différenciation ont montré que les lysines sont méthylées de manière constitutive, puis le niveau de méthylation des arginines augmente graduellement. Ces résultats suggèrent une hiérarchie entre les différents sites de méthylation de RIP140 (Huq et al. 2009).

Pour terminer, RIP140 possède deux sites de SUMOylation modifiés par des *small ubiquitin-like modifiers* (SUMO) sur ses lysines en position 756 et 1154. Ces deux sites sont situés respectivement dans les domaines répresseurs 3 et 4. Les effecteurs de ces domaines répresseurs sont encore inconnus, mais il est important de noter que la mutation de ces deux sites de SUMOylation entraîne une nouvelle fois une diminution son activité répressive ainsi que de sa localisation sous-nucléaire (Rytinki et Palvimo 2008).

1.1.5 Les partenaires de RIP140

RIP140 possède un interactome très riche qui lui permet de réguler l'expression et l'activité de nombreuses protéines. En plus des ER, RIP140 interagit avec les RNs de la famille des RAR, RXR, les TR (Thyroid hormone Receptor) (L'Horset et al. 1996) (Treuter et al. 1998), les récepteurs des glucocorticoïdes (GR) (Subramaniam, Treuter, et Okret 1999) (Windahl et al. 1999), les récepteurs des androgènes (AR) (Carascossa et al. 2006) (Ikonen, Palvimo, et Jänne 1997), les récepteurs de la vitamine D (Masuyama et al. 1997), PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) (Lim, Moon, et Han 2004) (Treuter et al. 1998) (Windahl et al. 1999), LXR (liver X receptor) (Miyata et al. 1998) (Albers et al. 2005), ERR (estrogen receptor-related receptors) (Castet et al. 2006) (Sanyal et al. 2004). Associé à ces RN, RIP140 possède principalement une activité répressive sur l'expression des gènes cibles. Cette activité trans-répressive a d'abord été associée à une compétition avec des co-activateurs, notamment avec NCOA1 (Nuclear Receptor Coactivator 1). Cependant, l'inhibition de la transcription par RIP140 est également active, *via* le recrutement de protéines modifiant la chromatine (HDACs et CtBPs) par ses domaines répresseurs.

RIP140 est également un inhibiteur de la transactivation d'autres facteurs de transcription comme les facteurs E2F et AP-1. En effet, RIP140 réprime l'activité transcriptionnelle de E2F1 dans des lignées de cancer du sein. Cela entraîne une diminution de l'expression de protéines clefs du cycle cellulaire que sont les cyclines (ici les cyclines E1 et B2) et par conséquent une diminution du nombre de cellules en phase S (*Docquier et al. 2010*). RIP140 inhibe également l'activité des facteurs AP-1 par compétition avec le coactivateur GRIP1 pour la liaison à c-Jun, sous-unité de l'hétérodimère AP-1 (*Teyssier et al. 2003*).

De manière intéressante, il a également été montré que RIP140 pouvait avoir un rôle d'activateur de la transcription. En effet, dans des cellules de mammifères, une surexpression de RIP140 induit une augmentation de l'activité de ER α (*Cavaillès et al. 1995*) ou de AhR (*Kumar, Tarpey, et Perdew 1999*), entraînant ainsi une augmentation de la transcription de certains gènes dont l'expression est réprimée par un récepteur nucléaire actif. Ce phénomène se retrouve au niveau des GR sur des gènes cibles de NF- κ B (*Nuclear factor-kappa b*) (*Subramaniam, Treuter, et Okret 1999*) ou de TNF α (*tumor necrosis factor alpha*). Ce rôle de coactivateur est également retrouvé au niveau de promoteur de gènes de cytokines, où RIP140 interagit directement avec la sous-unité RelA du facteur de transcription NF- κ B mais également avec CBP (*CREB-binding protein*) afin de faciliter l'initiation de la transcription. Enfin, RIP140 régule positivement l'expression de gènes possédant des séquences permettant la fixation du facteur de transcription SP1 (*specificity protein 1*) via ER α et ER γ (*Castet et al. 2006*). Cette activation de la transcription est due à une titration des HDACs par RIP140, empêchant la répression de l'activité des facteurs SP1.

Enfin, un rôle cytoplasmique pour RIP140, indépendant d'une régulation de la transcription, a récemment été décrit dans les adipocytes (Ho et al. 2009). En effet, dans ces cellules, RIP140 inhibe le métabolisme glucidique en contrôlant le transport et la translocation à la membrane plasmique du transporteur de glucose GLUT4. Pour ce faire, RIP140 inhibe la phosphorylation par Akt (une protéine kinase) de la protéine AS160 (*Akt substrate of 160kDA*), une protéine G impliquée dans la formation de vésicules de transport de GLUT4.

De par ses interactions avec de nombreux récepteurs nucléaires et facteurs de transcription, RIP140 est un régulateur majeur de nombreux processus physiologiques et pathologiques.

1.2 Fonctions physiologiques

1.2.1 Métabolisme

Les fonctions physiologiques de RIP140 ont été identifiées chez des souris transgéniques, où l'expression de ce dernier a été abolie (RIPKO) ou amplifiée (RIPtg). Les chercheurs ont tout d'abord remarqué que les souris RIPKO présentent des désordres métaboliques. En effet, ces souris sont maigres (baisse de 70% de la masse grasseuse), présentent une consommation d'oxygène et une résistance à l'insuline augmentées. Elles sont résistantes à l'obésité induite par un régime riche en graisse, ainsi qu'à la stéatose hépatique (*Leonardsson et al. 2004*). Ces résultats suggèrent une implication forte de RIP140 dans l'homéostasie du métabolisme.

1.2.1.1 Le tissu musculaire

a) Muscle strié squelettique

Les muscles striés squelettiques sont composés de cellules musculaires (rhabdomyocytes) contenant des fibres d'actine et de myosine dont le mouvement permet la contraction musculaire. Les différents types de fibres varient en fonction de l'isoforme de myosine qui la compose (*Talbot et Maves 2016*).

- **Les fibres de type I** : elles produisent une contraction lente et reposent sur un métabolisme aérobie. Elles sont donc riches en mitochondries ainsi qu'en myoglobine, un type d'hémoglobine spécifique aux muscles et qui fixe plus facilement l'oxygène.
- **Les fibres de Type IIa** : Elles produisent une contraction plus rapide et s'appuient sur un métabolisme aérobie basé sur la phosphorylation oxydative pour produire de l'adénosine triphosphate (ATP).
- **Les fibres de type IIb/IIx** : Elles produisent également une contraction plus rapide mais sont plus sensibles à la fatigue. Elles présentent un nombre de mitochondries moins important et s'appuie sur un métabolisme anaérobie basé sur la glycolyse.

De manière intéressante, l'expression de RIP140 dans le muscle strié squelettique est dépendante du type de fibres. En effet, le niveau d'ARNm de RIP140 est élevé dans les muscles présentant une majorité de fibres de type II. De plus, sa déplétion entraîne un rougissement des muscles, traduisant un changement vers un type de fibres plus oxydatives qui présentent une augmentation du nombre de mitochondries et du métabolisme oxydatif.

Au niveau moléculaire, RIP140 s'associe, notamment, avec PPAR δ et ERR α afin de réguler l'expression de gènes impliqués dans la phosphorylation oxydative, l'oxydation d'acides gras, le cycle de Krebs ainsi que la glycolyse. Il est à noter que RIP140 régule également des gènes impliqués dans la différenciation, la structure et la fonction des myoblastes (Seth et al. 2007). De ce fait, RIP140 a un rôle opposé à celui de PGC-1 α (*Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha*), le coactivateur de PPAR γ , qui est un régulateur majeur de la plasticité musculaire en réponse à un stimulus. En effet, PGC-1 α est un coactivateur du métabolisme oxydatif et de la biogénèse mitochondriale. Les différentes voies de signalisation déclenchées par l'exercice physique convergent vers une activation de PGC-1 α induite par modification post-traductionnelle ou par augmentation de son expression. Celui-ci active en retour l'expression de gènes impliqués dans l'adaptation des muscles à l'effort (Handschin 2010) (Benton, Wright, et Bonen 2008).

b) Muscle cardiaque

De par son rôle de régulateur métabolique dans le muscle strié squelettique, les chercheurs ont émis l'hypothèse que RIP140 pouvait avoir un rôle majeur dans la physiologie du muscle cardiaque.

Le muscle cardiaque ou myocarde est composé de cellules musculaires spécialisées, les cardiomyocytes, qui ont pour particularité de se contracter de manière rythmique et autonome.

Les souris RIPtg âgées de 4 semaines présentent une fibrose ventriculaire ainsi qu'une hypertrophie cardiaque, provoquant une mort prématurée chez un quart des souris. Les chercheurs ont également montré que RIP140 régule négativement l'activité mitochondriale (baisse du potentiel de membrane ainsi que de la consommation d'oxygène) (Fritah et al. 2010). De plus, RIP140 réprime l'expression de protéines impliquées dans l'activité mitochondriale tel que le Cytochrome C, la NADH déshydrogénase et le facteur de transcription mitochondrial TFAM (*Mitochondrial transcription factor A*). Il réprime également l'expression de protéines impliquée dans le métabolisme des acides gras tel que FABP3 (*fatty acid binding protein 3*), CD36, et FATP (*fatty acid transport protein*) via une possible interaction avec les RNs, PPAR α , PPAR δ ainsi que ERR α et ERR γ (Fritah et al. 2010). RIP140 est donc un régulateur négatif du métabolisme oxydatif dans le cœur.

1.2.1.2 Rôle dans le foie

Le foie est un autre organe siège d'un métabolisme important. En effet, le foie est impliqué à la fois dans le métabolisme glucidique *via* sa régulation de la glycémie (taux de sucre sanguin) mais aussi dans le métabolisme lipidique *via* la production de lipoprotéines permettant le transport des acides gras. Il est également impliqué dans la production de la bile, de protéines (albumine, globines, facteurs de coagulation etc.), et permet la métabolisation et la dégradation de nombreux agents toxiques.

Dans cet organe, RIP140 peut avoir des rôles adverses en fonction du gène cible, et de la voie métabolique dans laquelle il est impliqué. En effet, RIP140 est un corégulateur de LXR. Il agit en tant que co-activateur de la transcription de gènes essentiels à la lipogenèse, ce qui explique la résistance des souris RIPKO à une stéatose hépatique induite par un régime riche en graisse (*Berriel Diaz et al. 2008*). Une stéatose hépatique correspond à une accumulation de triglycéride dans les cellules du foie, les hépatocytes. Les souris RIPKO ne pouvant augmenter leur lipogenèse en absence de RIP140, cela se traduit par une baisse de l'accumulation de triglycérides dans le foie de ces animaux.

D'un autre côté, RIP140 est nécessaire à l'activité répressive de LXR pour inhiber l'expression de la phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK), une enzyme clef de la néoglucogénèse (*Herzog et al. 2007*).

L'expression cyclique de RIP140 dans le foie aboutit à la régulation périodique de l'expression du gène du cytochrome p450 2b10 en réprimant la transactivation de *CAR* (*constitutive androstane receptor*) ainsi que de *PXR* (*Pregnan X receptor*). A travers la régulation de l'expression du cytochrome p450 2b10, RIP140 est également impliqué dans les processus de détoxification du foie (*Zhao et al. 2020*).

1.2.1.3 Le système nerveux

Le cerveau est l'un des organes où l'on retrouve l'une des plus fortes expressions de RIP140 (*Lee, Chinpaisal, et Wei 1998*). C'est également un organe dans lequel les récepteurs nucléaires jouent un rôle clef, notamment au niveau des cellules souches et des cellules progénitrices. Ces dernières permettent la génération des cellules neurales et gliales du cerveau et de la moelle épinière. Les RN régulent ainsi l'homéostasie du système nerveux à la fois durant le développement embryonnaire mais également à l'âge adulte. Lors de la différenciation des cellules souches embryonnaires en cellules souches neurales, il y a un changement de métabolisme contrôlé une nouvelle fois par l'axe PGC-1 α /RIP140. En effet, ces cellules passent d'un métabolisme reposant sur la phosphorylation oxydative à un métabolisme glycolytique. Ceci se retrouve au niveau moléculaire, puisque PGC-1 α ainsi que PGC-1 β sont fortement exprimés dans les cellules souches embryonnaires, alors que RIP140 est lui plus

fortement exprimé dans les cellules souches neurales (*Mu et al. 2018*) (*Birket et al. 2011*). De plus, RIP140 est également impliqué dans l'homéostasie du cholestérol du cerveau, *via* un contrôle du métabolisme et de la captation de cette molécule par les astrocytes (*Feng, Lin, et Wei 2015*). Mais comme nous le verrons, RIP140 semble directement impliqué dans le processus de différenciation de ces cellules.

1.2.1.4 Le tissu adipeux

Il existe trois types de tissus adipeux :

- Le tissu adipeux blanc, majoritaire chez l'adulte, et dont la fonction est le stockage des triacylglycérides (TAG).
- Le tissu adipeux brun, présent principalement chez l'enfant mais que l'on retrouve en petite quantité chez l'adulte, et dont la fonction est la thermogénèse par oxydation des acides gras.
- Il est cependant à noter que ces deux types de tissus sont très plastiques, et peuvent s'interchanger. Ceci a amené à la découverte d'un troisième type, le tissu adipeux beige ou *brite* (pour *Brown in white*).

a) Le tissu adipeux blanc

RIP140 est principalement exprimé dans le tissu adipeux blanc. Dans ce tissu, il inhibe l'expression de gènes impliqués dans les voies de signalisation de l'absorption du glucose, de la glycolyse, du cycle de Krebs, de l'oxydation des acides gras, de la biogénèse mitochondriale ainsi que de la phosphorylation oxydative (*Powelka et al. 2006*). De manière intéressante, la déplétion de RIP140 dans des lignées d'adipocytes primaires issus du tissu adipeux blanc entraîne un « brunissement » de celui-ci, avec une augmentation de l'expression de gènes caractéristiques du tissu adipeux brun tel que UCP1 (*Uncoupling Protein 1*), le transporteur d'acide gras CPT-1 β (*Carnitine Palmitoyltransferase I*) et la protéine CIDEA (*Cell Death Inducing DFFA Like Effector A*), impliquée dans le contrôle des gouttelettes lipidiques (*Christian et al. 2005*).

Au niveau moléculaire, RIP140 se lie à des récepteurs nucléaires clefs de la régulation métabolique tel que PPAR α , PPAR γ , TR et ERR α afin de réprimer l'expression de leurs gènes cibles. D'un autre côté, RIP140 entre en compétition avec PGC-1 α . En effet, Les deux corégulateurs transcriptionnels sont recrutés aux promoteurs des mêmes gènes cibles (*Kiskinis et al. 2014*), tel que celui de CIDEA, mais avec des rôles opposés. De plus, RIP140 peut interagir directement avec PGC-1 α et inhiber son activité. Il a donc été proposé que la balance entre ces deux protéines régule la dépense énergétique du tissu adipeux blanc. En outre, et de manière plus surprenante, un rôle cytoplasmique pour RIP140 a été découvert dans les adipocytes.

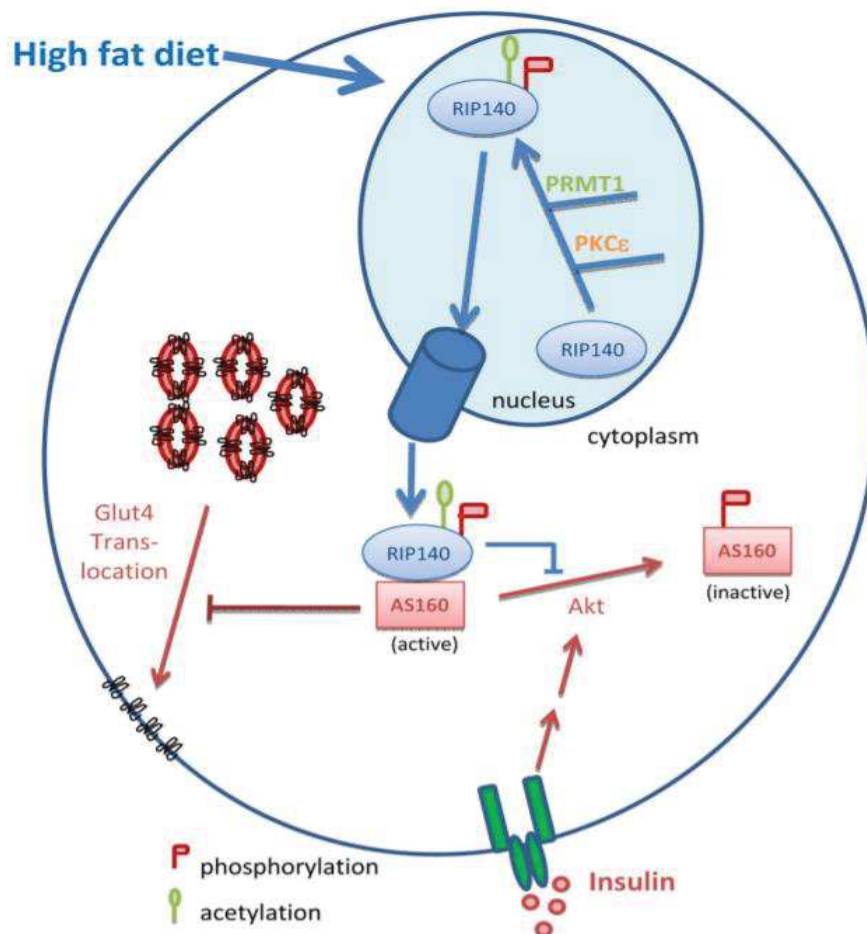


Figure 6 : RIP140 inhibe la translocation à la membrane de GLUT4

(Fritah, Christian, et Parker 2010)

En effet, dans ces cellules, RIP140 est phosphorylé par la protéine kinase C epsilon (PKC ϵ) sur ses résidus sérine en position 102 et 1003, ce qui entraîne son recrutement par la protéine 14-3-3. Cette dernière permet la méthylation par PRMT1 (protéine arginine N-méthyltransférase 1) des résidus arginine de RIP140, lui permettant d'être exporté hors du noyau par l'exportine 1. Une fois dans le cytoplasme, RIP140 se lie directement avec la protéine AS160 (*Akt substrate of 160kDA*) et bloque sa

phosphorylation par Akt. AS160 reste donc sous sa forme active et inhibe le transport à la membrane plasmique du transporteur de glucose GLUT4 (Ho *et al.* 2009).

b) Le tissu adipeux brun

RIP140 est également fortement exprimé dans le tissu adipeux brun, mais à un niveau moins élevé que dans le tissu adipeux blanc. Il semble également avoir un rôle moins important dans le tissu adipeux brun. En effet, le tissu adipeux brun des souris RIPKO est présent dans les mêmes proportions et a le même aspect que celui des souris contrôles (Leonardsson *et al.* 2004). De plus, les niveaux d'expression des récepteurs nucléaires PPAR α et PPAR γ ainsi que du transporteur d'acides gras AP2 (*Adipocyte protein 2*) sont similaires entre les deux conditions. Cependant, les nouveaux nés ainsi que les jeunes souris RIPKO présentent une expression de PGC-1 α ainsi qu'une masse totale de tissu adipeux brun significativement plus faible que leurs homologues contrôles (Christian *et al.* 2005). De surcroît, RIP140 est une nouvelle fois retrouvé au promoteur du gène CIDEA, où il interagit avec ERR α et NRF (facteur respiratoire nucléaire) pour réprimer son expression (Hallberg *et al.* 2008). On le retrouve également au promoteur d'UCP1, où il interagit avec LXR afin de réprimer son expression (Wang *et al.* 2008). Le rôle de RIP140 dans le tissu adipeux brun semble donc moins important que dans le tissu adipeux blanc mais reste cependant à élucider. Son rôle au niveau du tissu adipeux en général est également lié à son rôle dans la régulation de l'inflammation.

1.2.2 Rôle dans l'inflammation

Le tissu adipeux est infiltré par de nombreux macrophages. Ces cellules du système immunitaire inné jouent un rôle dans le remodelage tissulaire et la sensibilité à l'insuline chez un individu sain. Dans un contexte d'obésité, les macrophages sont responsables d'une diminution du fonctionnement des adipocytes et d'une résistance à l'insuline conduisant à une méta-inflammation (inflammation systémique chronique de faible intensité) (Li *et al.* 2018). Ce changement de fonction se retrouve au niveau cellulaire et moléculaire. En effet, dans un contexte d'obésité, les macrophages associés au tissu adipeux passent d'un phénotype M2, associé à la sensibilité à l'insuline, à un phénotype M1, associé à l'insulino-résistance (Kang *et al.* 2008). Dans ces cellules, et contrairement aux autres tissus, RIP140 joue le rôle de coactivateur. En effet, il stimule la transcription de gènes impliqués dans le programme pro-inflammatoire. Ceci grâce à la formation et la stabilisation d'un complexe trimérique entre RIP140, la sous-unité du facteur de transcription NF- κ B, RelA ou p65, et la protéine CBP (*histone acetylase cAMP-responsive element binding protein* (CREB) binding protein), permettant ainsi la

transcription de gènes pro-inflammatoires tels que le facteur nécrosant de tumeur α (TNF α), l'interleukine 1 β (IL1 β) et l'interleukine 6 (IL6). Plus récemment, Liu *et al.* ont montré qu'une déplétion spécifique de RIP140 dans les macrophages, diminue le nombre de cellules de type M1 et augmente le nombre de type M2, sans modifier leur prolifération. Ces résultats montrent que RIP140 pourrait réguler la polarisation des macrophages dans le tissu adipeux (Liu *et al.* 2015).

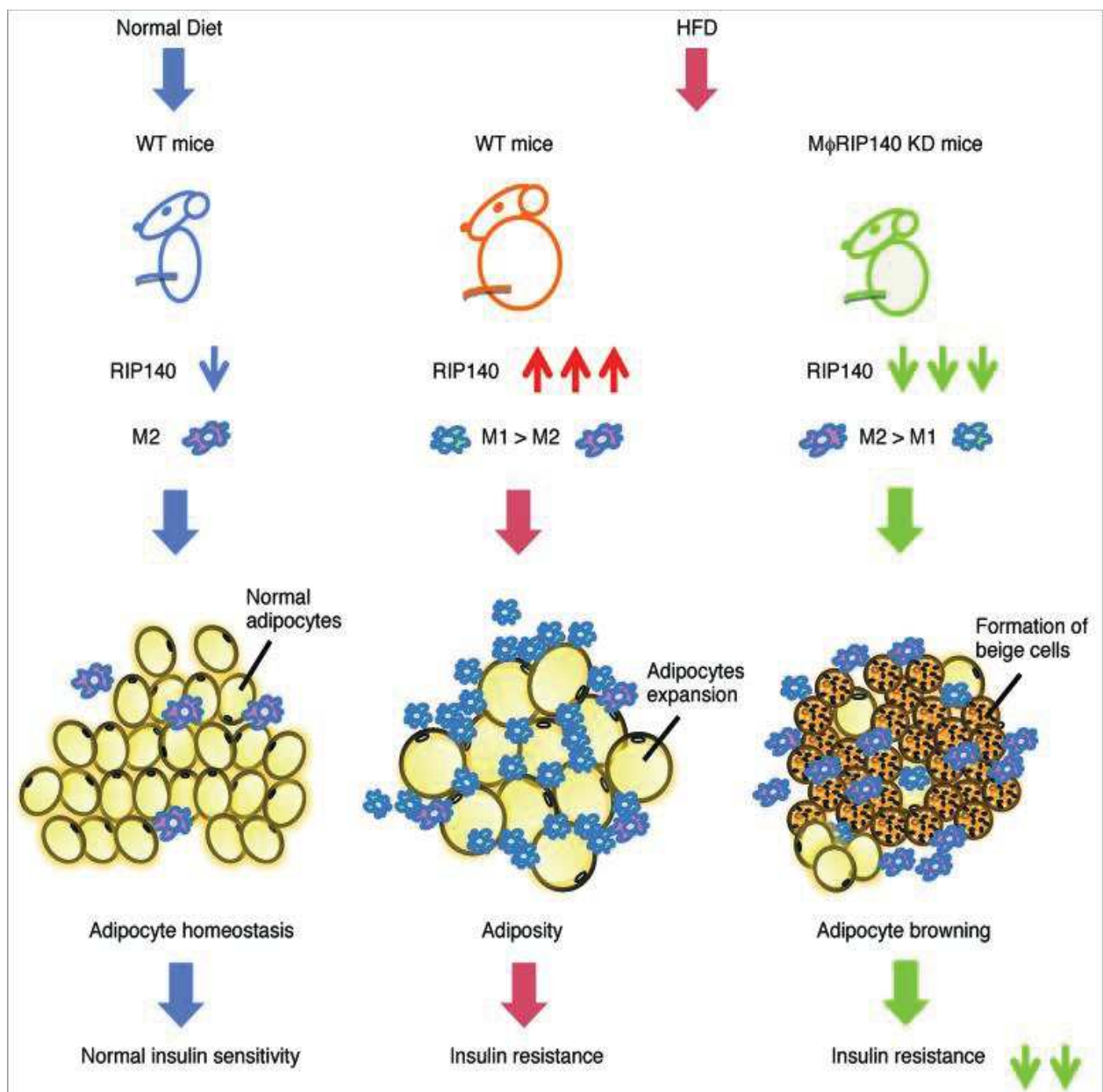


Figure 7 : Rôle de l'expression de RIP140 dans la balance entre les macrophages de types M1 et M2

(Liu *et al.* 2015)

1.2.3 Différenciation

1.2.3.1 Cellules souches neurales

Comme décrit précédemment, RIP140 régule la biogénèse et l'activité mitochondriale lors de la différenciation des cellules souches embryonnaires en cellules souches neurales. Cependant il semble être également directement impliqué dans ce processus de différenciation. En effet, il a été montré qu'à la suite d'une différenciation induite par l'acide rétinoïque des cellules souches neurales chez la souris, RIP140 est recruté au niveau de promoteurs de gènes impliqués dans le potentiel souche, tels que *OCT4* (*octamer-binding transcription factor 4*) et la protéine à homéobox *NANOG*. RIP140 forme ensuite un complexe répressif avec RAR α activé par le RA et la protéine à bromodomaines BRM, entraînant ainsi un remodelage de la chromatine et donc une répression de l'expression de ces gènes. De plus, l'expression de RIP140 est corrélée à celle de la Nestin, un marqueur de différenciation des cellules souches neurales (Wu, Feng, et Wei 2014).

1.2.3.2 Cellules osseuses

Les os sont des tissus conjonctifs minéralisés. Leur homéostasie est dépendante de cycles de résorption osseuse, réalisée par les ostéoclastes, suivis par de la formation osseuse, réalisée par les ostéoblastes. C'est donc par la balance entre ces deux phénomènes que l'os maintient sa rigidité, et un défaut de celle-ci peut entraîner des pathologies tel que l'ostéoporose. Les ostéoclastes et les ostéoblastes sont issus de progéniteurs hématopoïétiques, qui sont identiques à ceux des monocytes/macrophages (Bar-Shavit 2007).

Comme décrit précédemment, RIP140 est fortement exprimé dans les monocytes et dans les macrophages associés au tissu adipeux. C'est pourquoi des chercheurs ont créé un modèle de souris avec une diminution de l'expression de RIP140 spécifique aux monocytes/macrophages (m ϕ RIP140KD). Ces souris présentent une ostéopénie, c'est-à-dire une déminéralisation modérée de l'os. Cette ostéopénie est la conséquence d'une augmentation de la résorption et d'une diminution de la formation osseuse.

Ces effets sont causés par RIP140 qui bloque la différenciation des ostéoclastes. En effet, il forme un complexe répressif avec le récepteur testiculaire 4 (TR4), entraînant ainsi la diminution de l'expression de gènes nécessaires à la différenciation des ostéoclastes tel que *NFACT1* (*Nuclear factor of activated T cells 1*), *CTSK* (*Cathepsine K*), ou *ACP5* (*acid phosphatase 5, tartrate resistant*). Il a également été démontré que l'activation de la voie de signalisation RANK (*receptor activator of nuclear factor- κ B*),

essentiel à la différenciation des ostéoclastes, augmente la dégradation de RIP140 médié par la tyrosine-protéine kinase Syk. L'activation de cette voie provoque également une diminution de l'expression de TR4 (Lee *et al.* 2017). Ces résultats sont concordants avec les informations décrites précédemment.

Une autre cause de déminéralisation osseuse est la diminution du taux d'œstrogènes, notamment chez la femme après la ménopause, qui augmente le risque d'ostéoporose. Piao *et al.* se sont intéressés à l'influence des œstrogènes sur l'expression et l'activité de RIP140 dans le tissu osseux. Ils ont ainsi démontré que les œstrogènes induisent l'expression de RIP140 dans les ostéoclastes mais pas dans les ostéoblastes, ni dans les cellules souches mésenchymateuses osseuses. Ils ont également reproduit les effets précédemment décrits d'une augmentation de l'expression de RIP140 sur la différenciation des ostéoclastes. Ainsi, RIP140 diminue l'activité de résorption osseuse des ostéoclastes et déclenche leur apoptose (Piao *et al.* 2017). Ces données ont donc permis d'établir RIP140 comme un régulateur majeur de la différenciation des ostéoclastes.

1.2.3.3 Rôle dans le développement de la glande mammaire

Un autre phénotype détecté chez les souris RIPKO est un défaut de développement de la glande mammaire. Réciproquement, les souris RIPtg présentent un développement précoce et des glandes mammaires hyperplasiques (Nautiyal *et al.* 2013). En raison du fort taux de mortalité chez les souriceaux causés par des malformations cardiaques précédemment décrites, des expériences de

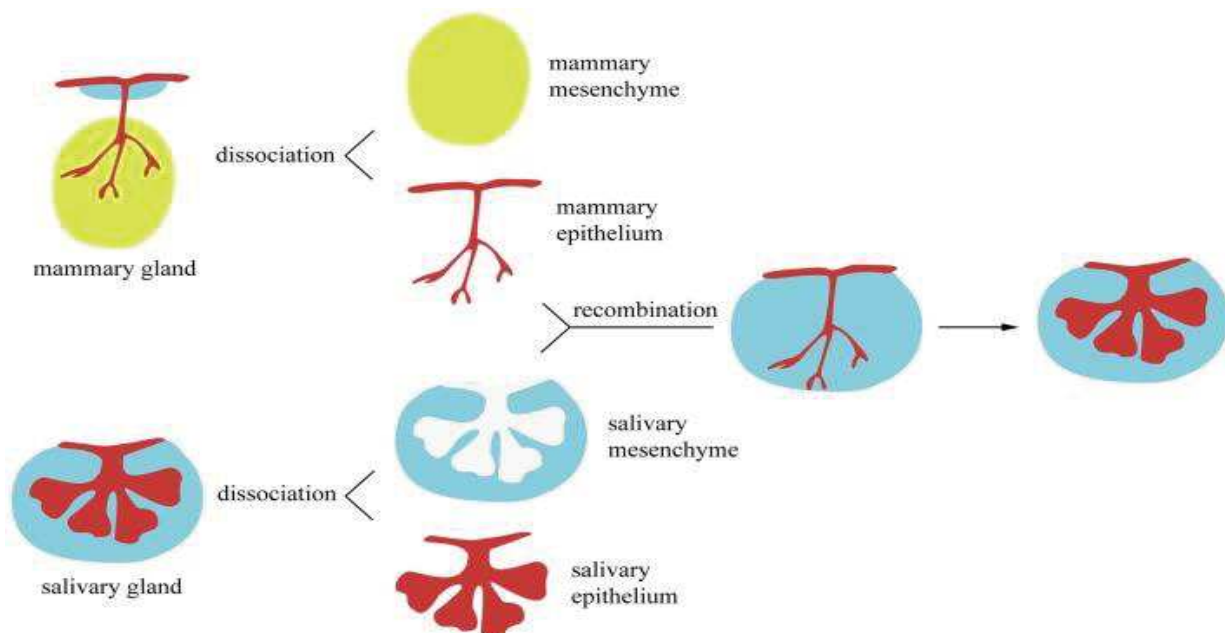


Figure 10 : exemple de recombinaison tissulaire entre l'épithélium de glande mammaire et le mésenchyme de glande salivaire

(Jimenez-Rojo *et al.* 2012)

recombinaison tissulaire chez des souris prépubères ont été nécessaires à l'étude de RIP140 dans le développement de la glande mammaire.

Cette technique consiste à séparer la partie mésenchymateuse et la partie épithéliale d'une glande au stade embryonnaire, puis de réassembler les différentes parties (mésenchyme issue d'une souris WT et épithéliums issus d'une souris RIPKO par exemple) afin d'étudier leur développement dans différentes conditions.

Ces expériences ont pu montrer que RIP140 est essentiel au développement de la glande mammaire des souris à la fois dans l'épithélium et dans le mésenchyme. De manière intéressante, une surexpression de RIP140 entraîne une augmentation du nombre de cellules dans la partie basale de la glande mammaire ainsi qu'un changement de la balance cellules différenciées/cellules souches en faveur de ces dernières. Ceci est dû au contrôle par RIP140 de l'activité de ER, régulateur majeur du développement de la glande mammaire. En effet, ces derniers sont retrouvés aux promoteurs de gènes tel que l'amphireguline (*AREG*), le récepteur de la progestérone (*PGR*) ainsi que *STAT5A* (*signal transducer and activator of transcription 5*), qui sont des régulateurs clefs des voies mitogènes impliquées dans le développement normal de la glande mammaire (Haricharan et Li 2014).

RIP140 est donc impliqué dans le dialogue entre la partie épithéliale et la partie mésenchymateuse de la glande mammaire ainsi que dans son développement. Il reste cependant de nombreuses questions à élucider, notamment au niveau des autres récepteurs nucléaires que RIP140 pourrait réguler dans ce tissu.

1.3 Implication dans la cancérogenèse

En plus de ses rôles dans les différents processus physiologiques précédemment décrits, RIP140 est également impliqué dans de nombreux cancers, et son action va encore une fois dépendre du tissu et du type cellulaire dans lequel il est exprimé.

1.3.1 Les cancers solides

1.3.1.1 les cancers gynécologiques

a) Cancer du sein

Les cancers du sein sont les cancers les plus fréquents en France et représentent la première cause de mortalité par cancer chez la femme (Santé Publique France). Les cancers du sein peuvent être catégorisés en différents sous-types en fonction du type de cellules touchées mais également par le type de récepteurs exprimés. Par exemple, le cancer du sein triple négatif, représentant 15% des cas, est caractérisé par le fait que les cellules cancéreuses n'expriment pas ER, PGR ou HER-2 (*Human Epidermal Growth Factor Receptor-2*).

Du fait de son rôle dans la formation de la glande mammaire et dans la signalisation des œstrogènes, RIP140 est un candidat intéressant en cancérogenèse mammaire. Les chercheurs ont déterminé les sites de fixation communs entre RIP140 et les ER en étudiant des cellules de cancer du sein (MCF7) exprimant soit ER α , soit ER β , soit les deux (Madak-Erdogan *et al.* 2013). Par une approche de génomique intégrative, ils ont déterminé que RIP140 se fixe préférentiellement à des sites communs à ER β , même s'il possède également de nombreux sites de fixation avec ER α . De plus, l'abrogation de RIP140 abolit l'augmentation de la prolifération cellulaire et le pourcentage de cellule en phase G2/M dans tous les types cellulaires, indiquant un contrôle du cycle et de la prolifération cellulaire par RIP140 dans ces cellules. Enfin, les cellules n'exprimant que ER β présentent une augmentation de la proportion de cellules en phase S et sub-G1 lorsque RIP140 est déplété, suggérant un rôle corépresseur pour ce dernier (Madak-Erdogan *et al.* 2013).

D'un autre côté, RIP140 et ER β exercent également un contrôle sur différentes voies métaboliques. L'analyse des sites de liaison de RIP140 montre qu'il est présent aux promoteurs de gènes impliqués dans le métabolisme des acides gras, la voie NF- κ B et l'inflammation, ainsi que le développement de la glande mammaire. Ces résultats ont été confirmés par l'analyse du taux de triglycérides. Celui-ci est trois fois plus important dans les cellules n'exprimant que ER β . De plus, l'effet sur le taux de

triglycérides est dépendant de la présence de RIP140. De manière intéressante, cette signature de sites de fixation permet de prédire un meilleur pronostic pour les patients avec des tumeurs exprimant ER β (Madak-Erdogan *et al.* 2013).

RIP140 exerce également un contrôle sur l'apoptose des cellules de cancer du sein, puisqu'on le retrouve au promoteur du gène anti-apoptotique *BCL2* (*B-cell lymphoma 2*) (Ruddy *et al.* 2014). En effet, des expériences d'immunoprécipitation de la chromatine (ChIP) ont montré qu'une surexpression d'ER β permet le recrutement de RIP140 au niveau de la séquence *estrogen response element* (ERE) de *bcl2* afin d'inhiber son expression, favorisant ainsi l'apoptose (Ruddy *et al.* 2014).

Bien qu'il ait une plus grande affinité pour ER β , RIP140 interagit également avec ER α dans des cellules de la lignée MCF7. En effet, il est nécessaire à la formation du complexe entre ER α et différents partenaires, tels que FOXA1 (*Forkhead box A1*), GATA3, l'histone acétyltransférase p300, la CREB *binding protein* (CBP) mais également les coactivateurs de la famille p160, pour lesquels on retrouve 80% de sites de fixation en commun. Il est également indispensable, avec ER α , à la régulation de la prolifération cellulaire. Enfin, les gènes dont l'expression est influencée par une déplétion de RIP140, permettent de stratifier les cohortes de patientes atteintes d'un cancer du sein traitées avec du tamoxifène. Il est important de noter que cette signature de gènes n'est validée que pour les patientes ayant reçu un traitement hormonal (Rosell *et al.* 2014).

Outre cette action positive sur la prolifération des cellules de cancer du sein, notre équipe a décrit un rôle anti-prolifératif pour RIP140. D'autres protéines interagissant avec RIP140 ont pu être identifiées au cours du temps, notamment les protéines de la famille E2F et plus particulièrement E2F1. Les protéines E2F sont des régulateurs clef du cycle cellulaire, de l'apoptose et de la différenciation. Leur activité est finement régulée, entre autres, par des modifications traductionnelles et post-traductionnelles, par la liaison à des coactivateurs ou des corépresseurs, et enfin par leur dégradation. Leur fonctionnement est perturbé dans de nombreux types de cancers, ce qui entraîne une prolifération anormale des cellules (Kent et Leone 2019). L'interaction entre RIP140 et E2F1 (mais également E2F2 et E2F3) a été démontrée dans des cellules MCF7 où elle se traduit par une diminution de la transactivation de ces derniers. En conséquence, l'expression de gènes cibles de E2F1 tel que la cycline E1 ou la cycline B2 s'en retrouve diminuée. Ces résultats ont été confirmés dans deux autres lignées cellulaires cancéreuses humaines (les HeLa et les HEK193T), où la surexpression de RIP140 entraîne une diminution du nombre de cellules en phase S. (Docquier *et al.* 2010). De plus, l'analyse de microarrays de 170 tumeurs de patientes atteintes d'un cancer du sein démontre qu'il existe une corrélation négative entre RIP140 et E2F1. Cette corrélation de niveau d'expression permet de discriminer les cancers de phénotype *basal-like* ou luminal. De manière globale, une forte expression de RIP140 est associée à un mauvais pronostic pour les patients atteints d'un cancer du sein.

Un autre partenaire de RIP140 découvert dans des cellules de cancer du sein est LCoR (*Ligand-dependent corepressor*). Cette protéine est également un corépresseur des récepteurs nucléaires. Notre équipe a démontré que LCoR et RIP140 interagissent ensemble et que l'effet anti-prolifératif de LCoR est RIP140-dépendant. De plus, RIP140 régule positivement, *in vivo* et *in vitro*, l'expression de LCoR (Jalaguier *et al.* 2017).

Enfin, et de manière surprenante, il a récemment été démontré que la localisation subcellulaire de RIP140 et LCoR pouvait servir de valeur pronostique pour la survie globale des patients. En effet, une forte expression cytoplasmique de RIP140 est associée à une période de survie sans récurrence plus courte, alors qu'une forte expression nucléaire est associée à une meilleure survie globale. Le rôle de RIP140 dans la progression et la résistance des cancers du sein pourrait donc être lié à sa localisation subcellulaire. L'effet pro-tumoral de RIP140 dans le cytoplasme pourrait être contrebalancé par l'action anti-proliférative de RIP140 nucléaire (Sixou *et al.* 2018). Des recherches plus approfondies sont nécessaires à la compréhension du rôle cytoplasmique de RIP140 dans ces cellules.

b) Cancer ovarien

Les cancers de l'ovaire qui font partie des cancers gynécologiques ont la plus forte mortalité. Les tumeurs peuvent être issues de l'épithélium ovarien (les plus courantes) mais également des autres types cellulaires. Il est important de noter que RIP140 intervient dans la physiologie normale des ovaires. En effet, l'infertilité des souris RIPKO est due à un défaut d'ovulation, lié à l'incapacité pour le follicule mature à relâcher l'ovocyte (White *et al.* 2000). Cependant, les mécanismes moléculaires à l'origine de ce phénotype sont encore inconnus.

Tout comme la glande mammaire, les ovaires sont des tissus hormonodépendants dont le développement est, entre autres régulé par les œstrogènes. C'est pourquoi ces derniers jouent également un rôle prépondérant dans le développement de cancers issus de ce tissu (Liu *et al.* 2017). En effet une perte d'expression de ER α ou de ER β , entraîne une dérégulation de la balance entre les deux récepteurs et donc du contrôle de la prolifération cellulaire.

Dans ce contexte, RIP140 a un rôle similaire à celui qu'il a dans le cancer du sein, puisqu'il agit comme corépresseur de ER β . En effet, des expériences d'interférence par ARN dirigé contre RIP140 ont montré qu'il était nécessaire à l'activité répressive de ER β . De plus, l'interactivité de RIP140 avec les ERs est une nouvelle fois différente entre les deux, puisque RIP140 interagit plus facilement avec ER β à la fois *in vitro* et *ex vivo* (Docquier *et al.* 2013).

1.3.1.2 Cancer digestifs

a) L'hépatocarcinome

Le carcinome hépatocellulaire, ou hépatocarcinome, est la forme la plus commune de cancer primaire du foie et la deuxième cause de mortalité liée au cancer dans le monde. Il peut être précédé de plusieurs types de pathologies, dont la cirrhose dans 80% des cas (Grandhi *et al.* 2016). Dans ce type de cancer, la dérégulation de la voie de signalisation Wnt est l'une des causes principales du développement de la maladie. Cette cascade de signalisation peut exister sous deux formes, canonique ou non canonique. Nous allons nous intéresser ici à la première forme. Dans le contexte de l'hépatocarcinome, la voie Wnt est activée de manière aberrante. Cela entraîne une dérégulation de l'expression de certains gènes cibles tel que *C-MYC*, *SNAIL* ou *CYCLINE D1*, ainsi qu'une dérégulation de l'adhérence cellulaire, ce qui facilite le développement de métastases (Dahmani, Just, et Perret 2011).

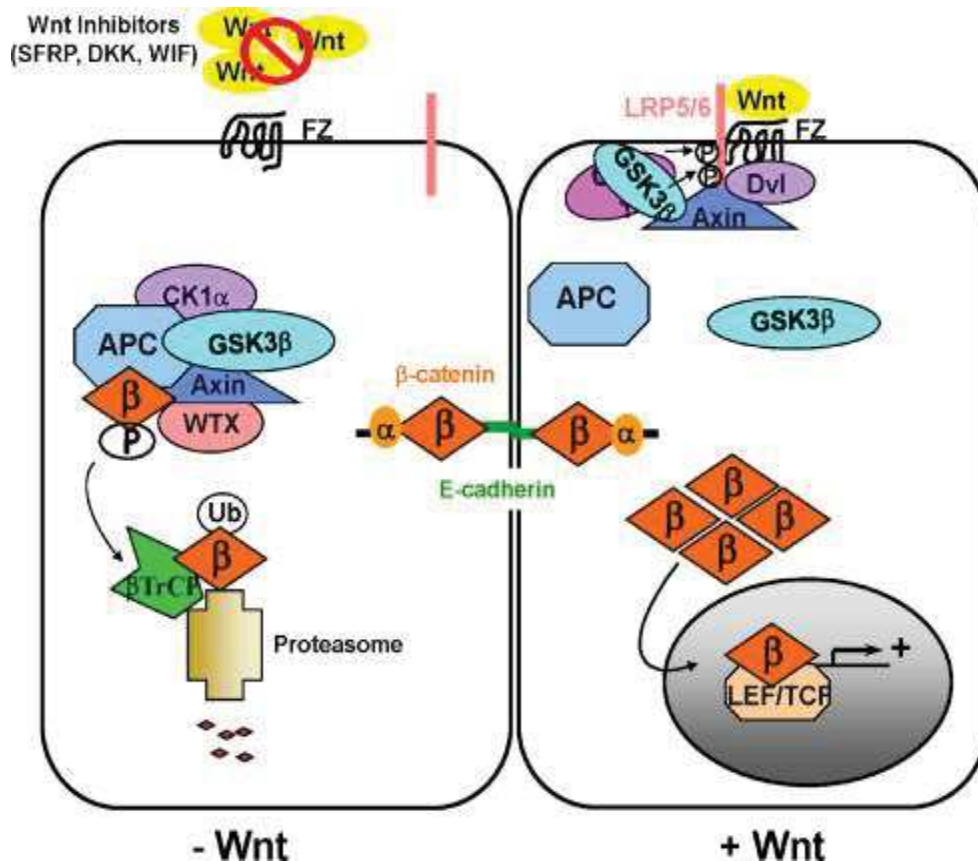


Figure 13 : Schématisation de la voie Wnt

Lorsque Wnt vient se fixer à son récepteur Frizzled-LRP5/6 (Frizzled low density lipoprotein receptor-related protein 5/6), cela inhibe la dégradation de la protéine β-caténine par le protéasome. La β-caténine s'accumule alors dans le cytosol et ainsi transloque dans le noyau. Elle interagit ensuite avec le facteur de transcription Tcf/LEF (T-cell factor/lymphoid enhancer factor) afin de réguler la transcription des gènes cibles de Wnt. Il est à noter que la β-caténine joue également un rôle dans la formation des jonctions serrées où elle interagit avec le domaine cytoplasmique de la E-cadherine

(Dahmani, Just, et Perret 2011)

Nous l'avons dit précédemment, RIP140 joue un rôle important dans le foie où il régule à la fois la lipolyse mais également la néoglucogénèse. Il a récemment été démontré qu'il intervient comme gène suppresseur de tumeur dans l'oncogenèse hépatique. En effet, son expression est diminuée dans 70% des cas analysés. De plus, sa surexpression dans des lignées cellulaires d'hépatocarcinome entraîne une diminution de la prolifération et de la migration cellulaire. Ces résultats ont été confirmés *in vivo* où l'inhibition de son expression entraîne une augmentation du nombre de métastases chez les souris xénogreffées. Ces phénomènes sont dus à l'interaction directe de RIP140 avec le complexe β -Caténine/TCF dont il inhibe l'activité transcriptionnelle et contrebalance ainsi les effets liés à une activation aberrante de cette voie (Zhang *et al.* 2015). C'est pourquoi des recherches sont actuellement en cours afin d'utiliser RIP140 comme cible thérapeutique. Une étude de 2018 a montré que l'utilisation de Simvastatine, un hypolipidémiant de la famille des statines, permet d'induire son expression. Les résultats sont encourageants puisque la Simvastatine et RIP140 ont un effet synergique sur l'induction de l'apoptose de lignées cellulaires d'hépatocarcinome (Xia *et al.* 2018).

a) Cancers gastriques

Les cancers gastriques sont également caractérisés par la perturbation de voies de signalisation majeures telles que Wnt, Hippo ou Notch. Bien que leur incidence diminue d'année en année, ils restaient en 2018 la 5^{ème} forme de cancer la plus commune et la 3^{ème} cause de mortalité liée au cancer dans le monde (Rawla et Barsouk 2019). Les avancées tant au niveau du diagnostic que des traitements ont permis d'avoir une survie globale sur 5 ans de 95% pour les stades les plus précoces. Cependant, elle tombe à seulement 18% lorsque le diagnostic est posé à des stades avancés. C'est pourquoi le monde scientifique est en quête de nouveaux biomarqueurs afin de prédire l'avancée et l'agressivité de ces cancers.

Notre équipe s'est donc intéressée au rôle de RIP140 et de son partenaire LCoR dans les cancers gastriques. De manière intéressante, leur expression est fortement corrélée au stade TNM (Tumor Node Métastase ; système international de classification des tumeurs) de la tumeur ainsi qu'à son niveau de différenciation. De plus, leur niveau d'expression dans la tumeur est supérieur à celui du tissu sain (Triki *et al.* 2017). Au niveau cellulaire, notre équipe montre que RIP140 et LCoR exercent un effet anti-prolifératif dans des lignées de cancer gastrique (MKN45 et MKN74). Cet effet sur la prolifération est lié à une augmentation de l'expression de p21, un régulateur négatif du cycle cellulaire. Cette augmentation de l'expression de p21 est liée à une transactivation du facteur de transcription TEAD (*TEA domain family member*), un effecteur de la voie de signalisation Hippo (Triki *et al.*, en préparation).

b) Cancers colorectaux

RIP140 est un régulateur important de l'homéostasie et de la tumorigenèse intestinale, puisqu'il intervient dans la régulation des voies de signalisation Wnt/ β -Caténine et Notch/HES1 qui sont des voies de régulation du potentiel souche, de la différenciation et de la mort cellulaire ainsi que du développement tissulaire (Previs *et al.* 2015). Des travaux de notre équipe ont montré, chez des souris RIPKO ou RIPtg que RIP140 inhibe la prolifération et l'apoptose des cellules épithéliales de l'intestin. Cet effet s'exerce par une augmentation de l'expression de la protéine APC (*adenomatous polyposis coli*). Cette dernière intervient dans la formation du complexe permettant la phosphorylation de la β -caténine, ce qui entraîne sa dégradation par le protéasome. Une augmentation d'APC dans les cellules intestinales induit donc une diminution de l'activité de la voie Wnt/ β -Caténine et de l'expression de ses gènes cibles. De plus, l'expression de RIP140 tant au niveau protéique qu'au niveau de l'ARN messager est diminuée dans le tissu tumoral comparé au tissu sain. Ces résultats ont été reproduits dans des lignées cellulaires de cancer colorectal et ont permis d'établir qu'une forte expression de RIP140 est un marqueur de bon pronostic pour les patients atteints d'adénocarcinomes colorectaux (Lapierre *et al.* 2014) (Triki *et al.* 2017).

Une autre étude de notre équipe a montré que RIP140 intervient dans la voie de signalisation Notch et plus particulièrement sur l'expression du facteur de transcription HES1. La voie Notch est une cascade de signalisation dont le premier effecteur est l'un des récepteurs Notch. Lorsque l'un de ses ligands se fixe au récepteur, cela entraîne un premier clivage extracellulaire par une métalloprotéase. Celui-ci est suivi par un deuxième clivage intramembranaire par la γ -secretase, libérant ainsi le fragment intracellulaire de Notch (NICD). Celui-ci se déplace ensuite dans le noyau et interagit avec des facteurs de transcription tel que le RBPJ (*Recombination signal binding protein for immunoglobulin kappa J region*), afin d'induire la transcription de ses gènes cibles, tel que HES1, qui est lui-même un facteur de transcription. En effet, lorsque la voie Notch n'est peu ou pas activée, RIP140 stimule l'expression de HES1. Cependant, lorsque cette voie de signalisation est activée, RIP140 réprime l'expression de HES1. Cette dualité dans la régulation de l'expression de HES1 s'explique par le fait que ce dernier régule lui-même l'expression de RIP140. De plus, les deux protéines interagissent entre elles et se fixent au promoteur de HES1 afin de réguler son expression. HES1 et RIP140 ayant des rôles opposés sur la régulation de la prolifération cellulaire et la différenciation, cette boucle de rétrocontrôle négatif maintient une balance entre ces deux phénomènes et permet de réguler l'homéostasie intestinale (Sfeir *et al.*, en préparation).

Enfin, RIP140 influence également la signalisation des acides rétinoïques dans les cellules de cancer colorectal. En effet, l'équipe du Dr Imajo a démontré que RAR α contrôle l'expression des gènes nécessaires à la différenciation des cellules cancéreuses colorectales et que son activité est inhibée par

la cascade de signalisation ERK (*Extracellular signal-regulated kinases*). L'inhibition de l'activité de RAR α par ERK implique RIP140. Ce dernier interagit directement avec ERK et permet le recrutement des HDAC aux promoteurs des gènes cibles de RAR α inhibant ainsi leur expression (Imajo *et al.* 2017).

1.3.2 Cancer hématologiques

Bien que son rôle ait été étudié dans de nombreux organes, le rôle de RIP140 dans le tissu sanguin reste encore vague. On sait cependant que son expression est élevée dans les cellules souches hématopoïétiques qui donneront naissance aux différentes lignées sanguines (Huang *et al.* 2008). Le tissu sanguin est en effet composé de deux lignées cellulaires :

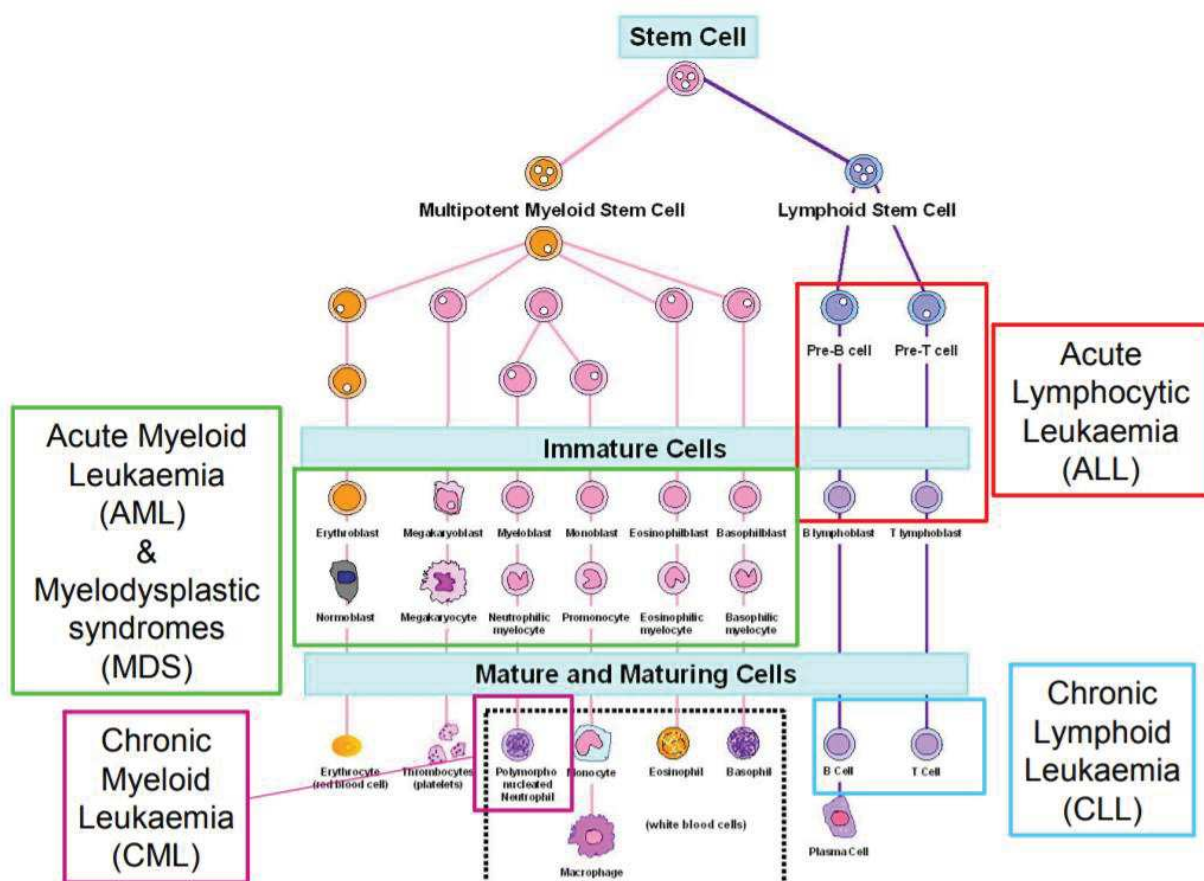


Figure 16 : Les différentes lignées hématopoïétiques et leurs cancers

D'après Microarray Innovations in LEukemia (MILE) study 2009

- La lignée myéloïde dont les progéniteurs vont se différencier en thrombocytes (plaquettes), érythrocytes (globules rouges) et les granulocytes (globules blancs de l'immunité innée).
- La lignée lymphoïde dont les progéniteurs vont se différencier en lymphocytes B, lymphocytes T et Lymphocytes *Natural Killer* (NK) (globules blancs de l'immunité acquise).

Les différents types de cancers affectant le tissu sanguin vont donc dépendre de la lignée affectée ainsi que du stade de différenciation du progéniteur à partir duquel la maladie se développe (Figure 8).

1.3.2.1 Leucémie lymphoïde chronique

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est la forme la plus courante de leucémie. Elle se traduit par la prolifération monoclonale et l'accumulation de lymphocytes B matures dans la moelle, le sang et les ganglions. Afin de discriminer la LLC d'autres hématopathologies, le diagnostic doit se faire par immunophénotypage des cellules sanguines par cytométrie en flux. Pour être diagnostiqué comme atteint de LLC, le patient doit présenter une numération de lymphocytes clonaux supérieur ou égale à 5000 cellules/mm³ et présentant les clusters de différenciation (CD) CD5, CD19 et le CD23. Les cellules peuvent également présenter une faible expression du CD20 et n'expriment que la forme κ ou λ de la chaîne légère.

Dans la lignée lymphoïde, RIP140 est faiblement exprimé dans les lymphocytes T, mais très fortement exprimé dans les lymphocytes NK.

Table 1 Expression of the *RIP140* gene in the different hematopoietic cellular types

Cell type	T cells	B cells	Monocytes	NK cells	Granulocytes
RIP140 relative expression	100	576	453	1,825	138

The expression levels of the *RIP140* gene were determined in normal granulocytes and FACS-sorted monocytes, B cells, T cells and NK cells. Values are expressed as percent of levels measured in T cells.
(Adapted from [22]).

Tableau 1 : Expression de *RIP140* dans différentes cellules hématopoïétiques

(Lapierre et al. 2015)

Dans cette pathologie, le niveau d'expression de RIP140 à une valeur prédictive et pronostique. En effet, il a été d'abord identifié comme ayant une valeur de bon pronostique dans une cohorte de 130 patients (Veer et al. 2006). Puis en 2011, des chercheurs ont établi une liste de 8 gènes, parmi lesquels figure *RIP140*, et dont la signature permet d'établir un score de risque pour les patients atteints de LLC (Lapierre et al. 2015).

Bien qu'aucune étude n'ait été faite pour étudier précisément le rôle de RIP140 dans cette pathologie, l'analyse de données issues de la littérature montre que son expression est dérégulée dans de nombreuses cohortes de patients. Cette dérégulation semble être liée à l'état mutationnel du gène *IGHV* (gène codant pour la partie variable de la chaîne lourde des immunoglobulines). De plus, notre équipe a établi qu'une faible expression de RIP140 est associée à une mauvaise survie globale et à un temps plus court de traitement après le diagnostic dans une cohorte de 107 patients. Pour finir, l'expression de RIP140 dans les cellules du microenvironnement tumoral est diminuée par rapport aux

cellules de donneurs sains. Compte tenu de l'importance du microenvironnement dans la progression des LLC (Herman et Wiestner 2016), il serait intéressant d'approfondir le rôle de RIP140 dans ces cellules.

Comme mentionné précédemment, le rôle de RIP140 dans d'autres hémato-pathologies a été peu étudié. Il a cependant été démontré que son expression est augmentée chez les patients atteints de leucémie aiguë myéloïde avec un chromosome 21 anormal et chez les patients avec un caryotype complexe (Baldus *et al.* 2004).

2. Les Leucémies Aiguës Myéloïdes

2.1 Généralités

Les leucémies aiguës myéloïdes (AML) sont un type de cancer qui touche les cellules hématopoïétiques de la lignée myéloïde et qui se traduit par une prolifération clonale de cellules progénitrices peu ou non différenciées, entraînant une diminution du nombre de cellules sanguines fonctionnelles, encore appelée cytopénie. Les symptômes peuvent varier en fonction du ou des types cellulaires affectés et peuvent comprendre une anémie, une dyspnée, des saignements et des ecchymoses, des infections bénignes, des pertes d'appétit et de la fatigue. Selon les chiffres de Santé Publique France, le nombre de nouveaux cas en France en 2018 était de 3428. Malgré une évolution des traitements et de la recherche depuis 30 ans, la survie globale sur 5 ans des patients reste faible, puisqu'elle est de 35 à 40% chez les patients de moins de 60 ans et descend entre 5 et 15% pour les patients de plus de 60 ans (Döhner, Weisdorf, et Bloomfield 2015).

2.2 Diagnostic

Les cellules leucémiques sont le plus souvent retrouvées au sein de la moelle osseuse ainsi que dans le sang périphérique. Dans de rares cas une infiltration de cellules leucémiques formant une tumeur solide dans d'autres organes est détectée ; on parle alors de sarcome myéloïde (SM) (*Almond et al. 2017*). Le diagnostic se fait par une numération de la formule sanguine (NFS) ou hémogramme, qui permet d'établir le nombre de cellules par population comprise dans le sang. S'il y a suspicion de leucémie aiguë myéloïde, un myélogramme (analyse d'une biopsie de moelle au microscope) est réalisé afin de confirmer le diagnostic. Selon les dernières directives de l'organisation mondiale de la santé, sont considérés comme atteints de leucémie aiguë myéloïde les patients dont la NFS et le myélogramme révèle un nombre de myéloblastes supérieur à 20% (*Arber et al. 2016*). Ce diagnostic est ensuite complété par une analyse génétique et cytogénétique permettant de classer les patients dans différentes sous catégories. Trois catégories de patients sont considérées atteints d'AML sans dépasser ce seuil de 20% :

- 1) Les patients présentant une mutation sur le gène de la nucléophosmine 1 (*NPM1*)
- 2) Les patients atteints d'une leucémie aiguë promyélocitaire (APL)

- 3) Les patients portant des anomalies cytogénétiques tel qu'une translocation du chromosome 8 au 21 t[8;21], une inversion du chromosome 16 (inv [16]) ou bien une translocation du chromosome 16 sur lui-même (t[16;16])

Ce seuil de 20% permettant de distinguer les AML des autres syndromes myélodysplasiques reste donc arbitraire et les caractéristiques génétiques et morphologiques des cellules permettent d'avoir un meilleur avis pronostique indépendant du nombre de blastes (Estey 2018).

2.3 Etiologie et facteurs de risques

Les AMLs apparaissent à la suite de perturbations génétiques au sein des progéniteurs hématopoïétiques. Elles peuvent se développer à la suite de perturbations génétiques nouvellement détectées, on parlera alors de AML *de novo*. Cependant, elles peuvent également se développer à la suite d'une pathologie médullaire précédemment diagnostiquée comme le syndrome myélodysplasique ou le néoplasme myéloprolifératif. On parlera alors de AML secondaire ou *s-AML*. Les *s-AML* représentent 10% des cas diagnostiqués de AMLs, et sont souvent de moins bon pronostic (Arana Yi *et al.* 2012). Cependant, cette proportion reste floue car une partie des syndromes myéloprolifératifs ne sont pas diagnostiqués avant l'AML.

Certaines AML font suite à un traitement par radiothérapie ou par chimiothérapie avec des agents alkylants ou des inhibiteurs de la Topoisomérase II. On parlera alors de AML lié à une thérapie ou *t-AML*.

Certaines maladies génétiques offrent également un terrain propice au développement d'AML. Parmi celles-ci on retrouve le syndrome plaquettaire familial, qui est causé par une mutation du gène *RUNX1*, facteur de transcription essentiel à la myélopoïèse (Galera, Dulau-Florea, et Calvo 2019). D'autres maladies génétiques favorisent également le développement des AML, tel que l'anémie de Fanconi (Nalepa et Clapp 2018) ou la trisomie 21 (Bhatnagar *et al.* 2016) dont les patients ont respectivement 8 et 10% de risque de développer une AML.

D'un autre côté, il existe également des facteurs extérieurs favorisant le développement des AMLs. Parmi ceux-ci on trouve l'exposition à des génotoxiques comme le benzène (McHale, Zhang, et Smith 2012) mais également l'exposition à des radiations. Cette exposition peut être chronique comme chez les travailleurs de l'industrie nucléaire (Ritz *et al.* 1999) ou accidentelle à la suite de bombardements nucléaires ou d'accidents dans des centrales (Inaba 2009) (Terry *et al.* 2005).

Enfin, certains facteurs de risques liés au mode de vie, comme le tabagisme (Colamesta *et al.* 2016) ou la surcharge pondérale (Li *et al.* 2017) augmentent le risque de développer une AML (Shallis *et al.* 2019)

2.4 Physiopathologie

Bien que les causes de l'apparition d'une AML varient d'un patient à l'autre, elles correspondent toutes à une reproduction clonale de blastes immatures. Cette prolifération se fait par l'acquisition d'anomalies chromosomiques ainsi que de mutations variées conférant aux cellules souches leucémiques un avantage prolifératif.

Cependant, nombre de mutations et de réarrangements chromosomiques dans des gènes pro-leucémiques sont détectés chez les patients âgés sans qu'aucun syndrome myélodysplasique ne soit diagnostiqué chez eux (Steensma *et al.* 2015). D'un autre côté, des modèles murins ont permis de démontrer que l'expression ectopique de protéines de fusion présentes chez certains patients atteints de leucémie n'était pas suffisante pour déclencher la formation de blastes chez ces souris (Higuchi *et al.* 2002) (Lh *et al.* 1999). Le déclenchement de mutations secondaires par l'administration d'agents mutagènes comme la N-nitroso-N-éthylurée (ENU) sont nécessaires pour induire la formation de blastes. Pour répondre à cette problématique, Kelly et Gilliland ont proposé un modèle dans lequel la

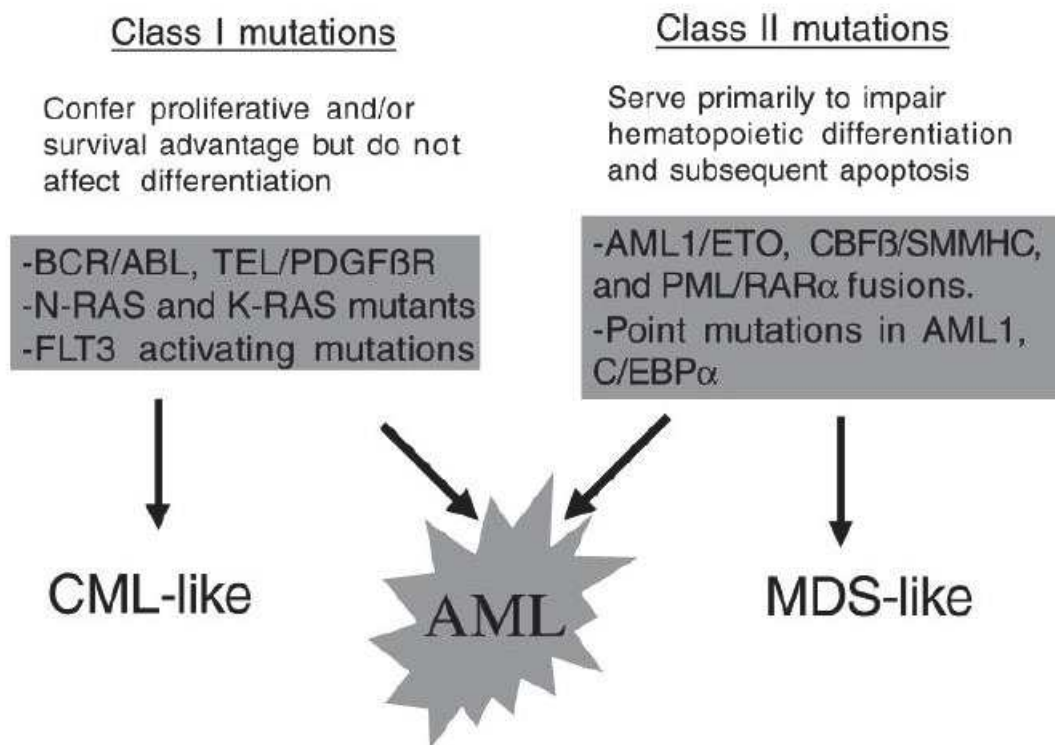


Figure 19 : Les différentes classes de mutation responsables du développement des AML

(Kelly et Gilliland 2002)

« coopération » entre deux classes de mutations et/ou réarrangements est nécessaire au développement d'une leucémie (Kelly et Gilliland 2002). Ils ont ainsi défini deux classes de mutations :

- La première classe de mutations confère un avantage prolifératif et une meilleure survie aux cellules pré-leucémiques. Ces gènes codent pour des protéines impliquées dans la signalisation des facteurs de croissance et dans la signalisation cellulaire. Ce type de mutation affecte principalement des tyrosines kinases comme KIT, JAK2 (*Janus Kinase 2*) ou FLT3 (*Fms-like tyrosine kinase 3*) mutées dans 1/3 des LAM à caryotypes normaux (Cancer Genome Atlas Research Network 2013). Ces mutations affectent également des tyrosines phosphatases comme PTPN11 (*Protein tyrosine phosphatase non-receptor type 11*), des GTPases comme Ras et des ubiquitines ligases comme CBS (Casitas B-lineage Lymphoma).
- Les mutations de classes II interviennent dans le blocage de la différenciation et de l'apoptose. Parmi ces mutations, on trouve la protéine de fusion PML-RAR α qui est issue d'une translocation entre le chromosome 15 et le chromosome 17. Cette translocation entraîne la juxtaposition des séquences des gènes PML (*promyelocytic leukemia*) et RAR α . Cette protéine de fusion bloque ensuite l'activité transcriptionnelle de nombreux RN dont RAR α , RXR ou encore TR (De Braekeleer, Douet-Guilbert, et De Braekeleer 2014), empêchant ainsi la différenciation des cellules hématopoïétiques. Parmi les mutations de classe II, on retrouve également d'autres protéines de fusion et mutations affectant les sous unités de CBF (*Core binding factor*), comme RUNX1 et CBF β (*core-binding factor subunit beta*). CBF est un facteur de transcription essentiel à l'hématopoïèse. Il est responsable du développement leucémique dans 20% des cas (Sinha, Cunningham, et Liu 2015). Les mutations les plus représentatives sont les t(8;21)(q22;q22) et inv(16)(p13q22)/t(16;16)(p13q22) qui aboutissent à la formation des protéines de fusion RUNX1-RUNX1T1 et CBF β -MYH11. Enfin, on retrouve des mutations de la protéine chaperonne nucléophosmine NPM1 (parmi les mutations les plus fréquentes chez les patients atteints de LAM) ainsi que le facteur de transcription majeur de l'hématopoïèse CEBPA, muté dans 10% des cas (Lagunas-Rangel *et al.* 2017).

Enfin, une troisième classe de mutations a émergé ces dernières années. Bien que celles-ci ont d'abord été classées comme des mutations ne rentrant pas dans les deux catégories précédentes, les recherches tendent à montrer qu'elles affectent principalement des gènes impliqués dans les modifications épigénétiques et le métabolisme. On retrouve ainsi des mutations de l'ADN méthyltransférase DNMT3, de la protéine de la famille Polycomb ASXL1 mais également des membres de la famille Ten-eleven translocation (TET) qui promeuvent la méthylation de l'ADN. On y trouve également des mutations des enzymes du métabolisme : les isocitrates déshydrogénases 1 et 2 (IDH1 et IDH2), retrouvées mutées dans 7 à 14% et 8 à 19% des cas respectivement (Megías-Vericat *et al.*

2019). Ces dernières, lorsqu'elles sont mutées, produisent un oncométabolite, le D-2-hydroxyglutarate, dont l'augmentation de la concentration cause des troubles du métabolisme ainsi que des modifications du profil épigénétique de la cellule (Dang *et al.* 2009).

2.5 Classification

Une première classification des différents sous-types d'AML a été proposée en 1976 par un groupe de 7 hématologues Français, Américain et Anglais. Cette classification appelée FAB pour *French-American-British* repose sur l'analyse morphologique et cytochimique des cellules. Cette classification définit à partir de quelle cellule progénitrice la maladie s'est développée ainsi que son niveau de maturation (Bennett *et al.* 1976). La classification s'établit comme décrite dans le tableau 2.

Sous-type	Nom
M0	Leucémie aiguë myéloïde avec différenciation minimale
M1	Leucémie aiguë myéloïde sans maturation
M2	Leucémie aiguë myéloïde avec maturation
M3	Leucémie promyélocitaire aiguë (LPA ou APL en anglais)
M4	Leucémie aiguë myélomonocitaire
M4Eo	Leucémie aiguë myélomonocitaire avec éosinophile
M5	Leucémie aiguë monocyttaire ou monoblastique
M6	Leucémie érythroblastique aiguë ou érythroleucémie
M7	Leucémie aiguë mégacaryocytaire ou mégacaryoblastique

Tableau 3 : Classification FAB des AMLs

Cette classification a peu à peu été abandonnée avec le développement des technologies de génétique et cytogénétique, car elle ne prenait pas en compte les différentes anomalies chromosomiques ainsi que les mutations. Le système de classification de l'organisation mondiale de la santé, mis à jour en 2016 (Arber *et al.* 2016), subdivise la maladie en plusieurs catégories :

Table 2. WHO Classification of AML and Related Neoplasms⁹

AML with recurrent genetic abnormalities

AML with t(8;21)(q22;q22.1); *RUNX1-RUNX1T1*

AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); *CBFB-MYH11*

APL with *PML-RARA*

AML with t(9;11)(p21.3;q23.3); *MLLT3-KMT2A*

AML with t(6;9)(p23;q34.1); *DEK-NUP214*

AML with inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); *GATA2, MECOM*

AML (megakaryoblastic) with t(1;22)(p13.3;q13.3); *RBM15-MKL1*

Provisional entity: AML with BCR-ABL1

AML with mutated *NPM1*

AML with biallelic mutations of *CEBPA*

Provisional entity: AML with mutated RUNX1

AML with myelodysplasia-related changes

Therapy-related myeloid neoplasms

AML, not otherwise specified

AML with minimal differentiation

AML without maturation

AML with maturation

Acute myelomonocytic leukemia

Acute monoblastic/monocytic leukemia

Pure erythroid leukemia

Acute megakaryoblastic leukemia

Acute basophilic leukemia

Acute panmyelosis with myelofibrosis

Myeloid sarcoma

Myeloid proliferations related to Down syndrome

Transient abnormal myelopoiesis (TAM)

Myeloid leukemia associated with Down syndrome

Tableau 5 : Classification des AML mise à jour en 2016 par l'organisation mondiale de la santé

(Cardarelli 2018)

Cette classification permet d'établir le fond génétique et/ou cytogénétique (55% des tumeurs ne présentent pas d'anomalies chromosomiques) et d'établir un pronostic de l'efficacité des traitements.

2.6 Pronostic

Un certain nombre de paramètres permettent d'établir l'efficacité des traitements :

- L'âge
- La cytogénétique et la génétique
- L'échelle de performance du patient (permet d'évaluer l'état de santé générale ainsi que la capacité à réaliser les activités du quotidien)
- Le caractère *de novo* ou secondaire de la leucémie

L'âge seul ne peut être pris en compte car un patient âgé (plus de 60 ans) avec de bonnes performances pourra être admissible à une chimiothérapie d'induction intensive. De plus, de nouvelles analyses montrent que d'autres paramètres comme le taux de plaquettes, de globules blancs, d'albumine ou créatinine dans le sang ont un fort impact sur la mortalité liée au traitement (TRM) (Walter *et al.* 2011). Il est également à noter que les s-AML et les t-AML sont de risque défavorable (Hulegårdh *et al.* 2015). C'est pourquoi l'analyse génétique et cytogénétique permet au praticien de classer plus efficacement le patient dans une des catégories : favorable, intermédiaire ou défavorable. Cette première liste a été établie en 2010, puis mis à jour par la suite, par un panel d'expert internationaux et sous l'impulsion du réseau public de recherche européen sur la leucémie, l'European Leukemia Network (ELN).

Tous ces paramètres permettent au praticien de déterminer le dosage et le type de traitement qu'il pourra administrer au patient afin d'atteindre une rémission complète (CR) avec une survie sans récurrence la plus longue possible.

Après avoir analysé les différents facteurs de risques du patients (âge, comorbidités, numération sanguine, profil génétique et cytogénétique), le praticien évalue si le patient pourra recevoir un traitement d'induction suivi d'un traitement de consolidation, ou s'il lui sera proposé un traitement alternatif. Le but du traitement d'induction est d'atteindre une rémission complète c'est-à-dire que le nombre de blastes leucémiques passe en dessous de 20%. Il sera ensuite complété par le traitement de consolidation qui permettra d'éviter une rechute du patient en éliminant toute trace de maladie résiduelle. De plus, des soins de soutien peuvent être proposés aux patients, notamment les plus âgés, afin de diminuer les risques de TRM. Des traitements prophylactiques pour prévenir des infections fongiques invasives, courantes chez les patients atteints d'AML, sont notamment utilisés (Nganthavee

et al. 2019). Des médicaments contre la mucosite (une inflammation des muqueuses de l'appareil digestif), présente chez 75% des patients ayant reçu une greffe de moelle osseuse, font également partie de l'arsenal thérapeutique permettant l'amélioration de la qualité de vie des patients (Nganthavee *et al.* 2019).

Catégorie de risque	Aberration génétique
Favorable	t(8;21)(q22;q22.1); RUNX1-RUNX1T1 inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16)(p13.1;q22); CBFβ-MYH11 NPM1 muté sans ou avec une expression faible de FLT3-Internal Tandem Duplication (ITD) Mutation biallélique de CEBPA
Intermédiaire	NPM1 muté avec une forte expression de FLT3-ITD NPM1 sauvage sans ou avec une faible expression de FLT3-ITD (sans lésion génétique de risque défavorable) t(9;11)(p21.3;q23.3); MLLT3-KMT2A Anomalies cytogénétiques non classées comme favorable ou défavorable
Défavorable	t(6;9)(p23;q34.1); DEK-NUP214 t(v;11q23.3); KMT2A réarrangé t(9;22)(q34.1;q11.2); BCR-ABL1 inv(3)(q21.3q26.2) ou t(3;3)(q21.3;q26.2); GATA2, MECOM(EVI1) -5 ou del(5q); -7; -17/abn(17p) Caryotype complexe, Monosomie NPM1 sauvage avec une forte expression de FLT3-ITD RUNX1 muté ASXL1 muté TP53 muté

Tableau 7 : Classification des catégories de risque en fonction du caryotype et des mutations

Adapté de Döhner et al. 2017

2.7 Traitements

2.7.1 Traitement d'induction

a) Traitement d'induction classique

Le traitement d'induction actuel est désigné sous le terme de 7+3 puisqu'il consiste en un traitement continu de 7 jours avec 100 à 200 mg/m² de cytarabine (ARA-c) en intraveineuse suivi d'un traitement de 3 jours avec de l'anthracycline (60mg/m² de daunorubicine ou 12mg/m² d'idarubicine ou de mitoxantrone). La cytarabine agit comme un anti-métabolite. En effet, du fait de sa forme analogue à la cytosine, la molécule est intégrée dans l'ADN des cellules et inhibe les enzymes responsables de la réplication de l'ADN. Les anthracyclines (daunorubicine ou idarubicine) quant à elles sont des molécules intercalantes, c'est-à-dire qu'elles se fixent entre les bases azotées de l'ADN, et ainsi inhibent la Topoisomérase II. L'inhibition de cette enzyme, responsable de l'enroulement de l'ADN grâce à sa capacité à produire des cassures doubles brins, provoque un blocage de la réplication et une

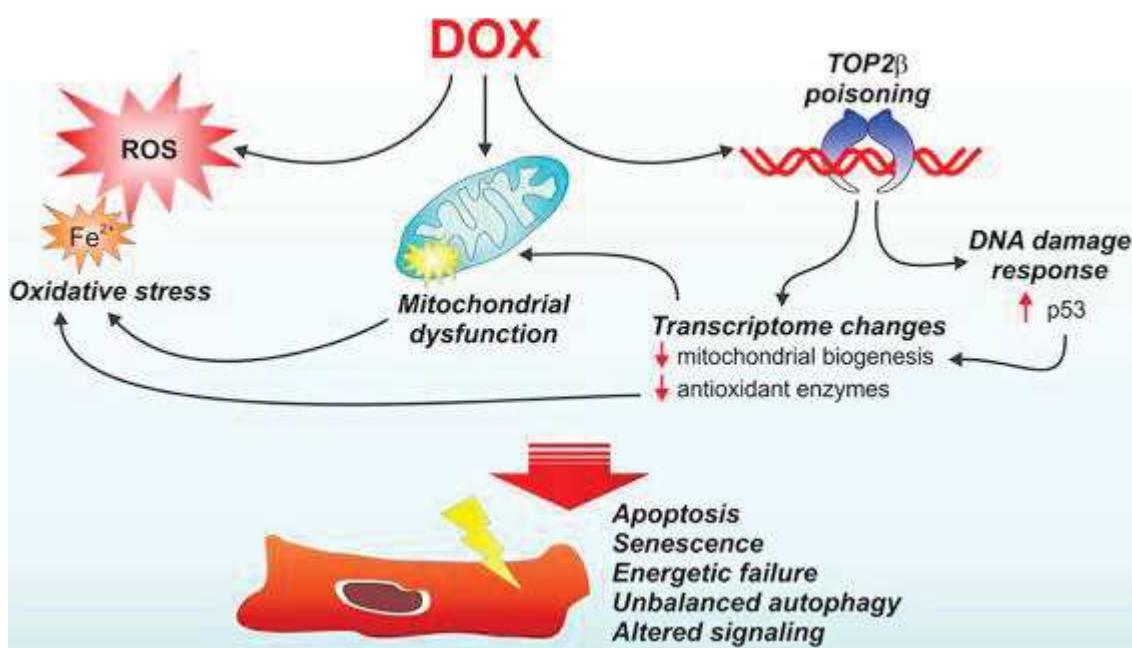


Figure 22 : Mode d'action des anthracyclines

(Mercurio et al. 2016)

mort de la cellule. Il est à noter que ces deux médicaments n'ont pas de cibles spécifiques aux cellules cancéreuses, ce qui explique en partie leur toxicité. Ce traitement est principalement conseillé pour les patients de pronostic favorable et intermédiaire et avec un faible risque de TRM (De Kouchkovsky et Abdul-Hay 2016). De nombreuses études ont été réalisées afin de déterminer si des doses plus importantes de cytarabine ou d'anthracycline pouvaient améliorer l'efficacité du traitement (Burnett

et al. 2015) (Krug *et al.* 2016). Malheureusement, le gain en termes de rémission complète est souvent compensé par l'augmentation de la toxicité du traitement c'est pourquoi ces thérapies sont réservées aux tumeurs réfractaires (Löwenberg 2013) (De Kouchkovsky et Abdul-Hay 2016). Cependant certains groupes de patients semblent bénéficier d'une augmentation du taux de daunorubicine à 90mg/m² notamment les patients de moins de 65 ans (Lee *et al.* 2011), ainsi que ceux possédant une copie mutée de FLT3 (Burnett *et al.* 2016). Enfin d'autres types de traitement comme la combinaison Fludarabine, Cytarabine, Idarubicin associés au facteur de stimulation des colonies de granulocytes (G-CSF) (FLAG-IDA) sont particulièrement efficaces chez les patients de pronostic défavorable (Montesinos *et al.* 2007),

b) Traitements d'induction pour les patients non éligibles au traitement intensif

Bien qu'il n'existe pas de directive précise quant au choix du traitement à utiliser pour les patients non éligibles à une thérapie intensive, un certain nombre de traitements existent. Des doses plus faibles de cytarabine (20mg/m² en injection sous-cutanée) peuvent induire une réponse chez 15 à 20% des patients, mais avec une survie moyenne de 5 à 6 mois (Hills et Burnett 2011).

Ce traitement peut être proposé en combinaison avec d'autres molécules tels que les agents hypométhylants comme la décitabine (un analogue de pyrimidine) ou l'azacitidine (Kantarjian *et al.* 2012) (Dombret *et al.* 2015).

Enfin, le vénétoclax, un inhibiteur de B-CL2 qui favorise l'apoptose des cellules leucémiques, donne des résultats prometteurs avec des rémissions rapides et durables tout en limitant la mortalité précoce (Wei *et al.* 2019).

c) Traitements des leucémies aiguës promyélocitaires

Les leucémies aiguës promyélocitaires sont caractérisées, dans 95% des cas, par la translocation réciproque entre le chromosome 15 et le chromosome 17 t(15;17), entraînant la formation de la protéine de fusion PML-RAR α (Cull et Altman 2014). Cette protéine de fusion inhibe la transcription des gènes nécessaires à la différenciation des cellules hématopoïétiques. Cependant, ces cellules sont également sensibles aux agents de différenciation que sont l'ATRA (*all-trans retinoic acid*) et l'ATO (arsenic trioxide). C'est pourquoi les APL sont actuellement traitées avec une combinaison d'agent de différenciation combiné à de la chimiothérapie, à différent dosages et avec différentes combinaisons. Les traitements actuels de l'APL fonctionnent bien puisque certains essais cliniques avec des

combinaisons d'ATRA et d'idarubicine atteignent des taux de rémission complète allant jusqu'à 95% (Crespo-Solis *et al.* 2016).

d) Nouvelles thérapies

1) Inhibiteurs de FLT3

Les duplications en tandem interne (ITD) de FLT3 sont retrouvées chez un quart des patients de moins de 60 ans et chez 15% des patients plus âgés. De plus, des mutations dans le domaine tyrosine kinase sont retrouvées chez 5 à 10 % de patients, constituant ainsi une cible intéressante pour des thérapies personnalisées (Estey 2018). Un essai clinique a été mené par Stone *et al* en utilisant la midostaurine, un inhibiteur de FLT3, en complément d'un traitement en 7+3 classique et également durant la phase de consolidation (Stone *et al.* 2017). Les résultats montrent une amélioration significative de la survie sans évènement et de la survie globale des patients de moins de 60 ans. C'est pourquoi elle a été autorisée par la *Food and Drugs Administration* (FDA) le 28 avril 2017 et le 18 septembre 2017 en France. D'autres inhibiteurs de tyrosine kinase sont également à disposition des médecins comme le crénolanib, qui est plus efficace contre certaines formes mutées de FLT3 (Galanis *et al.* 2014), le gilteritinib qui montre une augmentation du pourcentage de rémission et une survie plus longue pour les patients atteints d'une AML en rechute ou réfractaire (Perl *et al.* 2019), le quizartinib dont l'efficacité semble avoir été démontré dans plusieurs essais cliniques (Cortes *et al.* 2019) mais un plus grand nombre d'essais reste tout de même nécessaire pour s'assurer de sa plus grande efficacité (Zhou, Ge, et Chen 2019). Ce dernier a pourtant reçu un avis négatif de l'agence européenne de la santé, le 18 octobre 2019, pour laquelle la faible augmentation de la survie globale des patients ne contrebalançait pas les risques apportés par la toxicité du médicament.

2) Thérapie ciblant le CD33

CD33 ou SIGLEC-3 (*sialic acid binding Ig-like lectin 3*) est une protéine membranaire exprimée par les cellules de la lignée myéloïde, les blastes leucémiques ainsi que par les cellules souches leucémiques, c'est pourquoi elle constitue une cible intéressante pour les thérapies utilisant des anticorps. En effet, le Gemtuzumab ozogamicin (GO) est un anticorps monoclonal dirigé contre CD33, couplé à un puissant agent toxique, la calichéamicine. Cette dernière crée des lésions de l'ADN en s'intercalant dans le petit sillon de la molécule d'ADN, entraînant ainsi la mort des cellules. Le GO est donc un immunoconjugué ou *antibody-drug conjugate* (ADC). Il est notamment efficace dans le traitement des APL car ces cellules

leucémiques expriment fortement le CD33 (Lo-Coco *et al.* 2004). Il a été retiré du marché en 2010 dû à une augmentation des décès prémature lors d'un traitement 7+3 combiné à l'administration de GO (Baron et Wang 2018). Cependant, à la suite d'une méta-analyse réalisé en 2014 (Hills *et al.* 2014) montrant un effet bénéfique pour la survie des patients ayant des pronostic ELN favorable et intermédiaire, il a de nouveau été autorisé par la FDA en 2017. La Haute autorité a la santé le préconise en association avec la daunorubicine et la cytarabine, en traitement de première intention lors des phases d'induction et de consolidation. Il doit être prescrit au patient atteint de AML CD33+ *de novo*, vierge de tout traitement et en bon état général, à l'exception des patients avec une mutation FLT3 et éligible à la midostaurine et des patients atteints de APL, conformément à l'autorisation de mise sur le marché. Ceci a ouvert la porte au développement d'autres ADC comme le 225Ac-lintuzumab, un anticorps anti CD33 conjugué à un radionucléide, mais également des anticorps bi-spécifique (AMG 330, AMG 673, AMV564) ou tri-spécifique (161533 TriKE fusion protein). Les essais cliniques étant encore à des phases précoces, il est difficile de connaître l'efficacité de ces traitements, mais promettent sans doute de nouvelles voies thérapeutiques pour les années à venir.

3) CPX-351 (Vyxeos)

Le CPX-351 (Vyxeos) est une nouvelle formulation du traitement classique daunorubicine et cytarabine par encapsulation liposomale avec un ratio molaire fixe de 1:5. Cette encapsulation permet une exposition prolongée des cellules leucémiques sans augmenter la toxicité non hématologique. Cette baisse de la toxicité peut aussi s'expliquer par le fait que la plus importante internalisation des liposomes dans des vacuoles cytoplasmiques par les cellules leucémiques par rapport aux cellules saines (Mayer, Tardi, et Louie 2019). Un essai clinique de phase III a montré que le gain de survie globale pour les patients âgés de 60 à 75 ans était de 3,6 mois. Ce bon résultat est cependant à contrebalancer avec une augmentation du nombre d'évènements graves et notamment de septicémie (59% contre 43% pour la daunorubicine et la cytarabine en association libre). C'est pourquoi la Haute Autorité de Santé (HAS) considère, compte tenu des informations actuelles que le CPX-351 « apporte une amélioration du service médical rendu mineure ». Cette évaluation pourra être revue à la hausse dans les années futures, avec l'augmentation du nombre d'essais cliniques.

2.7.2 Traitement de consolidation et d'intensification

Après le traitement d'induction, le praticien doit évaluer au bout de 14 jours l'efficacité du traitement par biopsie, qui sera ensuite analysé par RT-qPCR et cytométrie en flux multiparamétrique (Döhner *et al.* 2010). Si la rémission complète est atteinte, le patient se voit prescrire un traitement de consolidation. La chimiothérapie de consolidation consiste en plusieurs cycles de fortes doses de cytarabine administrés à 3g/m², bien que des données semblent montrer que des doses plus faibles ou des schémas d'administration plus condensés peuvent avoir des effets comparables (Löwenberg 2013). Si le patient ne répond pas, il pourra recevoir d'autres cycles de traitement de consolidation ou un traitement spécifique pour les patients réfractaires ou en rechute.

Si le patient répond à la thérapie de consolidation, le praticien devra évaluer le meilleur traitement d'intensification à lui proposer. En effet, il peut être composé d'un traitement chimiothérapeutique, d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques, ou des deux. Les deux approches comportent des risques et des avantages, qui doivent être évalués afin d'atteindre un minimum de maladie résiduelle (dernières cellules leucémiques uniquement détectables par des techniques de génétique et cytogénétique). Les groupes à risque cytogénétique défavorable et intermédiaire vont ainsi, en général, plus bénéficier d'une greffe de cellules souches que d'un traitement chimiothérapeutique seul (Yanada *et al.* 2005) (Estey 2018). En effet, pour les patients de pronostic favorable, la balance bénéfice/risque entre la chimiothérapie et les risques de développer une maladie liée à la transplantation ne leur est pas favorable (Cornelissen et Blaise 2016). Enfin, les patients de plus 60 ans ne sont souvent pas éligibles aux greffes de moelle osseuse car ils présentent d'autres co-morbidités les empêchant de recevoir ce type de traitement.

La greffe de cellules souches hématopoïétiques peut être de deux types :

- 1) le donneur est une personne extérieure compatible, on parlera alors d'allogreffe.
- 2) les cellules souches proviennent du patient lui-même et l'on parlera alors d'autogreffe.

L'allogreffe permet d'avoir une forme de traitement supplémentaire puisque les cellules du donneur peuvent attaquer les cellules leucémiques, un phénomène appelé *graft-versus-leukemia effect*. Ce phénomène est cependant contrebalancé par le fait que les leucocytes du donneur peuvent également attaquer les cellules saines de l'hôte, appelé maladie du greffon contre l'hôte (Sweeney et Vyas 2019). Dans les deux cas, le patient en attente de greffe va recevoir une chimiothérapie intense avec des agents alkylants comme la fludarabine, la cytarabine, l'amsacrine et le cyclophosphamide. Ce traitement peut être complété par une irradiation totale du patient, afin d'atteindre l'aplasie

médullaire (absence de cellules souches hématopoïétiques dans la moelle). Ce traitement est administré pour deux raisons :

- 1) éliminer les dernières cellules leucémiques avec des doses de médicaments plus élevées, puisque la myélotoxicité n'est plus un facteur limitant.
- 2) entraîner une aplasie médullaire ainsi qu'une immunosuppression afin de maximiser les chances de réussite de la greffe.

Cette double action permet de diminuer le risque de rechute (Østgård *et al.* 2018). Les patients reçoivent un traitement préparatoire à la greffe d'intensité variable en fonction de leur condition ainsi que du minimum de maladie résiduelle, afin qu'il soit plus efficace et facilement supportable (Bacigalupo *et al.* 2009). Le patient va ensuite recevoir les cellules souches hématopoïétiques HLA (*human leukocyte antigen*) compatible d'un de ses frères et/ou sœurs ou d'un donneur extérieur compatibles. Lorsqu'aucun donneur n'est disponible ou en état de pouvoir faire un don de moelle osseuse, une greffe à partir d'un membre de la famille haplo-identique (ne possédant que la moitié des dix allèles HLA en commun avec le receveur) ou de sang de cordon ombilical peut être envisagé.

Les cellules souches seront ensuite prélevées directement dans la moelle osseuse, ou bien à partir du sang périphérique du donneur. Pour ce dernier cas, le patient se verra prescrire des facteurs de croissance comme le G-CSF ou des inhibiteurs du récepteur aux chimiokines CXCR4 comme le Plerixafor, afin de stimuler la prolifération et la circulation dans le sang périphérique des cellules souches hématopoïétiques. Le patient recevra ensuite la greffe par intraveineuse et les cellules souches viendront repeupler la niche hématopoïétique.

2.7.3 Traitement pour les patients en rechute ou réfractaires

Les patients sont considérés comme réfractaires lorsqu'ils ne sont toujours pas en rémission après un deuxième cycle de traitement en 7+3 comme défini par l'ELN (Döhner *et al.* 2017). Il n'existe malheureusement pas de thérapie standard pour ces patients. Elle est souvent constituée d'une combinaison de différents agents à de fortes concentrations comme la combinaison FLAG-IDA ou des doses intermédiaires d'ARA-C (IDAC) en combinaison avec la daunorubicin à 45-60 mg/m², de l'idarubicin à 8-10 mg/m², ou du mitoxantrone à 8-10 mg/m². Cependant, le meilleur choix pour les AML réfractaires semble être la greffe de cellules souches hématopoïétiques (Montesinos *et al.* 2019). Elle peut être précédée d'un traitement chimiothérapeutique court suivi d'un traitement de conditionnement avec des doses réduites. En effet, des essais cliniques ont montré que les patients ayant reçu ces traitements atteignent des niveaux de rémission complète entre 70% et 90% ainsi

qu'une survie globale sur 4 ans entre 32 et 45% (Holtick *et al.* 2016) (Schmid *et al.* 2006). Cependant si le patient fait une rechute après la greffe, les chances de survies restent faibles, d'autant plus si elle intervient peu de temps après la greffe. En effet la survie globale sur 3 ans est de 38% pour les patients chez qui la rechute intervient 3 ans après la greffe, et de seulement 4% pour les patients chez qui la rechute apparaît entre 1 et 6 mois après la greffe (Bejanyan *et al.* 2015).

D'autres traitements, et notamment les thérapies ciblées précédemment décrites sont également utilisés dans les AML réfractaires ou en rechute. On retrouve ainsi l'Ivosidenib pour les patients mutés IDH1 (DiNardo *et al.* 2018), l'Enasidenib, pour les patients mutés IDH2 (Stein *et al.* 2017), mais également des combinaisons d'agents hypo-méthylants et d'anticorps inhibiteurs du point de contrôle immunitaire, comme l'ipilimumab (inhibiteur de CTLA4), ont montré, des résultats intéressants lors des essais cliniques (Daver *et al.* 2018).

La résistance aux traitements, notamment dans les LAM, est dû à un métabolisme de la phosphorylation oxydative accru (Farge *et al.* 2017). C'est pourquoi l'étude du métabolisme des cellules cancéreuses peut nous donner des pistes pour dépasser cette résistance aux traitements.

3. Le métabolisme des cellules cancéreuses

3.1 Généralités

Les cellules cancéreuses sont capables de modifier leur métabolisme afin de répondre à leur besoin accru en nutriments, nécessaires à leur prolifération. L'une des premières observations de ce phénomène a été faite par Otto Warburg dans une publication de 1927 (Warburg, Wind, et Negelein 1927), dans laquelle il décrit une plus grande consommation de glucose ainsi qu'une augmentation de la sécrétion de lactate par les cellules tumorales. Dans les cellules saines, le glucose est oxydé par la mitochondrie en présence d'oxygène, mais lorsqu'il est absent, le glucose est directement converti en lactate. Ce phénomène, appelé glycolyse aérobie, ou effet Warburg, a depuis été décrit dans de nombreux types de cancer comme le cancer du sein (Fu *et al.* 2018), le cancer du côlon (Hong *et al.* 2019) ou l'hépatocarcinome (Chen *et al.* 2018). C'est ce phénomène qui est également exploité dans le système d'imagerie de tomographie par émission. Le patient se voit administrer du glucose radioactif marqué, le ^{18}F fluorodeoxyglucose, qui ne va pas être métabolisé au-delà des premières étapes de la glycolyse et s'accumule donc dans la tumeur et les éventuelles métastases. Les cellules à forte activité métabolique seront ensuite détectées par captation des photons émis par le glucose radioactif (Figure 11).

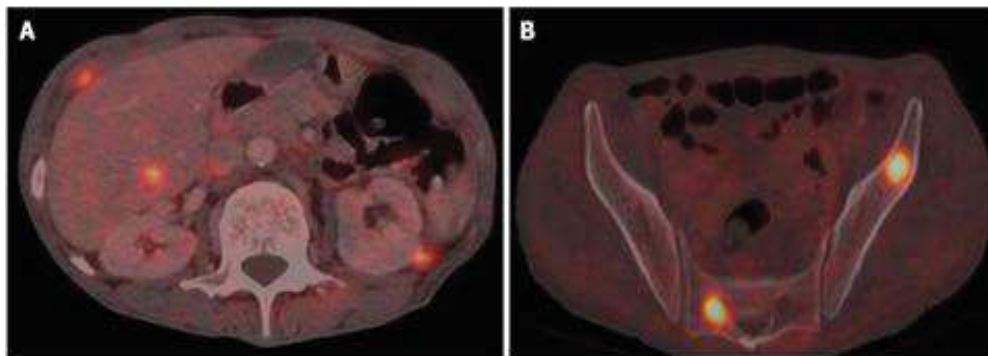


Figure 23 : Tomographie par émission de positrons

Détection de métastases de cancer du poumon non à petites cellules.

(Garg et al. 2016)

Dans ce chapitre j'aborderai dans un premier temps le métabolisme des cellules saines pour ensuite aborder celui des cellules cancéreuses.

3.2 Les différentes voies métaboliques cellulaires

a) La glycolyse

Le glucose est la principale source d'énergie des cellules eucaryote. A travers une série de réactions chimiques catalysées par des enzymes, le glucose va être transformé en différents intermédiaires riches en énergie pouvant alimenter différentes voies métaboliques comme la voie des pentoses phosphates ou le cycle de Krebs, pour *in fine* aboutir à la production de pyruvate. Ces réactions cataboliques faisant intervenir 10 enzymes ont lieu dans le cytoplasme et sont séparées en 3 phases :

- La phase 1 : Elle permet d'activer les hexoses par phosphorylation successives. Ce sont donc des réactions qui demandent une dépense d'énergie sous la forme de molécules d'ATP. Ces réactions permettent tout d'abord phosphoryler le glucose afin d'empêcher son relargage dans le milieu extra cellulaire par les transporteurs de glucoses, ensuite de produire du glucose-6-phosphate (G6P) qui est le métabolite d'entrée de la voie des pentoses phosphate. Le G6P va ensuite être métabolisé en fructose-6 phosphate par une phosphofructoisomérase puis en fructose-1,6 biphosphate par une phosphofructokinase, réaction qui consomme une nouvelle molécule d'ATP.
- La phase 2 : Elle permet d'obtenir après deux réactions enzymatiques deux molécules de glycéraldéhyde-3-phosphate.
- La phase 3 : C'est la phase dite de remboursement puisque c'est cette phase qui va permettre de récupérer l'énergie sous forme de molécule d'ATP investie durant la phase 1. Cette dernière phase va permettre la production de 2 molécules d'ATP pour 1 molécule de glucose.

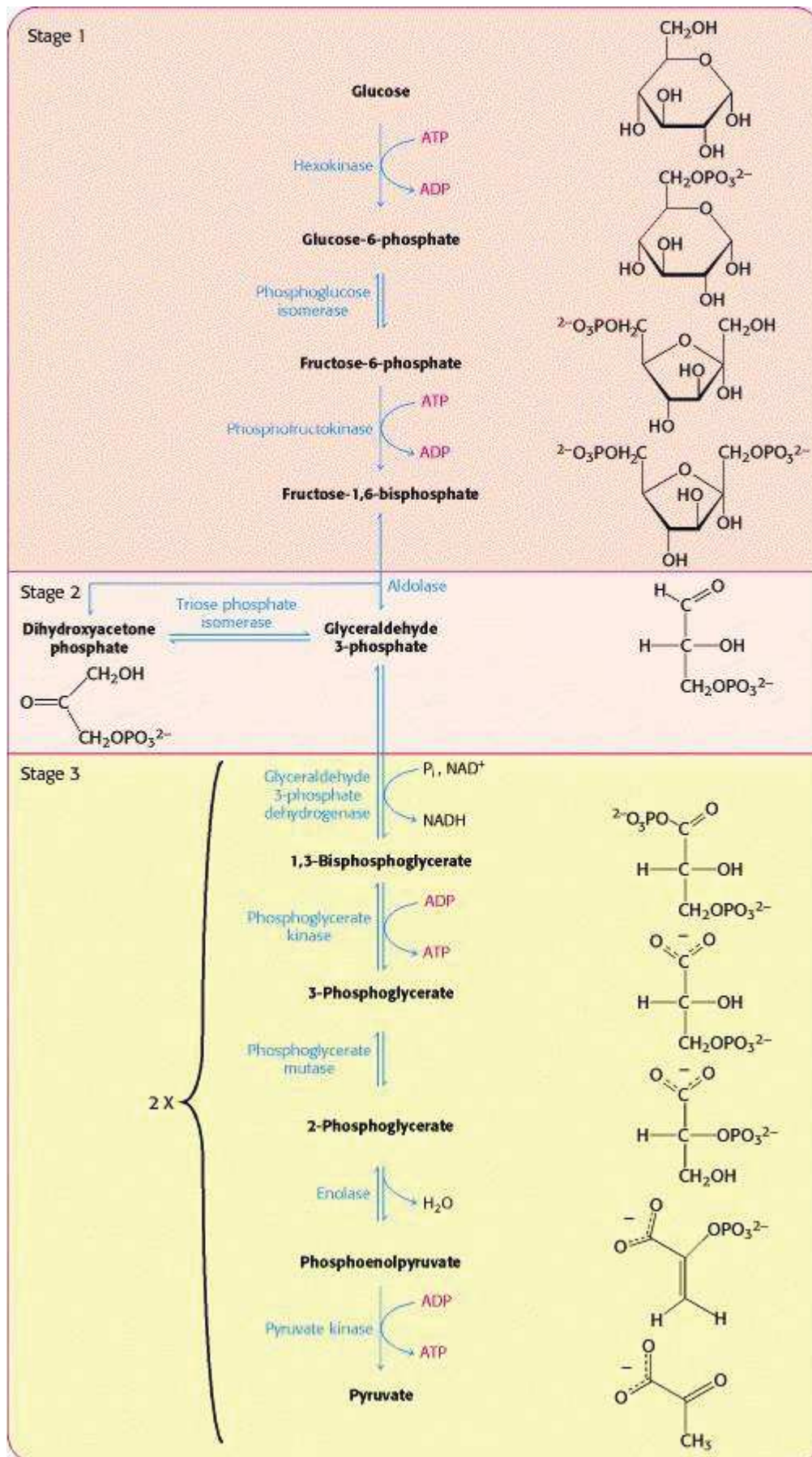


Figure 25 : La glycolyse

(Berg, Tymoczko, et Stryer 2002)

- être transformé en lactate en milieu anaérobie qui pourra être utilisé par d'autres cellules proches grâce à la conversion du lactate en glucose par néoglucogénèse
- transloquer dans la matrice mitochondriale pour être utilisé dans le cycle de Krebs.

La voie des pentoses phosphates (PPP) dérive de la glycolyse par son métabolite d'entrée le G6P et permet de convertir les hexoses en pentoses. Cette voie métabolique est, contrairement aux autres, plus anabolique que catabolique puisqu'elle permet de générer du NADPH, qui intervient dans la lutte contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en réduisant le glutathion mais également dans la



synthèse des acides gras et du cholestérol. Elle permet également de produire du ribose 5-phosphate (R5P), molécule élémentaire à la synthèse des nucléotides ainsi que des coenzymes pyrimidiques (NAD^+ et NADP^+) et des coenzymes flaviniques (Flavine mononucléotide (FMN) et FAD). Enfin, elle permet de synthétiser de l'érythrose-4-phosphate, qui est le précurseur de certains acides aminés aromatiques.

La voie des pentoses phosphates peut être séparée en deux branches :

- Une branche oxydative (en bleu) qui commence par l'oxydation du G6P afin d'obtenir *in fine* du R5P ainsi que la réduction de deux molécules de NADP^+ en NADPH .
- Une branche non oxydative (en jaune) qui permet d'obtenir du R5P mais cette fois-ci à partir du fructose 6-phosphate ou du glycéraldéhyde 3-phosphate.

c) Le cycle de Krebs

Le cycle de Krebs est un ensemble de réactions enzymatiques centrales à la synthèse de précurseurs métaboliques nécessaires à la production d'énergie et d'accepteurs d'électrons qui seront utilisés par

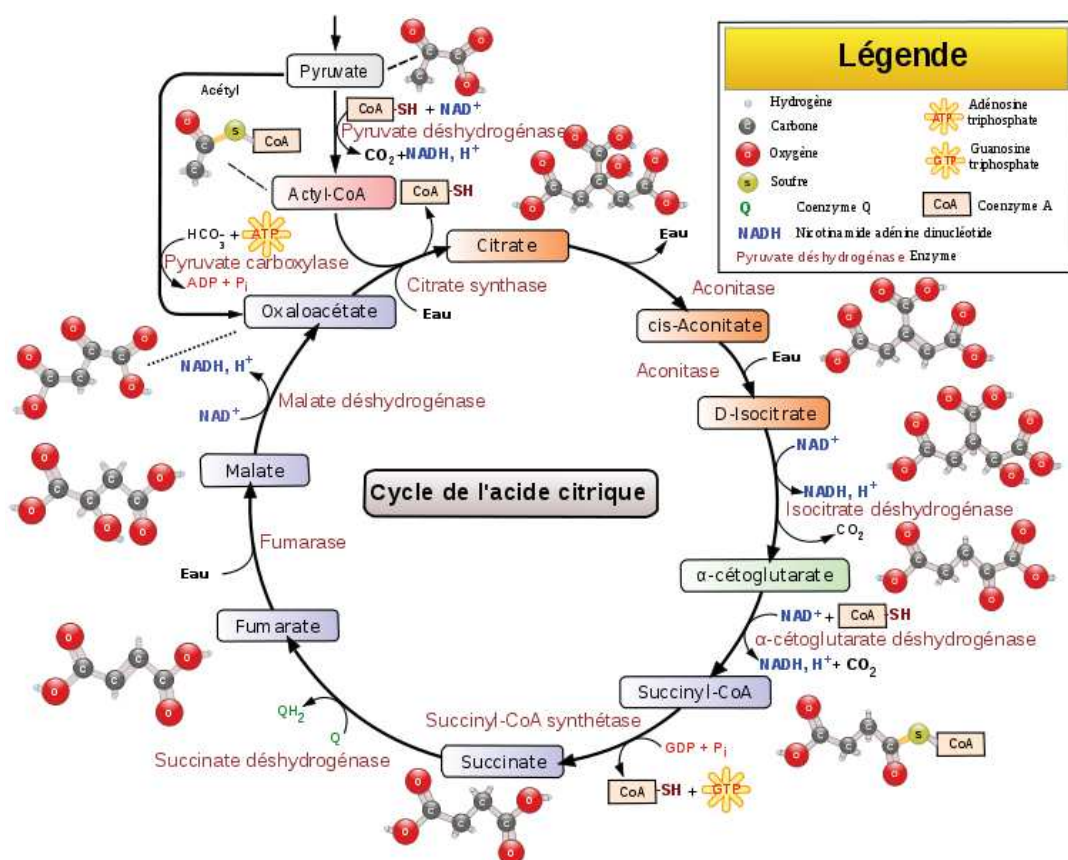


Figure 29 : le cycle de Krebs

https://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:Citric_acid_cycle_with_aconitate_2_fr.svg

la chaîne respiratoire mitochondriale. Il permet également la synthèse de macromolécules comme les lipides, les acides aminés, et les acides nucléiques.

Le pyruvate entre dans le cycle de Krebs soit sous forme acétyl-coenzyme A (acétyl-coA), réaction catalysée par la pyruvate déshydrogénase, ou sous forme d'oxaloacétate, réaction catalysée par la pyruvate carboxylase. Ces deux molécules subissent ensuite 8 réactions enzymatiques formant un cycle et permettant la synthèse *in fine*, d'une molécule d'ATP, d'une molécule de GTP, ainsi que de nucléotides réduits comme le nicotinamide adénine dinucléotide (NADH), le flavine adénine dinucléotide (FADH₂).

Ce cycle peut être alimenté par trois sources différentes :

- 1) le glucose, qui est sa source principale dans les cellules saines,
- 2) les acides gras, qui vont subir une β -oxydation afin d'être transformés en acétyl-coA,
- 3) la glutamine qui, par glutaminolyse, donne du glutamate, de l'aspartate, du pyruvate, du lactate, de l'alanine ou encore du citrate qui pourront donc entrer dans le cycle à différentes étapes.

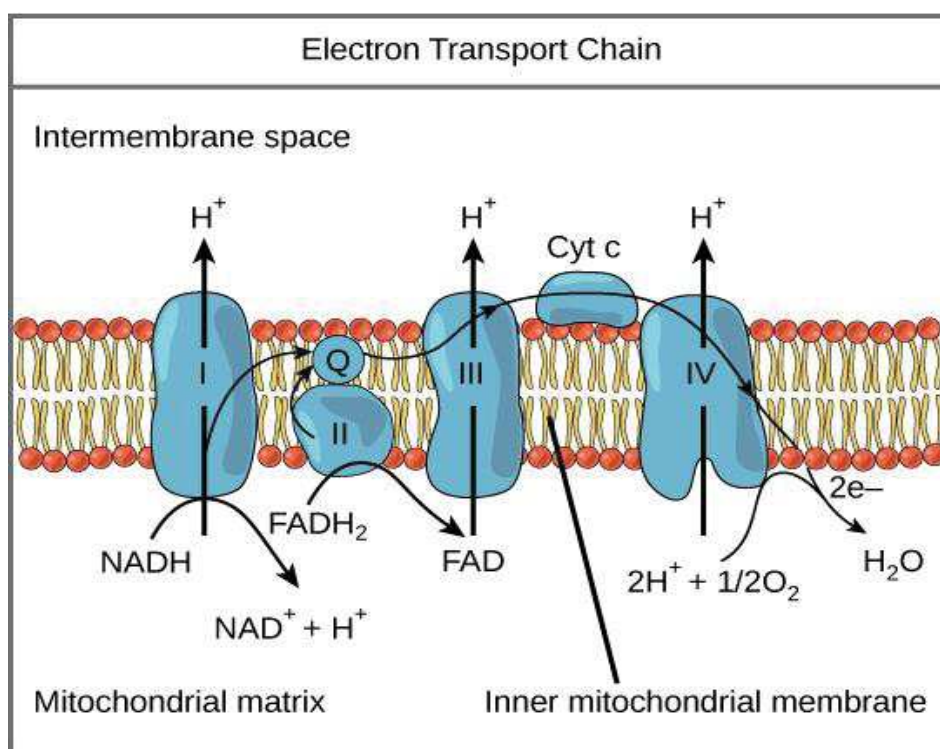


Figure 32 : chaîne respiratoire mitochondriale

Les molécules donneuses d'électrons, le NADH et le FADH₂ généré par le cycle de Krebs ou la β -oxydation, sont oxydées par le complexe I (NADH-ubiquinone oxydoréductase) ou le complexe II (succinate ubiquinone oxydoréductase) respectivement. Cette oxydation permet de libérer des électrons riches en énergie qui seront utilisés par les complexes I, III (coenzyme Q-cytochrome c oxydoréductase) et IV (cytochrome c oxydase), afin de transporter les protons dans l'espace intermembranaire. Enfin, les électrons seront cédés à leur accepteur final, l'oxygène moléculaire. La membrane interne mitochondriale étant imperméable aux protons, cela engendre un gradient entre l'espace intermembranaire (chargé positivement) et la matrice mitochondriale (chargée positivement). Ce gradient sera utilisé par l'ATP synthase, qui est une pompe ionique inversée, afin de phosphoryler l'ADP en ATP.

(« Biology - OpenStax CNX » s. d.)

d) La phosphorylation oxydative

La phosphorylation oxydative (OXPHOS) correspond à une cascade de réactions d'oxydo-réduction catalysées par des complexes protéiques présents dans la membrane interne de la mitochondrie et permettant de générer de l'ATP. Il est à noter que le couplage de la glycolyse avec le cycle de Krebs et la phosphorylation oxydative permet de produire 36 molécules d'ATP à partir d'une molécule de glucose. Bien que plus efficace en termes de rendement que la glycolyse seule, l'OXPHOS est dépendante de l'apport en oxygène, les cellules vont donc s'appuyer sur l'une ou l'autre en fonction de leur environnement ainsi que de leurs besoins en énergie et en précurseurs métaboliques.

3.3 le métabolisme des cellules cancéreuses

Afin d'alimenter leur prolifération, les cellules cancéreuses augmentent leur apport en nutriments et détournent certaines voies métaboliques afin de générer les molécules nécessaires à leur croissance. Le détournement de ces voies métaboliques se fait grâce à l'activation d'oncogènes contrôlant le métabolisme ou l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeur.

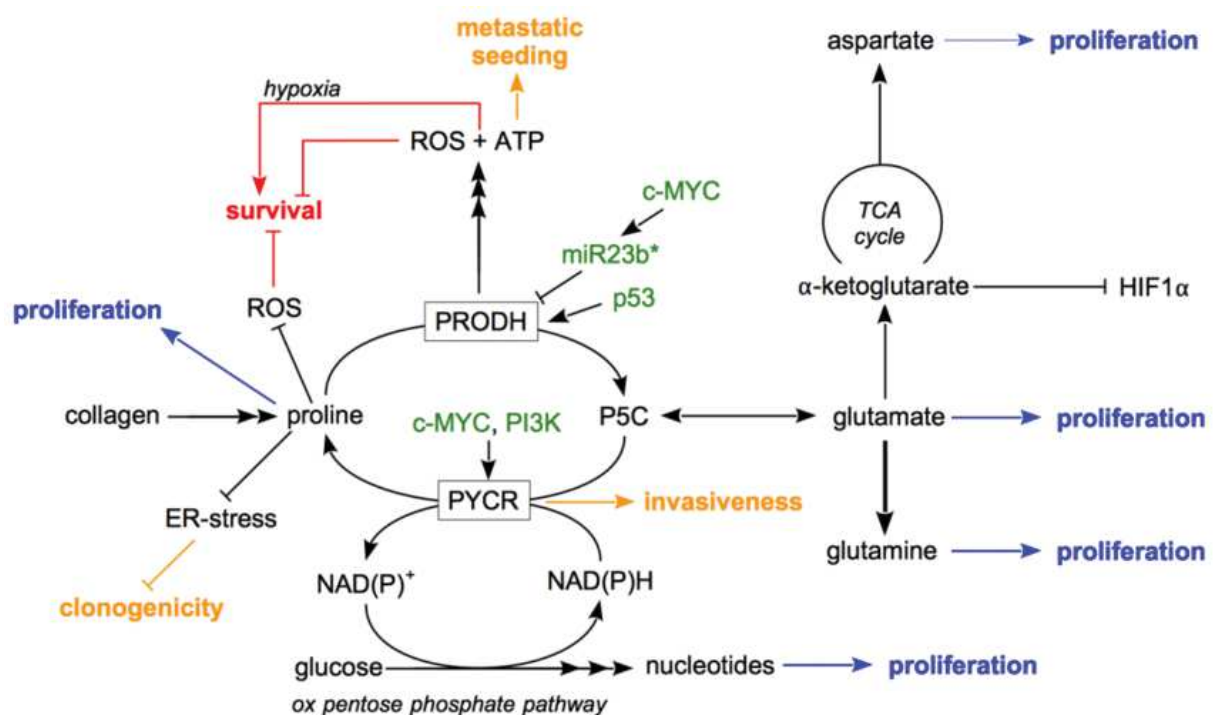
a) Le métabolisme des acides aminés

Les acides aminés sont des molécules essentielles à la croissance et au bon fonctionnement des cellules puisqu'ils entrent dans la composition des protéines. Ils interviennent également en tant que métabolites ainsi que comme régulateurs métaboliques favorisant la prolifération des cellules cancéreuses (Li et Zhang 2016). Les acides aminés sont divisés en deux classes :

- Les acides aminés non essentiels : Ils peuvent être synthétisés par l'organisme à partir d'autres molécules et sont au nombre de 10. Il s'agit de l'alanine, l'asparagine, l'acide aspartique, la cystéine, l'acide glutamique, la glutamine, la glycine, la proline, la sérine et la tyrosine.
- Les acides aminés essentiels : Ils ne peuvent pas être synthétisés *de novo* par l'organisme, ou à un rythme trop lent, et doivent donc être apportés par l'alimentation. Ils sont au nombre de 10. On y retrouve l'arginine, l'histidine, l'isoleucine, la leucine, la Lysine, la méthionine, la phénylalanine, la thréonine, le tryptophane et la valine.

J'ai choisi de vous présenter 3 différents acides aminés dont le métabolisme est perturbé dans les cellules cancéreuses.

- **La glutamine** : c'est l'acide aminé le plus abondant dans le sang et dans les muscles (Bergström et al. 1974). Comme décrit précédemment, sa lyse va permettre de synthétiser des intermédiaires métaboliques qui pourront alimenter le cycle de Krebs. La glutamine est transformée en glutamate par la glutaminase, puis sera transformée en α -cétoglutarate par la glutamate déshydrogénase. Cette deuxième source d'énergie et de carbone permet à la cellule cancéreuse de maintenir un cycle de Krebs actif même lorsque l'essentiel de la glycolyse est tourné vers la production d'intermédiaires métaboliques et non pas vers la production de pyruvate. Cet effet rend les cellules cancéreuses dépendante de la glutamine au point qu'une baisse de l'expression de la glutaminase dans des cellules de carcinome entraîne une baisse de la prolifération ainsi que de la tumorigénicité (Lobo *et al.* 2000).



Le métabolisme de la proline favorise la prolifération cellulaire via la production de métabolites servant à la production de biomasse en bleu. Il favorise ou inhibe (en rouge) la survie cellulaire en fonction de la quantité de ROS produite. Enfin il favorise le potentiel métastatique en jaune. Les régulateurs du métabolisme de la proline sont indiqués en vert.

augmenté dans les métastases par rapport aux tumeurs primaires, ce qui semble indiquer que le métabolisme de la proline joue un rôle dans l'adaptation des cellules à leur nouveau milieu.

- **La sérine et la glycine** : ces deux acides aminés sont liés puisque la glycine peut être synthétisée à partir de la sérine, qu'elle soit exogène ou formée à partir du 3-phosphoglycérate. La glycine peut ensuite être clivée et ainsi alimenter la voie métabolique des monocarbones, qui permet ensuite la synthèse des protéines, des acides nucléiques mais également des lipides, indispensables à la croissance tumorale. La glycine est aussi impliquée dans le maintien de la balance redox ainsi que dans la lutte contre les ROS puisqu'elle entre dans la synthèse du glutathion. Enfin, une équipe de notre institut a démontré qu'un certain type de cancer, les liposarcomes, présentent une dépendance à la sérine. Cette dépendance est liée à la surexpression de MDM2 (*murine double minute 2*), une E3 ubiquitine ligase, qui possède également une activité de régulation du métabolisme de la sérine/glycine, de la balance redox ainsi que la régénération du glutathion. En cas d'inhibition de MDM2, les cellules de liposarcomes sont dépendantes de la sérine exogène, qui est en plus faible quantité aux abords de la tumeur, ce qui entraîne une baisse du volume tumoral (Riscal *et al.* 2016) (Cissé *et al.* 2020).

b) Le métabolisme des acides gras

Le métabolisme des acides gras (AG) est primordial pour la cellule saine ainsi que la cellule cancéreuse. En effet, les acides gras sont impliqués dans des réactions anaboliques visant à produire des lipides pour différentes voies de signalisation ou pour la formation des différentes membranes biologiques. Ils sont également impliqués dans des réactions cataboliques visant à produire de l'énergie, qu'on appelle la β -oxydation.

Pour ce qui est des réactions anaboliques, de nombreuses enzymes sont importantes pour le développement tumoral et sont des cibles thérapeutiques établies ou potentielles. Parmi ces enzymes on trouve l'ATP citrate lyase (ACLY), qui permet de faire le lien entre la glycolyse et la synthèse *de novo* d'AG en convertissant le citrate en oxaloacétate ainsi qu'en acétyl-coA. On la retrouve surexprimée dans de nombreux cancers comme les cancers ovariens (Wang *et al.* 2012), les glioblastomes (Beckner *et al.* 2010), les cancers du côlon (Zhou *et al.* 2013) et enfin dans les cancers du sein (Szutowicz, Kwiatkowski, et Angielski 1979). Des inhibiteurs de cette enzyme ont précédemment été développés pour soigner des troubles du métabolisme, et sont aujourd'hui en cours d'investigation pour traiter certains types de cancers (Granchi 2018).

Les réactions cataboliques, ou d'oxydation des AG, permettent d'obtenir de l'acétyl-coA qui pourra être oxydé dans le cycle de Krebs, et de l'énergie sous forme de NADH et de FADH₂ qui pourront donner leurs électrons lors de la phosphorylation oxydative. Contrairement à la synthèse de lipides *de novo*, les modifications de la β -oxydation dans le cadre du cancer reste encore méconnues. On sait cependant que certains types de cancer, comme le cancer de la prostate, sont peu glycolytiques, et s'appuient donc sur la β -oxydation pour produire de l'énergie (Wu *et al.* 2014). En effet, ces cancers surexpriment la α -methylacyl-CoA racémase (AMACR), une enzyme peroxysomale permettant de transformer les AG à chaînes ramifiées en AG exploitables par la β -oxydation, ainsi que la carnitine palmitoyltransferase 1B (CPT1B), une enzyme mitochondriale permettant le transfert de groupe acyles de l'acétyl-coA à des AG à longue chaîne. La surexpression de AMACR est d'ailleurs utilisée comme outil diagnostique pour le cancer de la prostate (Esfahani, Ataei, et Panjehpour 2015). On retrouve également cette enzyme surexprimée dans d'autres cancers comme celui du colon (Shukla, Adhya, et Rath 2017), de l'ovaire, du sein, de la vessie, du poumon, du rein, ainsi que dans les lymphomes et les mélanomes (Zhou *et al.* 2002). C'est pourquoi le ciblage de cette voie métabolique peut être une piste intéressante, notamment dans le cancer de la prostate où les efforts pour trouver des inhibiteurs d'AMACR sont les plus importants.

c) La voie des pentoses phosphates

La suractivation des différentes voies métaboliques, les dommages à l'ADN, ainsi que l'hypoxie due au micro-environnement tumoral entraînent une production accrue de ROS. Cette surproduction de ROS peut être bénéfique à la cellule tumorale puisqu'elle accentue les dommages à l'ADN et donc l'instabilité génétique lui permettant d'acquérir des mutations avantageuses. Cependant cela entraîne également un stress oxydatif pouvant provoquer une mort cellulaire (Nogueira et Hay 2013). Afin de palier à cela, et de maintenir un niveau de ROS cellulaire avantageux, les cellules cancéreuses amplifient leur PPP oxydative dans le but de produire du NADPH pour « combattre » les ROS. Pour ce faire, de nombreux types de cancer arborent une suractivation et/ou une surexpression de la première enzyme de la branche oxydative de la PPP, la G6PDH (Glucose-6-phosphate déshydrogénase) (Yang *et al.* 2019). L'activation de voies de signalisation pro-oncogéniques, comme Ras, Src, et PI3K/Akt permettent d'activer la G6PDH (Santana-Codina *et al.* 2018) (Cai *et al.* 2015) (Stanton 2012).

D'autres effecteurs entrent aussi en jeu, comme le gène suppresseur de tumeurs p53. En effet, p53 régule directement l'activité de la G6PDH, en se liant à sa forme monomérique, l'empêchant ainsi de former sa forme dimérique active (Jiang *et al.* 2011). D'un autre côté, p53 stimule l'expression de TIGAR (*TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator*), qui à son tour inhibe la glycolyse, permettant de re-

diriger les métabolites vers la PPP. Cette apparente contradiction entre les deux actions de p53 peut s'expliquer par le contrôle de p53 sur le cycle cellulaire. Après des dommages à l'ADN, p53 met le cycle

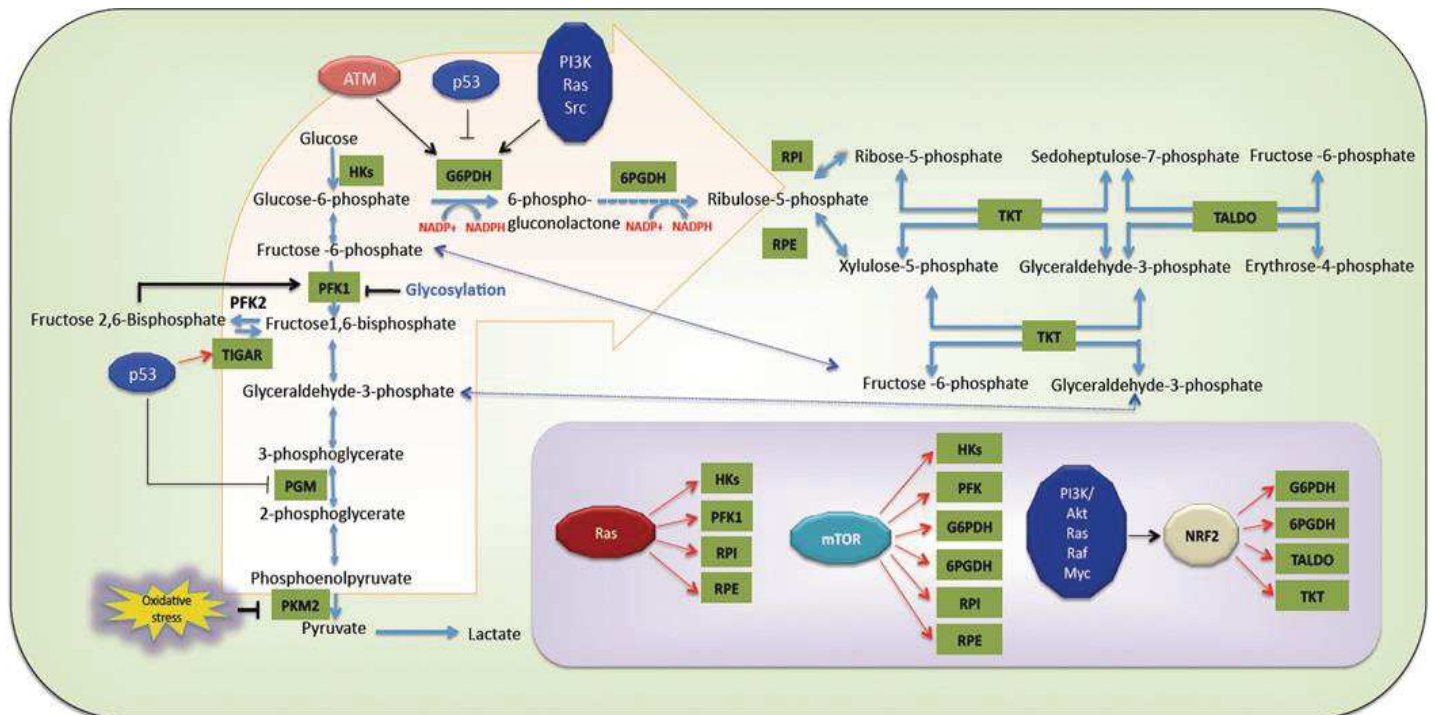


Figure 36 : La voie des pentoses phosphates dans un contexte cancéreux

(Patra et Hay 2014)

cellulaire en pause et amplifie la PPP afin de produire les nucléotides nécessaires à la réparation de l'ADN. En cas de dommages trop importants, p53 peut diminuer la PPP, réduisant ainsi la production de NADPH et donc la défense contre les ROS, accélérant ainsi la mort cellulaire. L'ensemble des mécanismes de régulation est résumé dans la figure 17.

d) Le métabolisme mitochondrial

Les cellules cancéreuses peuvent présenter des altérations du métabolisme et du fonctionnement mitochondrial, indépendamment de l'effet Warburg que nous verrons dans le chapitre suivant. En effet certains cancers du sein, des hépatocarcinomes, astrocytomes ou des cancers de la prostate (Tseng *et al.* 2006) (Horton *et al.* 1996) (Correia *et al.* 2011) (Petros *et al.* 2005) présentent un nombre de copies d'ADN mitochondrial (mtDNA) plus faible. Cette perte de mtDNA semble augmenter l'agressivité de ces cancers mais leur confère également une résistance à l'apoptose (Guo *et al.* 2011) (Moro *et al.* 2009).

Malgré le faible nombre de protéines encodées par l'ADN mitochondrial, des effets sur le métabolisme mitochondrial ont pu être démontrés par des expériences d'hybrides cytoplasmiques, permettant

d'étudier les effets de mutations/déplétions de l'ADN mitochondrial sans affecter l'ADN nucléaire. Les chercheurs ont ainsi pu démontrer que des mutations dans le gène de la sous-unité du complexe I, *ND5*, ainsi que dans le gène de la sous-unité de la NADH déshydrogénase, *ND6*, entraînent une augmentation du potentiel tumoral et métastatique *via* une augmentation des ROS et une activation de la voie AKT (Sharma *et al.* 2011) (Ishikawa *et al.* 2008).

Des mutations sur des gènes nucléaires codant pour des protéines mitochondriales peuvent également augmenter la tumorigénicité des cellules. En effet, des mutations sur les gènes *IDH1* ou *IDH2* entraînent la production d'un oncométabolite le 2-Hydroxyglutarate. Cette molécule inhibe ensuite les protéines des familles TET (*ten-eleven-translocation*) et JMJD (*jumonji domain histone demethylases*) en entrant en compétition avec l' α -cétoglutarate (Xu *et al.* 2011). Cela entraîne une altération des profils de méthylation de l'ADN et donc un blocage de la différenciation et une augmentation de la tumorigénicité. Des mutations de ces enzymes sont retrouvées principalement dans les leucémies aiguës myéloïdes ainsi que les gliomes, pour lesquels elles sont des cibles thérapeutiques intéressantes (Fujii *et al.* 2016).

Ensuite, le changement de métabolisme cellulaire de la glycolyse vers la phosphorylation oxydative peut permettre à la tumeur de résister au traitement. En effet, ce mécanisme de résistance se retrouve dans le mélanome, où l'utilisation d'un inhibiteur de l'oncogène BRAF, le vemurafenib, induit une réduction du métabolisme du glucose et une augmentation de la production d'ATP mitochondrial (Trotta *et al.* 2017). Cette résistance aux traitements peut en partie s'expliquer par le fait que les transporteurs de la famille ABC (ATP-binding cassette), responsables entre autres de l'export dans le milieu extracellulaire des xénobiotiques, sont ATP-dépendants.

Enfin, ce type de résistance peut être exploité pour hiérarchiser et traiter les patients. Dans le cas de la leucémie aiguë myéloïde, l'équipe du Dr Sarry (CRCT, Toulouse) a montré que les cellules résiduelles et résistantes à la chimiothérapie présentent des mitochondries actives avec un potentiel de membrane préservé, un haut niveau de ROS ainsi qu'une augmentation du nombre de mitochondries, traduisant d'une forte activité OXPHOS (Farge *et al.* 2017). Cibler la mitochondrie avec des inhibiteurs de la synthèse de protéines mitochondriales comme la tigecycline, ou des inhibiteurs du complexe I de la chaîne respiratoire comme la metformine sensibilise ces cellules à la chimiothérapie. Ces résultats sont encourageants et permettent d'envisager une augmentation des essais cliniques visant à cibler la phosphorylation oxydative dans les années à venir.

3.4 L'effet Warburg

L'effet Warburg, est un changement de métabolisme cellulaire de la glycolyse, dirigée vers la production de pyruvate pouvant alimenter le cycle de Krebs, vers la production de lactate. Bien que moins efficace en termes de production d'énergie que la glycolyse couplée à la phosphorylation oxydative, elle permet de maintenir une glycolyse élevée. La cellule va en contrepartie augmenter sa consommation de glucose et s'appuyer sur d'autres sources pour alimenter son cycle de Krebs, comme

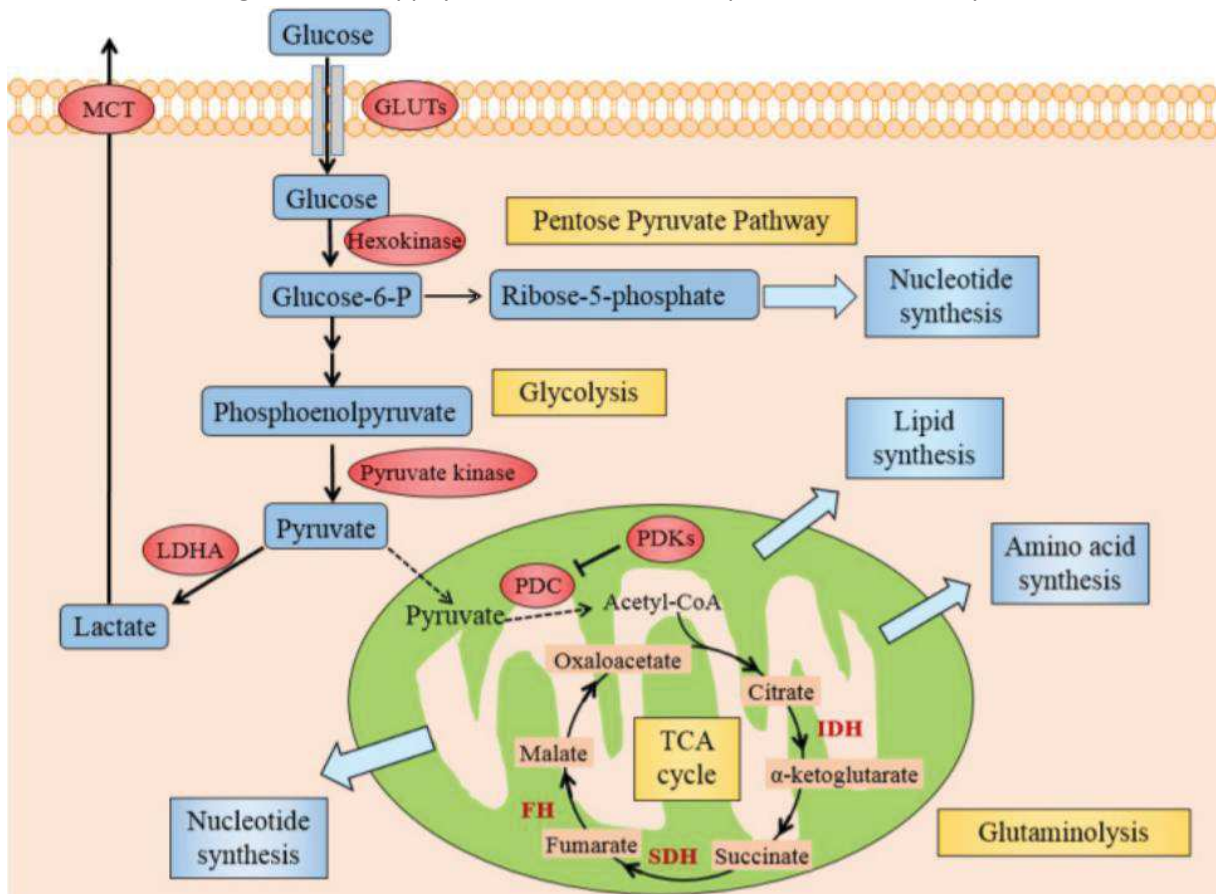


Figure 39 : Résumé des voies métaboliques de l'effet Warburg

Les voies majeures du métabolisme sont représentées en jaune et les enzymes contrôlant les étapes clefs sont représentées en rouge.

(Zhang et al. 2015)

la glutaminolyse. Ceci permet à la cellule tumorale une production élevée de métabolites alimentant la PPP, et donc de soutenir le rythme de prolifération élevé.

Bien que découvert dans les années 30, les différents effecteurs et acteurs de l'effet Warburg n'ont pu être identifiés qu'avec les progrès de la biologie moléculaire et de la génétique. Je vais vous présenter quelques acteurs de l'effet Warburg ainsi que les voies de signalisation et facteurs de transcription le contrôlant.

3.4.1 Les acteurs majeurs de l'effet Warburg

De nombreuses enzymes et transporteurs voient leurs activités ou leur expression augmentées dans l'effet Warburg. J'ai choisi de vous en présenter deux : les transporteurs de glucose de la famille GLUT et plus particulièrement GLUT3 et ainsi que les hexokinases et plus particulièrement l'hexokinase 2.

Les transporteurs GLUT :

Les transporteurs de glucose de la famille GLUT au nombre de 14, permettent aux différents sucres de passer la membrane plasmique. Les membres de la famille possèdent des affinités plus ou moins grandes pour les différents sucres (Mueckler et Thorens 2013). C'est pourquoi leur expression varie en fonction des besoins et du tissu dans lesquels ils sont exprimés. Etant les premiers effecteurs de la glycolyse, on les trouve surexprimés dans de nombreux cancers comme ceux de l'endomètre (Ma *et al.* 2015), des méninges (van de Nes *et al.* 2015), les cancers gastriques (Liu *et al.* 2015) et les cancers

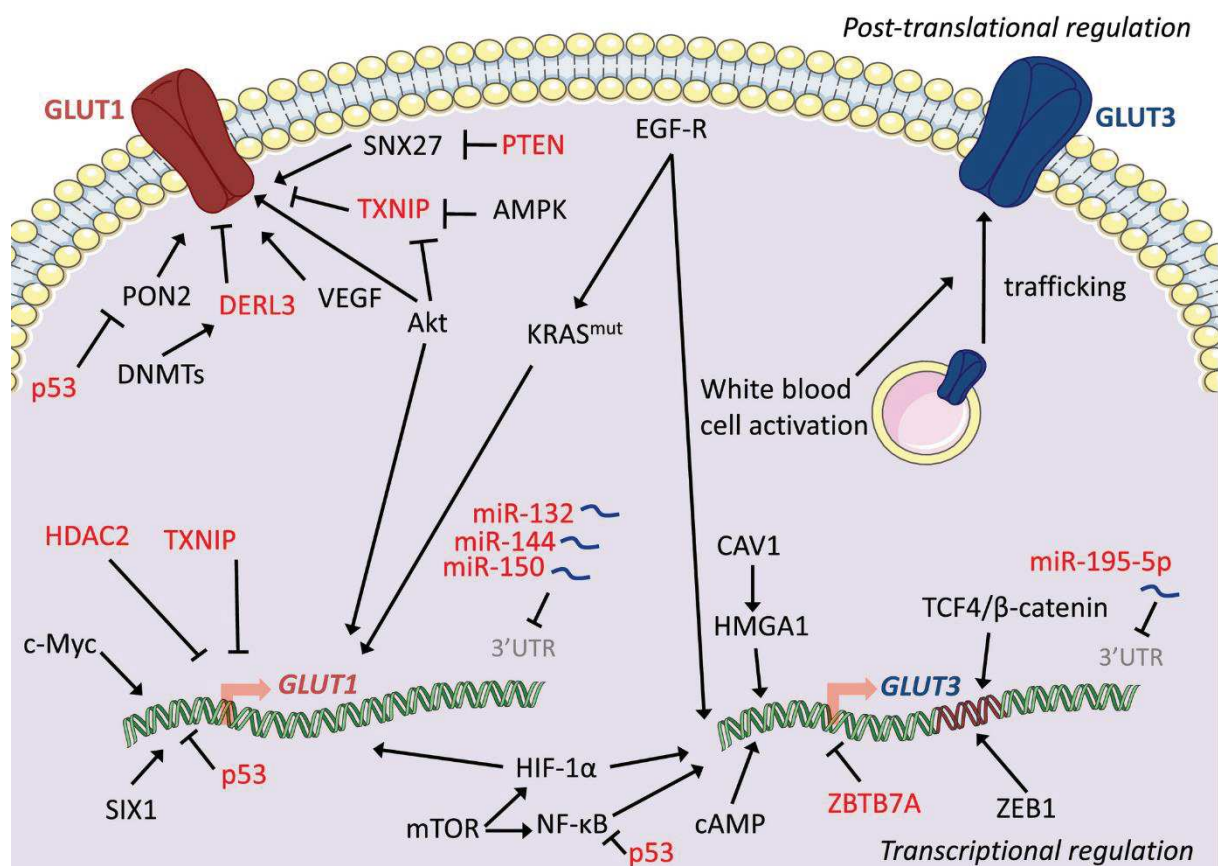


Figure 42 : les régulateurs de l'expression et du fonctionnement des transporteurs GLUT1 et GLUT3

Les protéines ou microARN stimulant l'expression des transporteurs de glucose sont indiqués en rouge et les inhibiteurs sont indiqués en noir.

(Ancey, Contat, et Meylan 2018)

du sein (Barbosa et Martel 2020) et cette surexpression est associée à une survie globale moins bonne des patients.

De nombreuses voies de signalisation dérégulées dans les cancers affectent la régulation du métabolisme et plus particulièrement l'expression des transporteurs de glucose.

En effet, dans des lignées de cellules cancéreuses, mTORC1 (*rapamycin-sensitive mTOR complex 1*) stimule l'expression de GLUT3 via une activation de la voie IKK/NFκB et favorise ainsi la glycolyse aérobie et le développement tumoral (Zha *et al.* 2015). De plus, la perte d'expression du gène suppresseur de tumeur p53, régulateur négatif de la voie IKK/NFκB, entraîne une surexpression de GLUT3 et donc une suractivation de la glycolyse.

Enfin, dans des cellules neuronales PC12, c'est la voie PI3K-Akt-mTOR (*mammalian target of rapamycin*), activée par l'IGF-1 (*insulin-like growth factor-1*), qui va stimuler l'expression de GLUT3 via la fixation de HIF1α (*Hypoxia-inducible factor 1-alpha*) sur la séquence HRE (*hypoxia response element*) du promoteur de GLUT3 (Yu *et al.* 2012).

Les hexokinases :

Les hexokinases sont les premières enzymes de la glycolyse et transforment le glucose en glucose-6-phosphate. Elles existent sous quatre formes Hk1, Hk2, Hk3 et Hk4 mais sont encodées sur des locus différents et possèdent des séquences différentes, on parlera alors d'isoenzymes. Les 3 premières formes ont des rôles similaires bien que Hk1 soit préférentiellement exprimée dans les tissus sains et Hk2 est surtout surexprimée dans les cancers (Fang *et al.* 2012). La quatrième forme, Hk4 ou glucokinase, possède des propriétés cinétiques et des rôles différents. Elle est principalement exprimée dans le pancréas (Sternisha et Miller 2019).

La forte expression de Hk2 dans les cancers leur donne un avantage lié à sa localisation subcellulaire. En effet, Hk2 se lie aux canaux VDAC (*voltage dependent anion channel*) de la membrane externe mitochondriale (Nakashima *et al.* 1986). Ceci lui permet non seulement d'inhiber les premières étapes de l'apoptose mais également (Robey et Hay 2006) d'avoir un accès préférentiel à l'ATP mitochondrial ainsi qu'une protection contre son inhibition par le G6P. La Hk2 peut donc fonctionner à sa capacité maximale et donc favoriser la glycolyse aérobie et la croissance tumorale ce qui en fait une cible thérapeutique intéressante.

En effet, l'utilisation d'acide bromopyruvique, un inhibiteur de Hk2, inhibe la croissance des cellules tumorales de foie *in vitro* et *in vivo* (Jiao *et al.* 2018). Dans le cancer du col de l'utérus, une forte expression de Hk2 est corrélée avec la taille de la tumeur, son grade histologique ainsi que le pronostic. De plus, une diminution de son expression par interférence par ARN dans les cellules de cancer du col

de l'utérus SiHa induit leur apoptose et réduit leur prolifération ainsi que leur migration (Liu, Wang, et Zhang 2019).

Concernant la régulation de l'expression de cette enzyme, l'analyse de la séquence de son promoteur montre des éléments de réponses pour les protéines kinases A et C (Mathupala, Rempel, et Pedersen 1995), HIF1 α (Mathupala, Rempel, et Pedersen 2001) et p53 (Mathupala, Heese, et Pedersen 1997). L'absence de certains de ces éléments au niveau du promoteur du gène de Hk1 explique en partie la différence d'expression et l'amplification de Hk2 dans les cancers. Il est également à noter que l'expression de Hk2 peut être régulée par le profil de méthylation ainsi que par des gains de copies (Rempel *et al.* 1996).

3.4.2 Les effecteurs majeurs de l'effet Warburg

Comme nous l'avons vu dans la partie précédente, de nombreuses voies de signalisation ainsi que des facteurs de transcription, dérégulées ou non, interviennent dans la régulation de l'effet Warburg. Je vais vous exposer ici les principaux.

a) Les voies de signalisations

Akt. La sérine/thréonine kinase Akt est l'une des protéines les plus activées dans les cancers (Robey et Hay 2009). Cela est dû à la fois à l'inactivation mutationnelle de PTEN (*phosphatase and tensin*

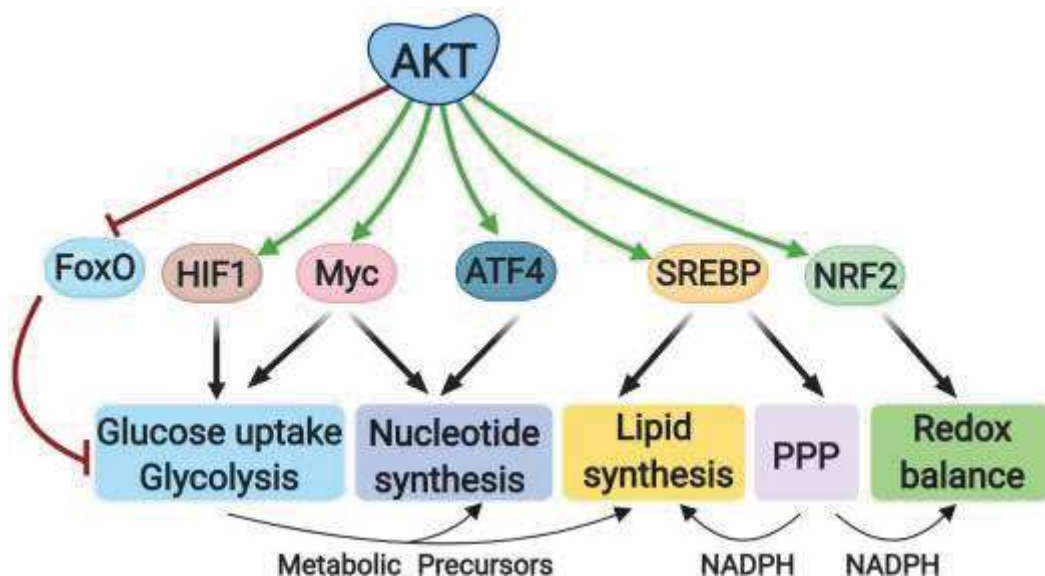


Figure 43 : La voie de signalisation Akt et ses effets sur le métabolisme cellulaire

(Itahana et Itahana 2018)

homolog), un inhibiteur d'Akt, et à l'activation du site catalytique de la PI3K, qui est un agoniste de Akt. En effet, Akt fait partie de la voie de signalisation PI3K/Akt qui dans un contexte cancéreux augmente l'activité des transporteurs de nutriments ainsi que des enzymes métaboliques (Hoxhaj et Manning 2020). Une activation d'Akt stimule la glycolyse aérobie (Elstrom *et al.* 2004) et rend les cellules cancéreuses dépendantes de ce type de métabolisme (Buzzai *et al.* 2005). Les différents mécanismes de régulation d'AKT sont résumés dans la figure

Ras. Les gènes de la famille Ras sont parmi les plus mutés dans les cancers, avec une fréquence de 20 à 30 %. Les protéines Ras sont de petites GTPases membranaires et interviennent dans la régulation de nombreux processus physiologiques. Les formes mutées, et plus particulièrement celle de KRas, interviennent dans la régulation de l'effet Warburg. En effet, KRas muté maintient la croissance tumorale en stimulant l'apport de glucose et en facilitant l'acheminement des intermédiaires du métabolisme du glucose vers la PPP et la biosynthèse des hexosamines (Serna-Blasco *et al.* 2019). De plus, le métabolisme glucidique et le statut mutationnel de KRas sont interconnectés. En effet, dans les cancers colorectaux, la surexpression de GLUT 1 est dépendante du statut mutationnel de KRas et la déprivation en glucose de cellule WT pour KRas induit des mutations dans le gène de ce dernier (Yun *et al.* 2009).

AMPK. Le senseur métabolique AMPK (*AMP-activated protein kinase*) est activé par différentes kinases comme LKB1 (*Liver kinase B1*), CaMKK (*Calmodulin-dependent protein kinase kinase*), ou MLK3 (*Mixed-lineage protein kinase 3*) lors d'une diminution de la concentration intracellulaire d'ATP (augmentation des ratios AMP/ATP ou ADP/ATP). En effet, l'ATP, l'ADP et l'AMP se lient compétitivement à l'AMPK. L'ATP fixé à l'AMPK entraîne son inhibition alors que la fixation d'AMP ou d'ADP provoque un changement conformationnel permettant à l'AMPK d'être phosphorylée par les kinases précédemment décrites. L'AMPK diminue les voies anaboliques nécessitant de l'ATP et amplifie les voies cataboliques comme la glycolyse et l'OXYPHOS afin de rétablir le niveau d'ATP intracellulaire. Dans les cancers, sa dérégulation est souvent liée à des mutations ou des pertes d'expression de LKB1, empêchant sa phosphorylation, comme c'est le cas dans les cancers du poumon (Memmott *et al.* 2008) ou les hépatocarcinomes (Cheng *et al.* 2014). En effet, LKB1 est une des kinases majeures régulant la phosphorylation de AMPK (Woods *et al.* 2003).

Wnt. La voie de signalisation Wnt/ β -caténine est principalement connue pour sa régulation du cycle et de la survie cellulaire à la fois dans un contexte physiologique et cancéreux. Cependant, une activation de cette voie entraîne également une augmentation de glycolyse aérobie (Thompson 2014). En effet, la voie Wnt/ β -caténine, une fois activée, stimule l'expression d'enzyme de la glycolyse que

sont la pyruvate déshydrogénase kinase 1 (PDK1), la pyruvate kinase de type M2 (PKM2), la lactate déshydrogénase A (LDH-A), les transporteurs de glucose de la famille GLUT ainsi que le monocarboxylate transporter 1 (MCT-1). L'expression des gènes de la glycolyse peut se faire de manière directe avec la fixation de la β -caténine aux promoteurs de ces gènes, ou par transcriptions d'autres facteurs de transcriptions impliqués dans la régulation du métabolisme, comme MYC (He *et al.* 1998).

b) Les facteurs de transcription

MYC. MYC est un facteur de transcription dérégulé dans 70% des cancers, et est, entre autres, un régulateur majeur du métabolisme glucidique (Dong *et al.* 2020). En effet, MYC est un régulateur direct de l'expression de la plupart des gènes de la glycolyse en se liant à leur séquence consensus E-Box (Kim *et al.* 2004). En plus de la régulation transcriptionnelle, MYC régule indirectement l'épissage alternatif des pyruvates kinases de type M1 et M2 (PKM1 et PKM2). En effet, MYC régule l'expression des facteurs d'épissages PTB, hnRNPA1 et hnRNPA2 qui en retour favorisent l'épissage alternatif de la forme PKM2 par rapport à la forme PKM1 (David *et al.* 2010). PKM2 favorise la glycolyse aérobie et le développement tumoral, par rapport à la forme M1 qui favorise l'O₂PHOS. MYC augmente donc également l'effet Warburg de manière indirecte (Christofk *et al.* 2008). Enfin, afin de maintenir un cycle de Krebs fonctionnel tout en dérivant la glycolyse vers la production de lactate, MYC est impliqué dans la régulation de la glutaminolyse (Wise *et al.* 2008)

E2F. Les facteurs E2F sont principalement connus pour leur rôle dans la régulation du cycle cellulaire. Cependant, des recherches récentes semblent démontrer un rôle de régulateur du métabolisme pour les facteurs de transcription de cette famille, et en particulier E2F1. En effet, les souris E2F1^{-/-} présentent des pancréas atrophiés et une intolérance au glucose.

ERR. Les *estrogen related receptor* (ERR) sont des régulateurs majeurs du métabolisme mitochondrial *via* le contrôle de l'expression des gènes mitochondriaux encodés dans le génome nucléaire (Eichner et Giguère 2011). Dans un contexte cancéreux, les ERR peuvent se lier à HIF et agir comme un cofacteur entraînant la transcription des gènes de la glycolyse dans un contexte hypoxique (Ao *et al.* 2008). Plus récemment, une interaction entre ERR et MYC a été démontré dans plusieurs lignées cancéreuses (Cai *et al.* 2013). Cette interaction stimule également l'expression des gènes de la glycolyse et la surexpression de ERR dans ces cellules augmente la production de lactate et l'effet Warburg.

p53. Le facteur de transcription p53, aussi appelé « le gardien du génome », agit comme un « senseur de stress cellulaire » et régule le cycle cellulaire, l'apoptose, la réparation de l'ADN, le potentiel souche ainsi que le potentiel métastatique. En plus de ces fonctions, p53 régule le métabolisme cellulaire et est plus particulièrement un régulateur négatif de la glycolyse. En effet, p53 inhibe directement la transcription des transporteurs de glucose GLUT1 et GLUT4 (Schwartzberg-Bar-Yoseph, Armoni, et Karnieli 2004), ou de manière indirecte pour le transporteur GLUT3 en inhibant la voie de signalisation IKK/NF-κB (Kawauchi *et al.* 2008).

p53 régule également négativement et indirectement la glycolyse aérobie de deux manières :

- La première en stimulant l'expression de Parkin, une E3 ubiquitine ligase, qui à son tour, diminue l'activité de PKM2 (Liu *et al.* 2016)
- La deuxième en stimulant l'expression de TIGAR (*TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator*), ce qui diminue la concentration intracellulaire en fructose-2,6-bisphosphate, ainsi que l'activité de la phosphofructokinase 1 (PFK1). Cette action bloque la glycolyse et rend le G6P disponible pour la PPP (Bensaad *et al.* 2006).

Une autre manière pour p53 d'agir comme suppresseur de tumeur en diminuant l'effet Warburg est de stimuler l'OXPHOS. Pour se faire il peut agir de manière globale en régulant le nombre de copies d'ADN mitochondrial ainsi que la masse totale de mitochondries (Lebedeva, Eaton, et Shadel 2009). Il peut également agir de manière plus ciblée en augmentant la transcription du gène *SCO2* (*cytochrome c oxidase assembly 2 protein*) qui code pour une protéine responsable de l'assemblage du complexe IV de la chaîne respiratoire. De plus, p53 régule positivement l'expression de l'AIF (*apoptosis-inducing factor*), nécessaire à l'activité du complexe I (Stambolsky *et al.* 2006). Enfin, c'est également un régulateur négatif de PDK2 (*Pyruvate dehydrogenase kinase isoform 2*) favorisant ainsi la conversion du pyruvate en acétyl-CoA et donc le couplage de la glycolyse avec le cycle de Krebs (Contractor et Harris 2012).

Il est à noter que les autres membres de la famille p53, tel p63 et p73, régulent également le métabolisme cellulaire. Enfin, certains mutants de p53, notamment ceux avec des mutations dites « gain de fonction » peuvent avoir des effets adverses à ceux de la protéine sauvage. C'est le cas du mutant p53^{G103S/E256G}, qui conserve ses capacités de liaison à l'ADN et stimule l'expression de Hk2 (Mathupala, Heese, et Pedersen 1997). Les différentes actions des membres de la famille et des mutants p53 sont résumées dans la figure 22.

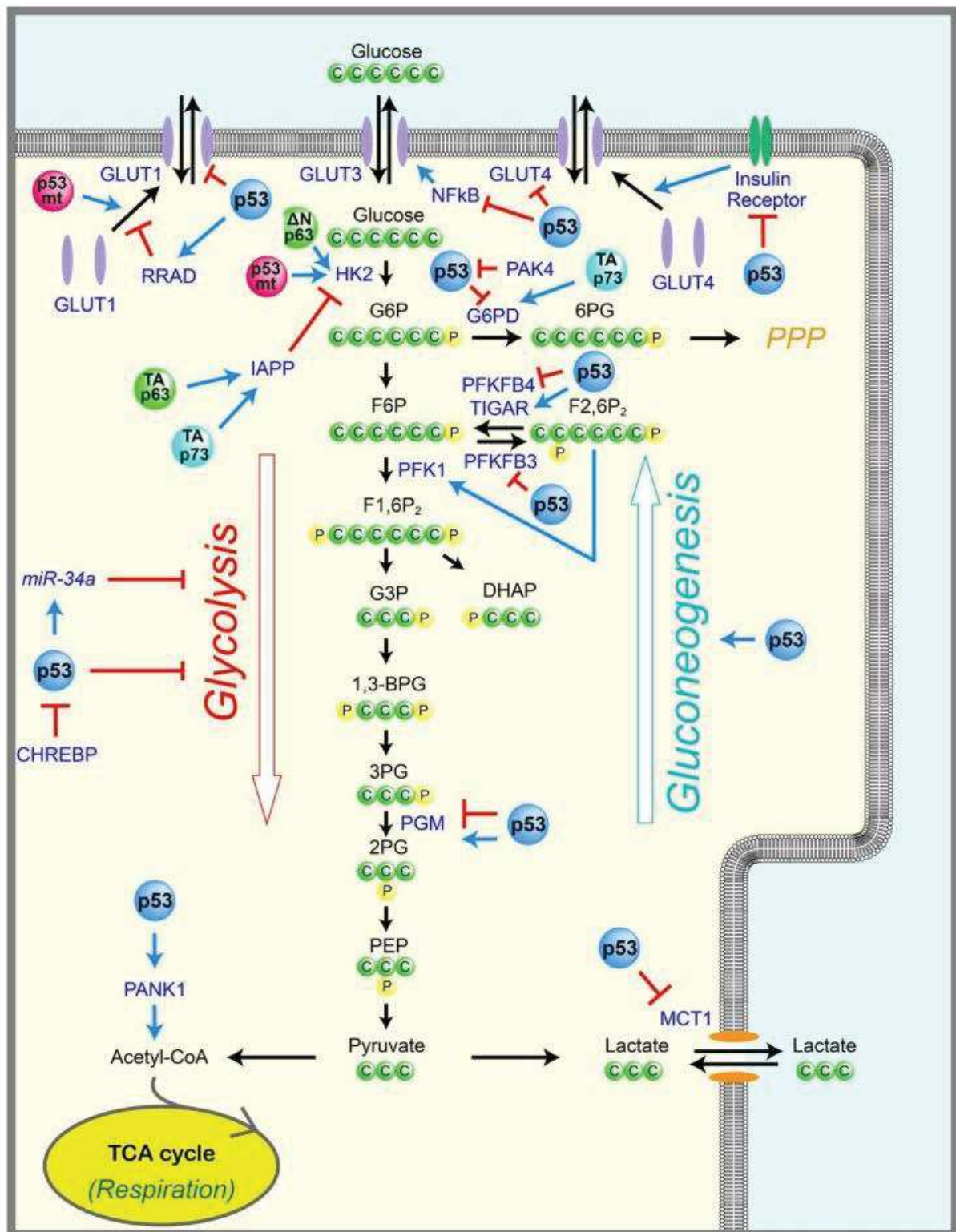


Figure 44 : Régulation de l'effet Warburg par les membres de la famille p53 et leurs mutants

(Itahana et Itahana 2018)

HIF. La croissance tumorale nécessite la création d'une néo-vascularisation afin d'apporter les nutriments nécessaires à son développement. Cependant la tumeur peut atteindre des tailles telles que la vascularisation n'est plus suffisante pour apporter les nutriments ainsi que l'oxygène aux cellules

situées au centre de celle-ci. Les cellules déprivées en oxygène sont donc en situation d'hypoxie. Cela a pour conséquence la stabilité des facteurs inductibles par l'hypoxie (HIF) (Wang *et al.* 1995). En effet, les facteurs HIF sont constitués de deux sous-unités, une sous-unité α (HIF-1 α , HIF-2 α ou HIF-3 α) sensible à l'oxygène, et une sous-unité β exprimée de manière constitutive. En présence d'oxygène, la sous-unité alpha est hydroxylée par les PHD (prolyl hydroxylase domains), conduisant à son ubiquitinylation par la protéine Von-Hippel-Lindeau (VHL), puis à sa dégradation par le protéasome. En situation d'hypoxie, les deux sous-unités se dimérisent et stimulent la transcription de leurs gènes cibles. Cependant, dans un contexte cancéreux, HIF1 peut être activé de manière constitutive (Kuphal *et al.* 2010), ceci peut être dû à une déficience en pVHL (Ohh *et al.* 2000). HIF1 participe à la régulation de nombreux processus adaptatifs comme la reprogrammation métabolique, l'angiogenèse, l'apoptose et la survie cellulaire, l'invasion cellulaire ainsi que la résistance aux traitements (Verduzco *et al.* 2015). Il est également responsable du changement du métabolisme de la phosphorylation

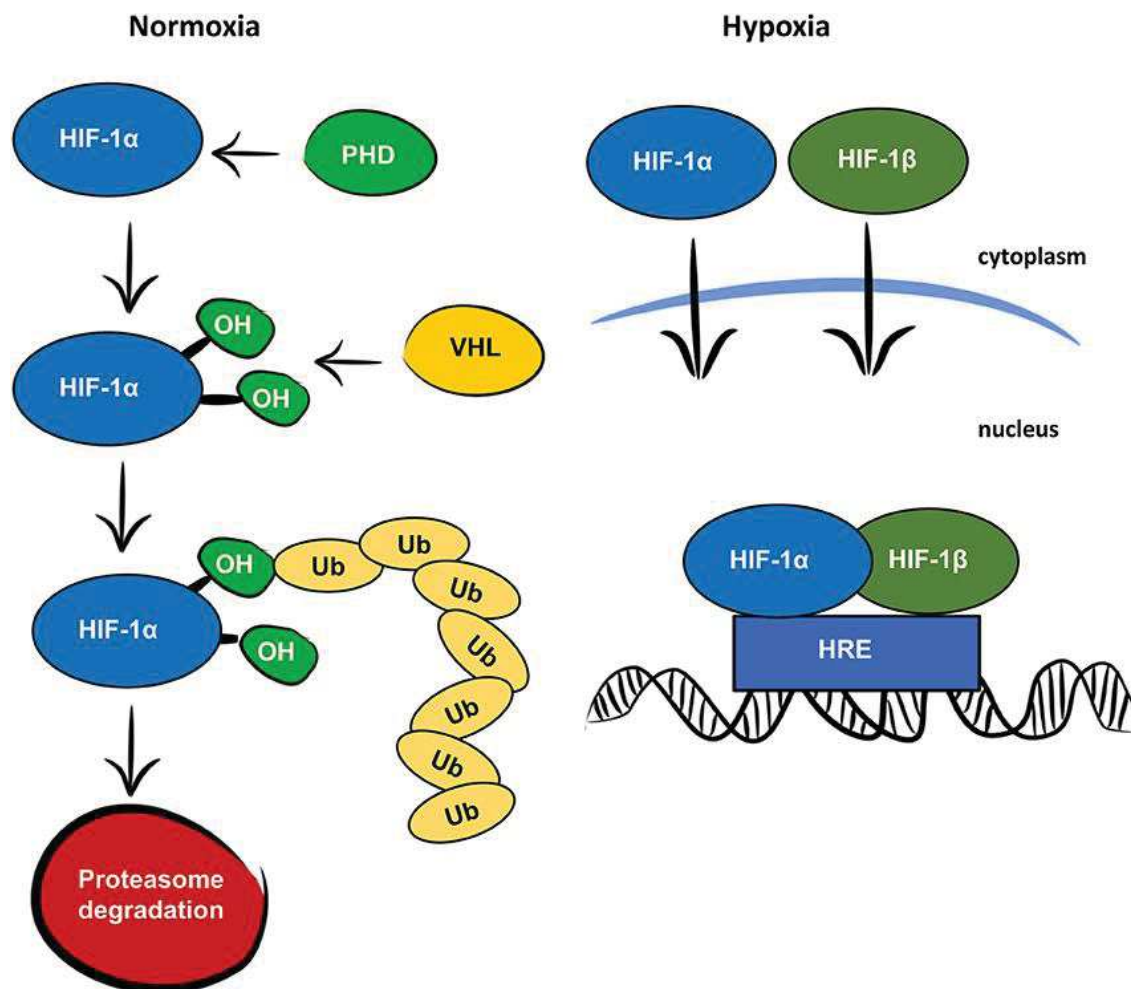


Figure 45 : Dégradation ou stabilisation de HIF1- α en fonction du taux d'oxygène

(Cerychova et Pavlinkova 2018)

oxydative, consommateur d'oxygène, vers la glycolyse. Pour ce faire, le facteur HIF-1 va agir de deux manières :

1) HIF-1 stimule la glycolyse en augmentant la transcription d'enzymes et de transporteurs présents au début comme à la fin de la glycolyse. En effet, HIF-1 stimule à la fois l'expression de GLUT1 mais également l'expression de la lactate déshydrogénase A (LDH-A) qui permet la transformation du pyruvate en lactate (Ebert, Firth, et Ratcliffe 1995) (Iyer *et al.* 1998).

2) HIF-1 réprime le métabolisme mitochondrial par trois mécanismes :

- Tout d'abord en réduisant l'apport au cycle de Krebs d'Acétyl-CoA par inhibition indirecte de PDH (*pyruvate dehydrogenase*) qui catalyse la transformation de pyruvate en Acétyl-CoA. Cette inhibition indirecte se fait par le biais d'une augmentation de la transcription de la PDK1 (Kim *et al.* 2006).
- Ensuite par l'induction de l'expression du microARN-210. Ce microARN cible l'ARN messenger de la ISCU1/2 (*iron-sulfur cluster assembly protein 1/2*) et bloque sa traduction (Chan *et al.* 2009). Cette enzyme est responsable de l'assemblage des clusters fer-soufre, indispensables à la biogénèse de protéines mitochondriales et notamment au complexe III de la chaîne respiratoire.
- Enfin en réduisant la biogénèse mitochondriale par une cascade de signalisation. En effet, HIF-1 induit la transcription de MAX Interactor 1 (MXI1), un inhibiteur de c-MYC. c-MYC, lorsqu'il n'est pas inhibé, régule positivement l'expression du régulateur

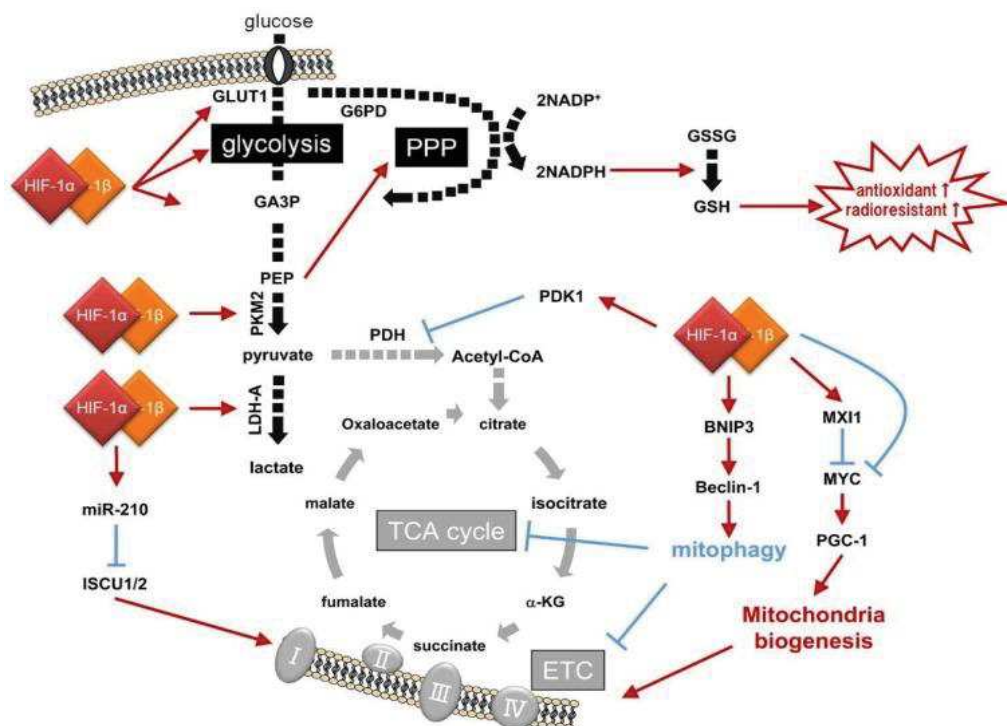


Figure 46 : Les régulations de l'effet Warburg par le facteur HIF-1

(Nagao *et al.* 2019)

majeur de la biogénèse mitochondriale, PGC-1 α . HIF-1 peut également induire la dégradation de c-MYC par le protéasome (Zhang *et al.* 2007) (Sutphin, Giaccia, et Chan 2007) diminuant ainsi le nombre de mitochondries fonctionnelles.

Les différents moyens de régulation de l'effet Warburg par HIF-1 sont résumés dans la figure 23.

c) Les interférences transcriptionnelles

Comme nous avons pu le voir précédemment, les différents facteurs de transcriptions et voies de signalisation peuvent agir en synergie, comme MYC et ERR, ou par antagonisme, comme HIF-1 et MYC, afin de réguler l'effet Warburg. Nous allons nous intéresser ici aux interférences entre HIF-1 et p53. En effet p53 étant un détecteur de stress, son niveau intracellulaire est augmenté par la baisse du niveau d'oxygène (Graeber *et al.* 1994). Cette augmentation est dû au fait qu'HIF-1 stabilise p53 en réponse à l'hypoxie (An *et al.* 1998). L'hypoxie va donc pousser les cellules en apoptose *via* l'expression de p53 mais cela induit également une sélection des clones résistants à l'apoptose et donc favorise le développement tumoral. Un des mécanismes proposés par Chen *et al.* pour expliquer cette augmentation de la stabilité serait par la formation d'un complexe p53/MDM2/HIF-1 (Chen *et al.* 2003). En effet, MDM2, de par son activité E3 ubiquitine ligase, entraîne la dégradation de p53, dégradation qui sera inhibée par la fixation de HIF-1. Cependant, le mécanisme inverse a également

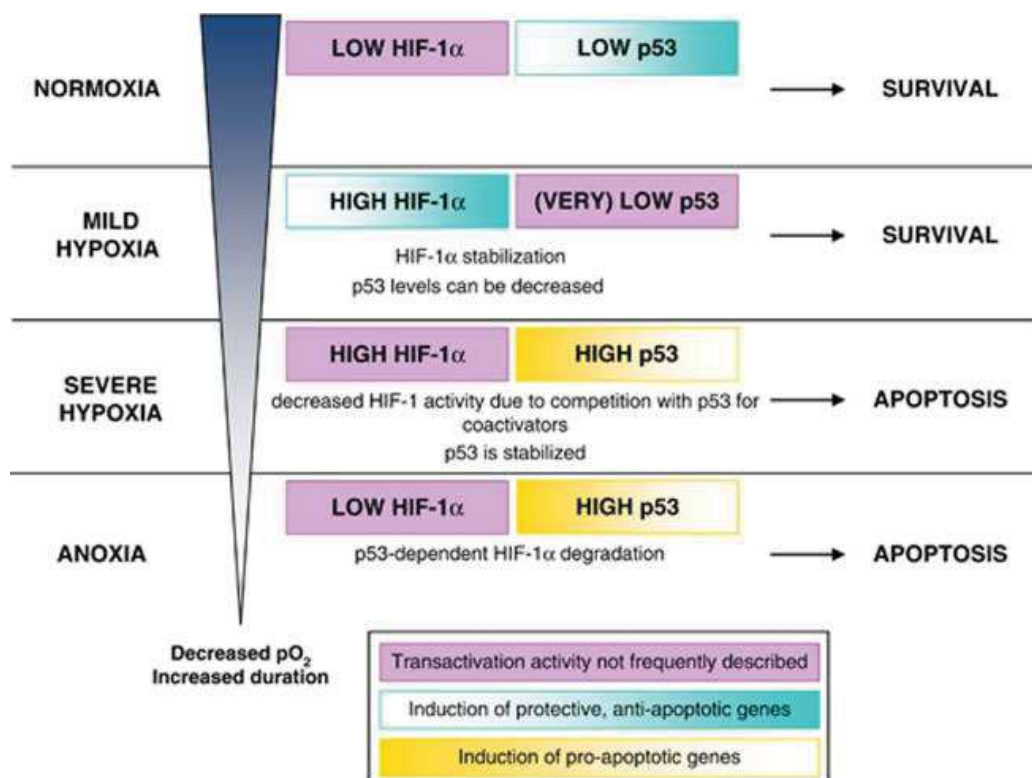


Figure 49 : Modèle de l'interférence entre p53 et HIF-1 α .

(Sermeurs and Michiels, 2011)

été proposé, où la formation d'un complexe p53/MDM2/HIF-1 entraîne la dégradation de HIF-1 par ubiquitinylation médiée par MDM2 (Ravi *et al.* 2000). Cette contradiction entre les deux modèles proposés, pourrait s'expliquer notamment par le niveau d'hypoxie subi par la cellule amenant une différence de réponse, de stabilité et de transcription des deux protéines, comme dans le modèle proposé par Sermeus et Michiels (Sermeus et Michiels 2011). L'intervention d'autres protéines régulatrices, comme RIP140, dans ce complexe pourrait également expliquer le changement d'ubiquitinylation d'une protéine à l'autre.

3.4.3 Ciblage thérapeutique de l'effet Warburg

Comme nous venons de le voir, l'effet Warburg est présent dans de nombreux types de cancers, avec de nombreuses enzymes et protéines mises en jeu, ce qui en fait une cible thérapeutique intéressante.

- Une première approche est d'inverser l'effet Warburg en rétablissant la transformation du pyruvate en acétyl-CoA plutôt qu'en lactate. Une des pistes actuellement explorée est celle de l'acide alpha-lipoïque, une molécule agissant comme antioxydant mais également en tant que co-facteur de nombreuses enzymes mitochondriales (Farhat et Lincet 2020). Cette molécule est également responsable d'une activation de la voie AMPK (Park *et al.* 2008) (Lee *et al.* 2005) et d'une inhibition du cycle cellulaire *via* la surexpression d'inhibiteurs des CDK (*cyclin dependent kinase*) que sont p27 et p21 (Dozio *et al.* 2010). Bien que ces effets sur les lignées cancéreuses soient intéressants, ils sont encore peu transposés chez l'homme, mais semble prometteurs pour les années à venir.

Une autre molécule avec des propriétés similaires est le dichloroacétate. Cette molécule est un inhibiteur des PDK qui a été testé en combinaison avec d'autres chimiothérapies dans de nombreux modèles de cancers comme celui du poumon (Lu *et al.* 2018) (Sun *et al.* 2017), de la vessie (Woolbright *et al.* 2018) ou dans les hépatocarcinomes (Korga *et al.* 2019) (Fekir *et al.* 2019). Les résultats semblent prometteurs pour une transposition chez l'homme bien que les neuropathies que sa prise orale entraîne restent un facteur limitant, qui pourra être levé avec la modification des dosages et des modes d'administration (Stacpoole *et al.* 2019).

- Une autre approche, plus globale, vise à utiliser des régimes spécifiques, comme le régime cétogène, afin de priver la tumeur en glucose et potentialiser l'efficacité de certains traitements. Ce régime vise à supprimer l'apport en glucides en le remplaçant par un apport en lipides et en conservant l'apport en protéines. La déprivation en glucose pousse ensuite le foie à produire des corps cétoniques qui serviront de source d'énergie. L'organisme est alors en situation de cétose. Cet état de cétose permet de potentialiser des traitements par

radiothérapie dans des modèles murins de gliomes (Abdelwahab *et al.* 2012) ou des combinaisons de radio et chimiothérapie dans des xénogreffes murines de cancer du poumon (Allen *et al.* 2013). Enfin des cycles de jeûnes successifs ou des régimes mimant les effets du jeûnes (*Fast-mimicking diet*) permettraient également d'augmenter l'efficacité de la chimiothérapie ou des inhibiteurs de tyrosine kinase dans des modèles murins, mais également de réduire les effets secondaires et d'améliorer la qualité de vie chez l'homme (Nencioni *et al.* 2018).

Ces résultats montrent qu'une modulation des altérations du métabolisme dans un contexte cancéreux, qu'elle soit systémique ou ciblée, semble être une piste prometteuse pour le traitement des tumeurs dans les années à venir. Il reste cependant à évaluer comment l'inhibition de certaines enzymes métaboliques n'affectera que les cellules cancéreuses, et comment adapter les différents régimes afin qu'ils soient adaptés à l'état de santé initial du patient.

OBJECTIFS DE LA THESE

Lors de mon arrivée en 2016, pour mon stage de Master 2, dans l'équipe du Dr Vincent Cavaillès, les travaux du Dr Catherine Teyssier visaient à comprendre l'implication de RIP140 dans la régulation du métabolisme du glucose et dans la prolifération des fibroblastes embryonnaires de souris (MEF). En effet, la délétion de RIP140 dans des MEF (MEF RIPKO) induit une augmentation de la prolifération cellulaire ainsi que du métabolisme glucidique. De plus, ces résultats ont été reproduits dans des MEF transformées par l'introduction de la mutation oncogénique H-RAS^{V12D}, afin de mimer un développement cancéreux. La greffe de ces cellules chez des souris nous également permis de constater que la perte d'expression de RIP140 induit une augmentation de la croissance tumorale en comparaison des cellules contrôles.

Mon premier objectif était de comprendre les mécanismes permettant à RIP140 de contrôler le métabolisme glucidique dans ces cellules, induisant une perte de prolifération. Nos travaux ont permis d'établir pour la première fois que RIP140 est impliqué dans la régulation du dialogue entre HIF2 α et p53 dans le contrôle transcriptionnel de la glycolyse. Ils sont en cours de publication et ma participation substantielle aux travaux de recherche m'a valu la place de premier auteur.

Parallèlement à ce projet, mon deuxième objectif était de comprendre le rôle de RIP140 dans la chimiorésistance des AML. En effet, compte tenu de l'implication de RIP140 dans le métabolisme dans différents tissus et plus particulièrement de la biogénèse mitochondriale dans le tissu musculaire d'un côté, et de l'implication de la phosphorylation oxydative dans la résistance aux traitements chimiothérapeutique des AML de l'autre, nous avons voulu savoir si RIP140 pouvait jouer un rôle dans cette hémopathie. Nos travaux ont permis d'établir que RIP140 est également impliqué dans la prolifération ainsi que la différenciation des cellules d'AML.

Dans la partie résultat de ce manuscrit, je vous présenterai donc dans un premier temps les résultats de l'article Jacquier *et al.* sur l'implication de RIP140 dans la glycolyse des cellules cancéreuses puis les résultats obtenus quant à l'implication de RIP140 dans la prolifération des cellules de leucémies aiguës myéloïdes.

RESULTATS

1) Inhibition de la prolifération dépendante de la glycolyse par RIP140 grâce à une régulation du dialogue transcriptionnel entre le facteur induit par l'hypoxie et p53

a) Introduction

Les cellules cancéreuses se distinguent des cellules saines par plusieurs caractéristiques décrites par Dr Hanahan et Dr Weinberg en 2011, parmi lesquelles figure la reprogrammation métabolique. En effet, dans une cellule saine et en présence d'oxygène, le glucose est transformé en pyruvate afin d'alimenter le cycle de Krebs, qui à son tour va permettre la synthèse de métabolites nécessaires à la production d'ATP par la phosphorylation oxydative mitochondriale. En absence d'oxygène, le pyruvate est transformé en lactate, qui après métabolisation pourra être réintégré à la glycolyse. Cependant, les cellules cancéreuses privilégient la glycolyse comme source d'énergie principale, même en absence d'oxygène. Cette reprogrammation leur permet d'alimenter d'autres branches métaboliques comme la voie des pentoses phosphates, permettant ainsi la production de molécules nécessaires à leur prolifération. Ce phénomène, découvert dans les années 20 par Otto Warburg (Warburg, Wind, et Negelein 1927), et qui porte désormais son nom, a été caractérisé dans de nombreux types de cancers et est notamment utilisé pour détecter les tumeurs grâce à la technologie de la tomographie par émission de positrons.

Cette reprogrammation métabolique est, en partie, due à une dérégulation de l'expression de gènes contrôlant le métabolisme (Razungles *et al.* 2013). Parmi ceux-ci on trouve p53, le gardien du génome, connu principalement pour ses effets sur le cycle cellulaire et l'apoptose mais également régulateur de la balance entre phosphorylation oxydative et glycolyse (Matoba *et al.* 2006). En effet p53 est un régulateur négatif de nombreuses enzymes de la glycolyse comme la G6PD (Jiang *et al.* 2011) ou les transporteurs de glucose de la famille GLUT (Schwartzberg-Bar-Yoseph, Armoni, et Karnieli 2004). P53 a également un rôle antagoniste à celui des facteurs de transcription induit par l'hypoxie, les facteurs HIF. Ces derniers sont stabilisés en absence d'oxygène et stimulent la transcription de gènes de la glycolyse. Cet antagonisme pourrait s'expliquer par l'interaction directe entre les deux protéines

(An *et al.* 1998) mais les données à ce sujet sont contradictoires et nécessitent des éclaircissements (Sermeus et Michiels 2011).

RIP140 est un corégulateur transcriptionnel, impliqué dans la régulation de l'activité de nombreux récepteurs nucléaires et facteurs de transcription notamment *via* le recrutement de HDAC et de *c-terminal binding protein* (Augereau *et al.* 2006) (Castet *et al.* 2004). De par son riche interactome, RIP140 est impliqué dans la régulation de nombreux processus physiologiques tels que l'apprentissage et la mémoire, l'inflammation et le métabolisme. En effet, RIP140 est un régulateur négatif du métabolisme glucidique dans les adipocytes dans lesquels il inhibe l'activité du transporteur GLUT4 en inhibant à la fois son expression et sa translocation à la membrane (Ho *et al.* 2009). Nous, et d'autres équipes à travers le monde, avons démontré que RIP140 est impliqué dans le développement tumoral de nombreux types de cancers. En effet, RIP140 inhibe la prolifération de cellules tumorales colorectales et mammaires (Lapierre *et al.* 2014, Docquier *et al.* 2020, Jalaguier *et al.* 2017).

RIP140 étant impliqué dans la régulation du métabolisme glucidique dans les cellules saines, nous nous sommes demandé si cela pouvait être également le cas dans un contexte cancéreux. La deuxième question soulevée est de savoir si cette régulation du métabolisme glucidique peut avoir une influence sur la prolifération de ces cellules. Pour répondre à cette question nous avons établi des lignées de cellules cancéreuses déficientes pour RIP140 ainsi que des fibroblastes embryonnaires de souris transformés et immortalisés à partir de souris RIP140 *knock out*. Nous avons montré que la perte de l'expression de RIP140 dans les MEF entraîne une augmentation de leur prolifération. Par des expériences de déprivation en glucose et par l'utilisation d'inhibiteurs du métabolisme glucidique nous avons montré que cette augmentation de la prolifération est dépendante de la glycolyse. En effet, le métabolisme glucidique des cellules RIP140 déficientes est augmenté, grâce notamment à l'augmentation de l'expression du transporteur de glucose GLUT3 et de la première enzyme de la PPP, G6PD. Ces résultats ont été confirmés chez les patientes atteintes d'un cancer du sein, où l'expression de RIP140 est inversement proportionnelle à celle de GLUT3 et G6PD. Nos résultats montrent pour la première fois, une coopération entre RIP140 et p53 dans l'inhibition de l'expression des gènes de la glycolyse induite par HIF-2 α . Ces travaux ont permis de mieux comprendre l'implication de RIP140 dans le métabolisme glucidique des cellules cancéreuses et pourraient permettre à l'avenir de l'utiliser comme aide au diagnostic mais également comme facteur pronostique quant à l'efficacité de traitements ciblant la glycolyse. Cet article est en cours de soumission dans le journal Cell Reports.

b) Article

RIP140 inhibits glycolysis-dependent proliferation of cancer cells by regulating transcriptional crosstalk between hypoxia induced factor and p53

Valentin Jacquier, Delphine Gitenay^{*}, Samuel Fritsch, Laetitia K. Linares, Sandrine Bonnet, Stéphan Jalaguier, Vincent Cavaillès^{#§} and Catherine Teyssier^{#§}

IRCM, Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier, INSERM U1194, Université Montpellier, Montpellier F-34298, France

^{*}present address: IRMB, University of Montpellier, INSERM, CNRS, CHU Montpellier, Montpellier, France

[#]Co-last authors

[§]Corresponding authors: catherine.teyssier@inserm.fr (C.T.); vincent.cavaillès@inserm.fr (V.C.)

Abstract

Cancer cells with uncontrolled proliferation preferentially depend on glycolysis to grow, even in the presence of oxygen. Cancer cell proliferation is sustained by the production of glycolytic intermediates, which are diverted into the pentose phosphate pathway. The transcriptional co-regulator RIP140 represses the activity of transcription factors that drive cell proliferation and metabolism, especially glycolysis. However, it is still unknown whether RIP140 is involved in cancer-associated glycolysis deregulation, and whether this involvement could impact tumor cell proliferation. Here we use cell proliferation and metabolic assays to demonstrate that RIP140-deficiency causes a glycolysis-dependent increase in breast tumor growth. RIP140 inhibits the expression of the glucose transporter GLUT3 and of the Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase G6PD, the first enzyme of the pentose phosphate pathway. RIP140 thus impacts both this pathway and glycolysis to block cell proliferation. We further demonstrate that RIP140 and p53 jointly inhibit the transcription of the GLUT3 promoter, induced by the hypoxia inducible factor HIF-2 α . Overall, our data establish RIP140 as a critical modulator of the p53/HIF cross-talk that controls cancer glycolysis.

Keywords: cancer cell metabolism, transcription, RIP140, hypoxia, breast cancer, p53, glycolysis, GLUT3, pentose phosphate pathway, G6PD.

Introduction

In a normal resting cell, glycolysis converts glucose to pyruvate, which enters the tricarboxylic acid cycle where it becomes oxidized to generate ATP into mitochondria. In the absence of oxygen, glucose is still degraded into pyruvate, which is now converted into lactate in the cytosol. On switching to proliferative mode, cells increase glycolysis and reduce oxidative phosphorylation, which results in a high rate of glycolysis leading to lactate production. This metabolic switch was first described by Otto Warburg in the 20's, who observed that cancer cells prefer glycolysis to mitochondrial respiration to produce energy, even in the presence of oxygen (Hsu and Sabatini, 2008). This conversion of glucose to lactate in the presence of oxygen is now established as the Warburg effect, or aerobic glycolysis. At first, Warburg hypothesized that cancer arises from impaired mitochondria. However, experimental observations of functional mitochondria in cancer cells have since refuted his hypothesis (Zong et al., 2016). In fact, increased glycolysis has been frequently verified in tumors, even in the presence of oxygen. It is now established that, cancer cells switch to glycolysis to supply their

increased need for biosynthetic precursors and organic resources to synthesize cell components (Vander Heiden et al., 2009). As glycolysis produces less ATP than oxidative phosphorylation, cancer cells compensate for this energy gap by up-regulating glucose transporters to import more glucose into the cell. Enhanced glycolysis also produces reducing equivalents and many glycolytic intermediates are diverted into the pentose phosphate pathway to produce NADPH (Metallo and Vander Heiden, 2013), allowing cancer cells to fight against reactive oxygen species and oxidative stress (Patra and Hay, 2014).

The switch to glycolysis in cancer cells is orchestrated by oncogenes and tumor suppressors (Razungles et al., 2013). Specifically, the tumor suppressor gene p53 favors oxidative phosphorylation over glycolysis, enhancing the production of reactive oxygen species, to imbalance redox status and promote cell death (Gomes et al., 2018; Humpton and Vousden, 2019). p53 directly inhibits glycolysis by blocking the expression of glucose transporters GLUT1, GLUT4 (Schwartzberg-Bar-Yoseph et al., 2004) and GLUT3 (Kawauchi et al., 2008). p53 also acts as a biochemical cofactor by inhibiting the enzymatic activity of Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), the first and rate-limiting enzyme of the pentose phosphate pathway (Jiang et al., 2011). Conversely, inactivating p53 reduces oxygen dependence and allows cancer cells to grow in oxygen-limited conditions, such as hypoxia.

Hypoxia induces the stability of hypoxia inducible factors (HIFs) that stimulate glycolysis in tumor cells and antagonize p53 in cancer cells. The direct binding of HIF-1 α to p53 could account for their antagonizing (Sánchez-Puig et al., 2005). Although this interplay has been widely described, its direct influence on glycolysis needs further clarification (Amelio and Melino, 2015; Sermeus and Michiels, 2011).

The transcriptional coregulator RIP140 regulates the activity of various transcription factors, mainly inhibiting their transactivation ability by recruiting histone deacetylases (Augereau et al., 2006). RIP140 can also activate transcription through SP1 (Castet et al., 2006), or NF- κ B (Zschiedrich et al., 2008) sites. Due to its wide interactome, RIP140 influences numerous physiological functions, such as mammary gland development, fertility and inflammation (Nautiyal, 2017). RIP140 is also a major regulator of energy homeostasis, regulating lipogenesis in the liver, lipid storage and thermogenesis in adipose tissues, mitochondrial integrity, and the formation of oxidative fibers in the muscle (Nautiyal, 2017). In addition, RIP140 inhibits glucose uptake by two distinct mechanisms: i) by reducing the trafficking of the GLUT4 carrier at the adipocyte and muscle cell membranes (Fritah, 2009; Ho and Wei, 2012; Ho et al., 2009) and ii) by blocking the expression of GLUT4 in adipocytes (Powelka et al., 2006).

We, and other groups, have also reported that RIP140 plays crucial roles in tumorigenesis, promoting (Aziz et al., 2015; Rosell et al., 2014; Yu et al., 2018) or impairing breast tumor cell proliferation (Docquier et al., 2010; Jalaguier et al., 2017). In colorectal cancers, RIP140 regulates the APC/ β -catenin pathway and inhibits the proliferation of intestinal cells. Moreover, RIP140 acts as a tumor suppressor, high expression of RIP140 correlating with good prognosis of colorectal cancer patients (Cavaillès and Lapierre, 2014; Lapierre et al., 2014).

Despite its separately documented roles in glycolysis and cancer cell proliferation, it is still unknown whether RIP140 is actually involved in the metabolism of glucose in cancer cells, and, if so, whether this directly affects their proliferation. Also, in this context, any potential RIP140 target genes remain to be identified, together with the underlying molecular mechanisms.

Here we characterized the proliferative and glycolytic status of cancer cells with RIP140 knockdown and of immortalized or transformed mouse embryonic fibroblasts from RIP140 knock-out (RIPKO) mice. We also evaluated the survival of RIP140-deficient cells after disrupting glycolysis. We identified RIP140 glycolytic target genes by transcriptional analysis and characterized the mechanism by which RIP140 regulates the glycolysis of cancer cells. We

show for the first time that RIP140 regulates the transcription of genes implicated in glycolysis to influence tumor growth.

Results

RIP140-deficiency promotes cell proliferation and tumor growth.

As mentioned above, opposite effects of RIP140 on human cancer cell proliferation have been described. Aiming to clarify this situation, we first evaluated the impact of RIP140 silencing on proliferation of breast (MCF7 and MDA-MB-436), prostate (DU145) and colon (RKO) cancer cell lines by MTT and xCELLigence assays.

After small interfering RNA (siRNA) knockdown with two separate siRNAs, we measured proliferation by xCELLigence real-time cell analysis. RIP140 silencing consistently increased cell proliferation (Fig. 1a-c and Supplementary Fig. 1a-e) confirming our previous results. Therefore, in our experimental conditions, knocking-down RIP140 expression robustly increased cancer cell proliferation.

To further test the role of RIP140 on cell proliferation, we studied the proliferation of mouse embryonic fibroblasts (MEFs) knock-out for the *Rip140* gene (RIPKO, Supplementary Fig. 1f). 3T3-immortalized RIPKO MEFs proliferated more than 3T3-immortalized MEFs expressing *Rip140* (WT), as shown by MTT and xCELLigence assays (Fig 1c and Supplementary Fig. 1g). Immortalized RIPKO cells expressed more the proliferation markers, Cyclin A and Phosphorylated Serine10-Histone 3, and were also richer in ATP (Fig. 1d and Supplementary

Fig. 1h). Immortalization is an important step in cellular transformation and tumorigenesis, in which primary MEFs gain the capacity to grow forever by bypassing cellular senescence. In contrast, transformation of primary MEFs by two cooperating oncogenes, such as SV40 and HRas/V12, results in a loss of contact inhibition, anchorage-independent growth, and tumor formation in nude mice. In SV40-HRas/V12-transformed MEFs, RIP140-deficiency increased the cell proliferation and the number of colonies as shown, respectively, by MTT and soft agar assays (Supplementary Fig. 1i, j).

As the above data built a strong case for a growth inhibitory role of RIP140, we wondered whether RIP140 could also impact tumor growth. We, therefore, xenografted transformed RIPKO MEFs into nude mice and found that, indeed, these tumors had enhanced growth (Fig. 1e and Supplementary Fig. 1k, l).

To confirm the role of RIP140 in the observed effects, we rescued RIP140 expression by generating stable MEFs expressing either GFP or human RIP140 (Supplementary Fig. 1m). Rescuing RIP140 expression inhibited cell proliferation, in both xCELLigence and MTT assays (Fig. 1f and Supplementary Fig. 1n), and reduced colony number (Fig. 1g and Supplementary Fig. 1o). These data demonstrated that RIP140 inhibits cell growth in tumor cells.

Although pro-proliferative effects have been described for RIP140, our findings push toward an anti-proliferative effect of RIP140 on cancer cell proliferation.

Inhibiting glycolysis reduces the growth advantage of RIP140-deficient cells.

RIP140 regulates the homeostasis of glucose, which is one of the major nutrients of growing cells. To determine the importance of glucose for RIP140-deficient cell growth, we first performed glucose starvation experiments. Lowering glucose concentrations affected RIPKO cell proliferation more than WT cells in the MTT assay (Fig. 2a, and Supplementary Fig. 2a). As shown in Supplementary Fig. 2b, the growth advantage of RIPKO cells observed in glucose-rich medium was abolished in the absence of glucose.

Upon glucose starvation, Chiaradonna *et al.* reported that transformed MEFs displayed morphological features of cell death (Chiaradonna et al., 2006). Upon glucose starvation, transformed RIPKO MEFs had more features of dead cells than WT cells, such as loss of plasma membrane integrity and cell fragmentation (Fig. 2b). Furthermore, we found that transformed RIPKO MEFs were more sensitive to glucose limitation than transformed WT MEFs as shown by MTT assay (Supplementary Fig. 2c). These data suggest that RIP140-deficiency triggers glucose starvation-induced cell death.

Next, we analyzed cell viability after treatment with the glycolysis inhibitors 2-deoxyglucose (2DG, Hexokinase inhibitor) and 3-Bromopyruvate (BrP, GAPDH inhibitor).

As for glucose starvation, 2DG treatment induced the loss of the RIPKO cell growth advantage, as shown by MTT assay (Fig. 2c). This result was confirmed using an xCELLigence assay (Supplementary Fig. 2d). Moreover, treating with BrP induced the same response (Supplementary Fig. e). Cell proliferation and ATP level were more reduced in RIPKO MEFs under 2DG treatment, as shown by MTT and xCELLigence assays and ATP measurement (Fig 2d, e and Supplementary Fig. 2f). Moreover, RIPKO cells formed no colonies in the presence of the drug (Supplementary Fig. 2g). In preclinical models, treating our xenografted nude mice with 2DG led to a greater reduction in volume of RIPKO than WT tumors (Fig 2f). Finally, both glycolysis inhibitors reduced the MDA-MB-436 cell viability more efficiently when RIP140 was silenced by siRNA (Fig. 2g).

Altogether, these results demonstrate that the growth advantage of RIP140-deficient cells is abolished when glycolysis is impaired. RIP140-deficient cells therefore rely on glycolysis to grow, suggesting that RIP140 inhibits cell proliferation by blocking glycolysis.

RIP140-deficiency enhances glycolysis in breast cancer cells.

Because these results suggested that RIP140 inhibits glycolysis in tumor cells, we characterized the glycolytic properties of RIP140-deficient cells. To do so, we performed Seahorse flux analysis that allow the measurement of the glucose-induced extracellular acidification rate, reflecting glycolysis. When basal extracellular acidification rate was set up as reference for each cell line, the addition of glucose changed this acidification rate more in RIPKO cells (Fig. 3a). Further, the glycolytic parameters provided by the Agilent Wave software, including glycolysis, glycolytic capacity and glycolysis reserve, were higher in RIPKO MEFs (Fig. 3b). The high glycolysis content of RIPKO cells was confirmed in transformed MEFs (Supplementary Fig. 3a). Furthermore, glucose consumption and lactate production were higher in RIPKO cells, confirming the Seahorse analysis (Supplementary Fig. 3b). We also demonstrated that glucose uptake was higher in immortalized and transformed RIPKO MEFs (Fig. 3c). Then, rescuing RIP140 expression reduced extracellular acidification, confirming the inhibitory effect of RIP140 on glycolysis (Fig. 3d).

Finally, silencing RIP140 by siRNA in human cancer cells increased glycolysis (Fig. 3e and Supplementary 3d). Thus, these results demonstrate for the first time that the loss of RIP140 increased glycolysis in cancer cells.

GLUT3 and G6PD are essential for the growth advantage of RIP140-deficient cells.

To investigate how RIP140 regulates glycolysis in cancer cells, we monitored the expression of 24 different metabolic genes involved in glycolysis by RT-qPCR in RIP140-deficient cells. The mRNA level of *GLUT3*, *GLUT4*, *LDHB* (Lactate Dehydrogenase B) and *G6PD* was above a 2-fold change threshold between RIPKO and WT immortalized MEFs (Supplementary Fig. 4a). The increase of *GLUT3* and *G6PD* mRNA expression level was recapitulated in transformed MEFs (Supplementary Fig. 4b). Furthermore, these two genes were also significantly increased by RIP140 silencing in the breast cancer cell lines MCF7 and MDA-MD-436 (Fig. 4a and Supplementary Fig. 4c), whereas the *LDHB* and *GLUT4* levels did not change significantly (data not shown). The induction of GLUT3 and G6PD was also confirmed at the protein level in MEFs (Fig. 4b and Supplementary Fig. 4d). Furthermore, rescuing RIP140 expression in RIPKO MEFs downregulated these two genes (Fig. 4c), suggesting that *Glut3* and *G6pd* might be involved in RIP140-regulated glycolysis.

G6PD is the first and rate-limiting enzyme of the pentose phosphate pathway. We evaluated its importance in RIP140-deficient cells by first quantifying its enzymatic activity. We found that G6PD activity was higher in RIPKO than in WT MEFs (Fig. 4d). As a correlate of the high G6PD activity, the NADPH/NADP⁺ ratio was higher in KO cells than in control cells

(Supplementary Fig. 4e). Moreover, RIP140-deficient cells were more sensitive to G6PD inhibition by 6-Aminonicotinamide than control cells, as shown by MTT and colony formation assays, suggesting that RIP140-deficient cells rely on the pentose phosphate pathway to grow (Fig. 4e, f and Supplementary Fig. 4f-h).

To test whether GLUT3 or G6PD are needed by RIP140-deficient cells, we knocked down these genes either with small hairpin RNA (shRNA) in MEFs or with siRNA in MDA-MB-436 (Supplementary Fig. 4i-k). Knocking down either *Glut3* or *G6pd* abrogated the growth advantage induced by RIP140-deficiency, in both cell types as shown by either colony formation or MTT assays (Fig. 4g, h and Supplementary Fig. 4l, m). Finally, interrogating the breast cancer database Breastmark allowed us to find that low ratios between RIP140 and GLUT3 or between RIP140 and G6PD were associated with poor prognosis in breast cancers (Fig. 4j). Altogether, these data show that RIP140-deficiency stimulates cell proliferation mainly through *GLUT3* and *G6PD* induction.

RIP140 and p53 interact to down-regulate GLUT3.

Next, we investigated the mechanism by which RIP140 inhibits *GLUT3* and *G6PD* expression. Performing luciferase reporter assays using the *GLUT3* promoter allowed us to show that RIP140 knock-down increased the luciferase activity of this reporter (Fig 5a, b). The luciferase activity of the *G6PD* promoter was also enhanced by RIP140 knock-down (Supplementary Fig. 5a). These results were confirmed using transformed MEFs in a luciferase reporter assay (Supplementary Fig. 5b). Moreover, RIP140 overexpression decreased the luciferase activity of both reporters (Fig. 5b and Supplementary 5c). These data confirmed the transcriptional inhibition of RIP140 on GLUT3 and G6PD expression.

RIP140 is a transcriptional coregulator and not a direct DNA binding protein, but in certain conditions it could be found in the vicinity of target genes. Then, a chromatin immunoprecipitation (ChIP) assay in MDA-MB-436 cells revealed the recruitment of RIP140 to the *GLUT3* promoter, indicating that regulation by RIP140 occurred directly within the promoter region of *GLUT3* (Fig. 5c). We did not find RIP140 within the promoter region of *G6PD*, suggesting that RIP140 recruitment may occur elsewhere within the gene (data not shown). We therefore decided to focus on *GLUT3* regulation by RIP140.

One of the direct DNA binding factors that likely could mediate RIP140 activity is p53, as it is a well-known inhibitor of the Warburg effect (Gomes et al., 2018). Thus, we investigated whether p53 mediated any of the transcriptional activities of RIP140 on *GLUT3* expression. Using a luciferase reporter assay, we showed that increasing doses of p53 enforced the inhibitory effect of RIP140 on the luciferase activity driven by the *GLUT3* promoter, and that both proteins cooperated to repress this luciferase activity (Fig 5d, e). We then wondered whether this cooperative inhibition relies on direct protein-protein interaction. A proximity ligation assay (PLA) using antibodies against both endogenous proteins revealed RIP140 and p53 in close proximity in WT cells (Fig 5f). Moreover, we discovered a direct interaction *in vitro* between both proteins by GST-pulldown (Fig 5g).

Strikingly, RIP140-deficiency also clearly down-regulated p53 expression at both protein and mRNA levels (Fig. 5h and Supplementary Fig. 5d). Consistently, rescuing RIP140 led to an increase in *p53* mRNA level (Supplementary Fig. 5e). Silencing RIP140 also downregulated *p53* mRNA in MCF7 cells (Supplementary Fig. 5f). Overall then our data suggest that RIP140, not only interacts and synergizes with p53, but also regulates its expression.

RIP140 and p53 inhibit the expression of GLUT3 induced by HIF-2 α .

The common thread of the above data from RIP140-deficient cells: p53 inactivation, enhanced glycolysis and cell proliferation, is that these are all hallmarks of hypoxia. Hypoxia induces the stability of hypoxia inducible factors, or HIFs, which have an oxygen sensitive α sub-unit (HIF-1 α , HIF-2 α or HIF-3 α) and one stable β sub-unit (HIF-1 β ; also known as ARNT)(Majmundar et al., 2010). Our findings indicated that RIP140 and p53 cooperated to inhibit *GLUT3* expression. Thus, we wondered whether this cooperation could target HIFs activity.

We first assessed the effect of RIP140 on the transcriptional activity of HIFs. Using a luciferase reporter assay, we found that the transcriptional activity of a reporter gene containing hypoxia-response elements was higher in RIPKO than in WT MEFs (Fig 6a). Increasing doses of RIP140 repressed the basic activity of this reporter gene, but also the luciferase activity induced by DFO treatment, which mimics hypoxia, suggesting that RIP140 repressed HIF activity (Fig. 6a). However, RIP140 did not repress the activity of the hypoxia-response element-luciferase promoter when activated by the ectopic expression of HIF-1 α or HIF-2 α at high doses, suggesting that another factor was required for RIP140 to repress HIF activity (Supplementary Fig. 6a).

To identify this other factor, we decided to look at p53, which is known to inhibit the transcriptional activity of HIFs (Blagosklonny et al., 1998). Indeed, in our luciferase reporter assays, p53 inhibited the transcriptional activity of HIF-1 α and HIF-2 α (Fig. 6b). Strikingly, this repressive activity was stronger when RIP140 and p53 were expressed together (Fig. 6b). These results demonstrate that RIP140 and p53 cooperate to inhibit HIF transcriptional activity.

As hypoxia is known to induce GLUT3 expression (Mimura et al., 2012), we next asked if hypoxia affects *Glut3* expression in RIPKO cells. Either DFO treatment or HIF overexpression both increased the level of *Glut3* mRNA in RIPKO but not in WT MEFs (Fig. 6c, d and Supplementary Fig. 6b). These results suggest that the physiological role of p53/RIP140 could be to block the up regulation of GLUT3 by the HIFs.

To test this hypothesis, we first up regulated the HIFs in a luciferase gene reporter driven by the *GLUT3* promoter. We found that the overexpression of HIF-2 α , but not HIF-1 α , increased the activity of the *GLUT3* promoter (Supplementary Fig. 6c). Consistent with a specific role for this family member, we found that HIF-2 α , and not HIF-1 α , was overexpressed in RIP140-deficient cells (Supplementary Fig. 6d-f). Interestingly, HIF-2 α silencing reduced the expression of *Glut3*, only in RIP140 KO MEFs (Fig. 6e).

We then wondered whether HIF-2 α participated in the proliferative advantage of RIP140-deficient cells. Silencing HIF-2 α significantly reduced RIPKO cell proliferation, as shown by xCELLigence analysis of RIPKO MEFs expressing a specific HIF-2 α siRNA (Fig. 6f). Finally, our hypothesis that p53/RIP140 impacts HIF-dependent induction of *GLUT3* expression was confirmed in a luciferase reporter assay. Indeed, RIP140 and p53 inhibited the expression of the *GLUT3* promoter induced by HIF-2 α (Fig. 6g).

To further decipher the mechanism, we wondered whether or not the DNA binding function of p53 was required to inhibit the transcriptional activity of HIF-2 α . For this, we used the p53 mutant R273H, which cannot bind to DNA. Consistent with a non DNA-binding mechanism, the mutant p53 had the capacity to inhibit the basal activities of either a hypoxia-response element- or a *GLUT3*-dependent promoters. When HIF-2 α was over-expressed, the mutant p53 still repressed the activity of both promoters (Fig. 6h).

The fact that p53 inhibition did not require its DNA binding, along with the fact that RIP140 and p53 interacted (Fig. 5) suggested that the interplay between RIP140, p53 and HIF-2 α could be mediated through protein-protein interactions. Performing a proximity ligation assay demonstrated that HIF-2 α interacted with RIP140 and p53, suggesting that the three proteins could be involved in a ternary complex (Fig. 6i and Supplementary Fig. 6g).

Discussion

Altogether our data reveal that RIP140 inhibits the glycolysis-dependent proliferation of cancer cells by coordinately impeding glycolysis and the pentose phosphate pathway through the blockade of *GLUT3* and *G6PD* expression. Moreover, RIP140 and p53 jointly inhibit the expression of *GLUT3* induced by HIF-2 α . This new model of the regulation of glycolysis in tumorigenesis is detailed in Figure 7.

Glycolysis is essential for supporting the rapid proliferation of tumor cells. Our results demonstrate that the gain in tumor cell proliferation caused by the decrease or loss of RIP140 expression is abolished by glucose deprivation or by glycolysis blockade, showing the glucose dependency of RIP140-deficient cells. Of note, transformed RIPKO cells were more sensitive to glucose starvation than immortalized MEFs, suggesting that RIP140-deficiency might influence the transformation process in cancer by regulating glycolysis (Fig. 2b and Supplementary Fig. 2a). Interestingly, RIP140 does not regulate the metabolism of glutamine although this amino acid is also important for the proliferation of cancer cells (Jin et al., 2016). Indeed, the proliferation of WT and RIP140 KO cells was equally impacted by glutamine deprivation (data not shown), suggesting that RIP140 specifically affects glycolysis.

We demonstrated that RIP140-deficiency induced p53 down-regulation and HIF-2 α up-regulation. While we observed an opposite effect of RIP140 on p53 and HIF-2 α expression in MEFs, this contrary regulation was not observed in the cancer cells that we studied. The status of p53 was different in the cancer cell lines that we used; MDA-MB-436 cells have a p53 mutation whereas MCF7 cells are p53 wild type (Concin et al., 2003). However, we saw no correlation between p53 status and responses to RIP140 silencing. In RIPKO MEFs, where p53 is down-regulated and HIF-2 α is stabilized, the loss of RIP140 provoked a mild-hypoxia status leading to glycolysis stimulation and cell survival. Evaluating the expression of the three partners in tumor samples could indicate whether they are localized within hypoxic regions. One can imagine that such specific tumor hypoxia biomarkers will be valuable in developing hypoxia-based therapies or treatment strategies.

Our tailored experiments did not uncover how RIP140 regulates the expression of G6PD, which will require further work to establish. By contrast, our study describes the mechanism of the regulation of *GLUT3* expression, which relies on the cooperation of RIP140 and p53 to inhibit the expression of *GLUT3* induced by HIF-2 α (Fig. 6g). The DNA-binding-defective p53

R273H mutant still efficiently repressed the transcriptional activity of HIF-2 α , suggesting that the mechanism of this cross-talk likely involves protein-protein interactions (Fig. 6h). Indeed, proximity ligation assays allowed us to visualize the three partners in close proximity two-by-two, suggesting that they are involved in a ternary complex (Fig. 5f, 6i). Our data reveals for the first time that RIP140 interacts with p53 and HIF. Whether there is a ternary complex or if the interactions follow a temporal order will need to be defined in future studies.

It is tempting to speculate that RIP140 could act as an integrator protein such as CBP/p300 as p53 and HIF antagonism relies on competition for p300 (Schmid et al., 2004). RIP140 could enter into the competition with CBP as it does for nuclear receptors (Chen et al., 2004). The interplay between p53 and HIFs, although widely studied, remains a complex question, however, and it is still debated whether or not their reciprocal influence has any direct consequences for metabolism in cancer. Our results add RIP140 as a new major player in this interplay, and provide an additional bond between cell metabolism and cancer progression.

Our results also revealed that RIP140 impacts both glycolysis and the pentose phosphate pathway. The proliferative advantage of RIP140-deficient cells was blocked by the

pharmacological inhibition of each pathway separately. Furthermore, down-regulating *Glut3* or *G6pd* expression provoked the same inhibition of RIP140-deficient cell proliferation. Combining the inhibition of both glycolysis and the pentose phosphate pathway could therefore block the proliferation of RIP140-deficient cancer cells more strongly. The overexpression of *GLUT3* or *G6PD* has been described in many types of cancer with poor outcomes (Benito et al., 2017; Kuang et al., 2017). In breast cancer patients, we found that a high level of *RIP140* combined with low levels of *GLUT3* or *G6PD* was linked to a poor survival (Fig. 4i). Cellular metabolism in cancer is currently being targeted in clinical trials with some success (Sborov et al., 2015). Our results suggest that these ratios could be used to identify patients that could benefit of therapies targeting glycolysis and/or HIF inhibitors. Altogether, our results enable us to propose a new model explaining the transcriptional control of glycolysis-dependent cancer cell proliferation by a nuclear interplay between three actors.

Acknowledgements

We thank Dr. Yuan, Dr. Karadimitris and Prof. Schymkowitz for the kind gift of plasmids, and Drs. Lapierre and Palassin for the generation of immortalized MEF #1 and stable MEF#1 overexpressing hRIP140, respectively. Thanks also to Dr. Stallcup for proofreading the manuscript. We gratefully acknowledge the financial support of ARC Foundation (R15083FF), Ligue Contre le Cancer (LNCC R13008FF, LNCC R15016FF), and Fondation pour la Recherche Médicale (N° DEQ20170336713).

Author contributions

V.J., D.G., S.F., L.K.L., S.B., S.J. and C.T. performed the experiments. S.F. and L.K.L. contributed to the in vivo experiments. S.F. generated MEF #2. V.J. and S.J. performed breast cancer cell proliferation experiments. V.J. performed ChIP experiments, glycolysis inhibition and siRNA experiments in cancer cells, NADP/NADPH ratio measurements, and glucose starvation experiments. D.G. performed immunoblots, ATP measurement, 2DG treatment experiments, cell proliferation and G6PD activity assays in MEF#1. S.B. performed luciferase reporter assays and GST pull-down experiments. C.T. generated MEF #3 and #4, performed

Seahorse, glucose uptake, xCELLigence, soft agar, PLA, shRNA experiments, luciferase reporter assays and immunoblots. V.J, V.C. and C.T. designed the studies and interpreted the data. C.T. wrote the manuscript. V.C. reviewed and approved the manuscript. All authors discussed and revised the manuscript. V.J. was supported by a fellowship from the French Ministry of Research.

Data Availability

Source data for all the figures are provided with the paper. All materials are available upon request to the corresponding authors.

Competing Interests statement

The authors declare no competing financial interests.

Materials and Methods

Plasmids and reagents.

RIP140-expressing vectors (pEFcmv-RIP140 (Carascossa et al., 2006), pEGFP-RIP140 (Zilliacus et al., 2001)) and control vectors, pEGFP (Clontech), are described elsewhere. HA-HIF1 α -pcDNA3 (Addgene plasmid # 18949) and HA-HIF2 α -pcDNA3 (Addgene plasmid # 18950) plasmids were gifts from Dr Kaelin (Kondo et al., 2002). The GLUT3-Luc and G6PD-Luc reporter genes were gifts from Dr. Yuan (Liu et al., 2014) and Dr. Karadimitris (Makarona et al., 2014), respectively. The pCDNA3-p53R273H vector was kindly donated by Prof. Schymkowitz (Xu et al., 2011). 2-Deoxy-D-glucose (2DG, D6134), 6-Aminonicotinamide (6AN; # A68203), 3-Bromopyruvate (BrP; #16490), MTT ((3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) (98%, CAS 298-93-1), Deferoxamine mesylate salt (D9533), Di(N-succinimidyl) glutarate (80424), crystal violet (C0775), G6PDH Activity Assay Kit (MAK015), anti-Mouse IgG-FITC antibody (F6257), monoclonal Anti- β -Actin-Peroxidase antibody (A3854) were purchased from Sigma-Aldrich (Merck, Darmstadt, Germany). Puromycin (ant-pr-1) was purchased from Invivogen (France). The ATP Determination Kit (10700345) was from Fisher Scientific (France). Deoxy-D-glucose, 2-[1,2-³H (N)] (NET328A250UC) was from Perkin Elmer (France). GLUT3 shRNA (m) (sc-41219-

V), G6PD shRNA (m) (sc-60668-V) were purchased from Santa Cruz Biotechnology (Dallas, USA). Rabbit polyclonal to RIP140 (ab42126) was from Abcam (Cambridge, UK). BrdU Hu-purified-clone B44 (#347580) was from Becton Dickinson (France). NADP/NADPH-Glo assay (G9081) was from Promega (France).

Cell culture. Immortalized and transformed mouse embryonic fibroblasts (MEFs) were cultured in F12/Dulbecco's modified Eagle's medium supplemented with 10% fetal calf serum, 1% Penicillin/Streptomycin, 1mM Sodium Pyruvate and 10mM HEPES. Primary MEFs were prepared from 13.5 day wild-type (WT) or RIPKO mouse embryos (White et al., 2000) and genotyped by PCR. All experiments on mice were performed in accordance with French guidelines (agreement n° 201603101538202). Four independently derived RIP140 WT and RIPKO MEF cell lines were established. Immortalized MEFs were obtained by sequential passage, according to the 3T3 protocol (Todaro and Green, 1963), or by infection with retrovirus expressing SV40. After immortalization, MEFs were transformed with retrovirus expressing H-RasV12. Virus production, infection and transfection were performed as previously described (Rodier et al., 2015). Stably infected cells were selected with Puromycin (2.5µg/ml) after SV40 virus infection and Hygromycin (65µg/ml) after H-RasV12 virus infection. Immortalized MEFs were transduced with lentiviral particles expressing shRNA

against murine GLUT3 (sc-41219-V) or G6PD (sc-145295-V) according to the manufacturer's protocol (Santa Cruz Biotechnology,). MEFs transfected with pEGFP or pEGFP-hRIP140 were cultured in the presence of 3.2µg/ml Puromycin, as the selection agent to establish stable cell lines. MCF7, PC3 and DU145 were cultured in F12/Dulbecco's modified Eagle's medium supplemented with 10% fetal calf serum, 1% Penicillin/Streptomycin. MDA-M-B436 and RKO were cultured in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) + GlutaMax (Thermo Fisher Scientific; Waltham, MA), supplemented with 10% FBS and 1% Penicillin/Streptomycin.

Real-time qPCR. Real-time qPCR was conducted as previously described (Jalaguier et al., 2017). Briefly, total RNA was extracted from cells using the Quick RNATM Miniprep kit (Zymo Research, Irvine, CA, USA) according to the manufacturer's instructions. cDNA was synthesized with 1 µg of RNA and the qScript cDNA master mix (Quanta Bio, Beverly, MA, USA). mRNA expression was determined with a quantitative real time PCR SYBR Green SensiFASTTM SYBR® No-ROX Kit (Bioline, London, UK) on a Light Cycler® 480 Instrument II (Roche Life Sciences). Relative expression levels for the mRNAs of interest were normalized to 28S or RS9 housekeeping genes. See Supplemental Table 1 for the list of primer sequences.

Protein detection.

Protein expression was quantified by western blot analysis using the following antibodies: anti-cyclin A (1:500 sc-751; Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA), anti-Histone H3 (phospho Serine10) (1:2,000 ab14955; Abcam Cambridge, UK), anti-GLUT3 (1:10000 ab191071; Abcam), anti-G6PD (1:1000 ab993; Abcam), anti-p53 (1:1000 1C12; Cell Signaling Technology, Leiden, The Netherlands), anti-HIF-1 α (1:1000 NB100-105; Novus Biologicals, LLC (Centennial, USA)), anti-HIF-2 α /EPAS1 (1:1000 NB100-122; Novus Biologicals, LLC (Centennial, USA)), and anti-Actin-HRP (1:10000 A3854, Merck, Darmstadt, Germany).

Immunofluorescence, proximity ligation assays (PLA) and GST-pull down were performed as described (Jalaguier et al., 2017).

Luciferase assay. For gene reporter assays, cells were plated in 96-well plates and transfected with JetPEI (Polyplus, Illkirch-Graffenstaden, France) according to the manufacturer's protocol. Data were expressed as relative firefly luciferase activity normalized to renilla activity. For all experiments, data were collected from at least three biological replicates.

Chromatin immunoprecipitation. Approximately one hundred and twenty million cells were harvested per experiment. Briefly, protein–DNA complexes were first cross-linked, using 2mM Di (N-succinimidyl) GLUTarate (DSG), for 50 min on a rotor, then the procedure was performed using High-Sensitivity kit (Active Motif, Shanghai) and according to manufacturer's

protocol. Chromatin was sonicated for thirty seconds on ice followed by thirty seconds off, for a total of thirty minutes. Immunoprecipitations were performed with 30µg of protein-DNA complexes and 4µg of RIP140 antibody (Ab42126; Abcam). The purified DNAs were amplified with SYBR Green SensiFAST™ SYBR® No-ROX Kit (Bioline, London, UK) by real-time qPCR.

Cell proliferation analysis

MTT assay. Cell proliferation assays were performed using MTT as previously described (Jalaguier et al., 2017). Data were normalized to the absorbance value at day 1. Experiments were performed three times with at least sextuplets. For glucose starvation experiments, cells grew for 24 hours in complete media. Then cells were washed twice with PBS and starvation medium (DMEM5030 supplemented with 10% dialyzed FBS, 2mM Glutamine, 1% Penicillin/Streptomycin, HEPES 10mM, 1mM Sodium Pyruvate, 3.7g/l Sodium Bicarbonate) was added to the cells supplemented, or not, with indicated glucose concentrations.

xCELLigence analysis. The Real-time Cell Analyzer DP instrument (Agilent, Santa Clara, USA) was placed in a humidified incubator maintained at 37°C with 5% CO₂. Cells were plated at 1500 cells/well into 16-well E-Plates. The impedance value of each well was automatically

monitored every hour for up to the indicated times by the xCELLigence system. Cell proliferation is represented by an index that reflects changes in electrical impedance matching to cellular coverage of the electrode sensors.

Soft agar colony assay. Soft agar experiments were performed as described previously (Rodier et al., 2015). Briefly, transformed MEFs ($8 \cdot 10^4$ cells) were mixed with culture medium containing 0.4% agar and seeded into 6-well plates coated with 1% agar in F12/DMEM containing 10% FBS in at least triplicate. Medium was changed twice a week. After 20 days, colonies were stained with 0.5% crystal violet solution, photographed and counted with ImageJ software.

Mouse xenograft assays. Transformed MEF ($5 \cdot 10^5$ cells) were resuspended in 100 μ l of RPMI medium (Thermo Fisher Scientific; Waltham, MA) and injected subcutaneously into the dorsal area of 4-6-week-old immuno-deficient athymic female mice (Charles River, Écully, France). After 10-14 days, tumor volumes were measured every 3-4 days with a caliper. Before reaching tumor volume limit point, fibrosarcomas were excised, photographed and weighed.

Metabolic measurements

Glucose uptake. One day after cell seeding at 50,000 cells/well into 24-w plates, cells were washed once with PBS and medium was replaced with low-glucose medium (DMEM5030 supplemented with 10% dialyzed FBS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA), 2mM Glutamine, 1% Penicilline/Streptomycin, HEPES 10mM, 1mM Sodium Pyruvate, 3.7g/l Sodium Bicarbonate, 0.25mM Glucose). Then 1 μ Ci/ml of Deoxy-D-glucose, 2-[1,2-3H(N)] (Perkin Elmer, Waltham, MA) was added for 30 minutes at room temperature. Cells were washed once with PBS and then lysed with 200 μ l of 1%SDS; 10mM Tris pH 7.5. 100 μ l was used to count radioactivity with a Perkin Elmer liquid scintillation analyzer Tri-Carb 2900TR and 5 μ l was used to quantify proteins for normalization.

Cellular ATP measurement. ATP content was determined using the ATP determination kit according to the manufacturer's instructions (Molecular Probes, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). Cells were washed with iced-cold 1x PBS and extracted in an ATP-releasing buffer containing 100 mM potassium phosphate buffer at pH 7.8, 2 mM EDTA, 1 mM dithiothreitol, and 1% Triton X-100. Then, 5 μ l of lysate was used for protein determination by the DC Protein Assay (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). ATP levels were expressed in nM ATP per 10 μ g protein units and then normalized with respect to the level in control samples.

Seahorse experiments. Extracellular acidification rate (measured in mpH/min) was monitored using an XFe24 extracellular flux analyzer from Seahorse Bioscience (Agilent, Santa Clara, CA) following the manufacturer's protocol. Experiments were carried out on confluent monolayers. Briefly, cells were seeded 24 hours before experiments at a density of 35,000 cells/well (24-well). Before starting measurements, cells were washed once with PBS and medium was replaced with Seahorse XF Base Medium supplemented with 2mM glutamine without glucose at pH 7.4) and were placed into a 37 °C non-CO₂ incubator for 1 hour prior to the assay. Glucose, oligomycin, and 2-DG were diluted into XF24 media and loaded into the accompanying cartridge to achieve final concentrations of 10 mM, 1 μ M, and 100 mM, respectively. Injections of the drugs into the medium occurred at the time points specified. Each cycle consisted of 3 min mixing, 3 min waiting and 3 min measuring. Data were transformed with Agilent Seahorse Wave software to export glycolysis parameters. Values were expressed after normalization to the protein content of each well and to the values just before glucose addition. Acidification rates were presented as the mean $\pm$ SD of 4 to 6 replicate wells.

NADP/NADPH assays. Five thousand MEFs were seeded per well in a 96-well plate in 50 μ L of DMEM-F12. 24 hours later, the NADP/NADPH balance was measured by NADP/NADPH-Glo Assay (Promega, Madison, WI) according to manufacturer's protocol.

Glucose and Lactate assays. Cells were seeded in culture dishes and cultured for 8 h. The culture medium was then changed and cells were incubated for an additional 16 h. Subsequently, the culture medium was collected for determination of glucose concentration and lactate levels using a Glucose assay kit (Amplite TM Glucose Quantitation Assay kit, AAT Bioquest, Sunnyvale, CA) and a Lactate assay kit (MAK064, Merck, Darmstadt, Germany) according to the manufacturer's instructions. Glucose consumption was calculated as the difference in glucose concentration between fresh medium and cell supernatant. Lactate production was determined as the difference in lactate concentration between cell supernatant and fresh medium. Data were normalized to final cell counts and time.

G6PD activity assay. G6PD activity was determined with a Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Assay Kit (MAK015, Merck, Darmstadt, Germany) according to the manufacturer's instructions using 10 µg protein. Protein extraction and quantification were performed as for ATP determination. G6PD activity was determined as milli-units/mL then normalized with respect to the activity in WT MEF samples.

Statistical analysis. Data are expressed as mean $\pm$ SD. Unless stated otherwise, statistical analysis was performed by a Mann-Whitney test using StatEL. The p values less than 0.05 were considered to be statistically significant (***p < 0.001, **p<0.01, *p < 0.05).

Table1. Murine primer sequences

Name	Sequence
ALD1-FOR	TTCGCCTACCCACCGGCGTA
ALD1-REV	GGTGGCAGTGCTTTCCTGGCA
ALDOC-FOR	ACCATATTGGGCTTGAGCAG
ALDOC-REV	CCTCAAACGTTGCCAGTATGT
ENO1-FOR	AAAGATCTCTCTGGCGTGGA
ENO1-REV	CTTAACGCTCTCCTCGGTGT
ENO3-FOR	GGACTCCAGGGGCAACCCCA
ENO3-REV	TGCTCGGAATCGACCCTTGGC
GAPDH-FOR	GTGCAGTGCCAGCCTCGTCC
GAPDH-REV	CAGGCGCCCAATACGGCCAA
GLUT1-FOR	GAGTGTGGTGGATGGGATG
GLUT1-REV	AACACTGGTGTCATCAACGC
GLUT2-FOR	GGCTAATTCAGGACTGGTT
GLUT2-REV	AACCAGTCCTGAAATTAGCC
GLUT3-FOR	ATCGTGGCATAGATCGGTTC
GLUT3-REV	TCTCAGCAGCTCTCTGGGAT
GLUT4-FOR	CAGTGTTCCAGTCACTCGCT
GLUT4-REV	TTTTAAAACAAGATGCCGTCG
GPI1-FOR	AAAGTCCAATGGCTGACCAC
GPI1-REV	CACGGCCAAAGTGAAAGAGT

G6PD-FOR	TCC GAG ATA TAC CAG GCG AC
G6PD-REV	GGC TTC TTG GTC ATC ATC GT
HIF1-FOR	AAACTTCAGACTCTTTGCTTCG
HIF1-REV	CGGCGAGAACGAGAAGAA
HIF2-FOR	ATC ACG GGA TTT CTC CTT CC
HIF2-REV	GGT TAA GGA ACC CAG GTG CT
HK2-FOR	GGAACCGCCTAGAAATCTCC
HK2-REV	GGAGCTCAACCAAAACCAAG
LDHA-FOR	GCAACATTACACCACTCCA
LDHA-REV	TCCGTTACCTGATGGGAGAG
LDHB-FOR	GCTGCAGGTCCATCATCTCT
LDHB-REV	GTTGGACAAGTGGGTATGGC
PDK2-FOR	TTCCATGATGTCCAGCAGAC
PDK2-REV	GATCAACCTGCTTCCTGACC
PDK1-FOR	TTACTCAGTGGAACACCGCC
PDK1-REV	GTTTATCCCCGATTCAGGT
PDK3-FOR	GTTAGCCAGTCGCACAGGA
PDK3-REV	CGTCGCCACTGTCTATCAAA
PDK4-FOR	TGACAGGGCTTTCTGGTCTT
PDK4-REV	AGTGAACACTCCTTCGGTGC
PFK2-FOR	AATGAGTGTTGGGGAGTTGG
PFK2-REV	CAGAAGACTGCAACAGCAGC
PFK3-FOR	CCACCATCACAATCACGGT
PFK3-REV	CAGAGCCGGGTACAGAAGAT
PG1-FOR	GTTCTTCAATGGCACCGACT
PG1-REV	AGTGGGACTGAGCCCAAAAT
PGK1-FOR	CAGCCTTGATCCTTTGGTTG
PGK1-REV	CTGACTTTGGACAAGCTGGA
PKM2-FOR	GCCGCCTGGACATTGACTC
PKM2-REV	CCA TGAGAGAAATTCAGCCGAG
p53-FOR	GAAGTCCTTTGCCCTGAAC

p53-REV	CTAGCAGTTTGGGCTTTCC
TPI1-FOR	AAAGTCGATGTAAGCGGTGG
TPI1-REV	GAAGTGCCTGGGAGAACTCA

Table 2. ChIP primer sequences

Name	Séquence	Ref
NegCHIP-FOR	ATGGTTGCCACTGGGGATCT	(Liu et al., 2014)
NegCHIP-REV	TGCCAAAGCCTAGGGGAAGA.	(Liu et al., 2014)
GLUT3CHIP-FOR	CCCCTGAAGCAATCTTGTGATC	(Liu et al., 2014)
GLUT3CHIP-REV	AAAAA CCCAGGGTGGAGAGAG	(Liu et al., 2014)
humanG6PD Prom (For)	GGA AAC GGT CGT ACA CTT CG	(Gromak et al., 2013)
humanG6PD Prom (Rev)	CAA ACA GCG TGT ATT TTA CCG	(Gromak et al., 2013)

Table 3. siRNA sequences.

Name	sequence	Ref
siControl	(UAAUGUAUUGGAACGCAUA)TT	
siRIP140-1=#2	(AUACGAAUCUCCUGAUGU)TT	
siRIP140-4=#1	(GAAGCGUGCUAACGAUAAA)TT	
siHIF1mouse	(AAAGGACAAGUCACCACAGGA)TT	(Mi et al., 2008)
siHIF2mouse	(AAGUCACCAGAACUUGUGCAC)TT	(Mi et al., 2008)

References

- Amelio, I., and Melino, G. (2015). The p53 family and the hypoxia-inducible factors (HIFs): determinants of cancer progression. *Trends Biochem. Sci.* **40**, 425–434.
- Augereau, P., Badia, E., Balaguer, P., Carascossa, S., Castet, A., Jalaguier, S., and Cavaillès, V. (2006). Negative regulation of hormone signaling by RIP140. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **102**, 51–59.
- Aziz, M.H., Chen, X., Zhang, Q., DeFrain, C., Osland, J., Luo, Y., Shi, X., and Yuan, R. (2015). Suppressing NRIP1 inhibits growth of breast cancer cells in vitro and in vivo. *Oncotarget* **6**, 39714–39724.
- Benito, A., Polat, I.H., Noé, V., Ciudad, C.J., Marin, S., and Cascante, M. (2017). Glucose-6-phosphate dehydrogenase and transketolase modulate breast cancer cell metabolic reprogramming and correlate with poor patient outcome. *Oncotarget* **8**, 106693–106706.
- Blagosklonny, M.V., An, W.G., Romanova, L.Y., Trepel, J., Fojo, T., and Neckers, L. (1998). p53 inhibits hypoxia-inducible factor-stimulated transcription. *J. Biol. Chem.* **273**, 11995–11998.
- Carascossa, S., Gobinet, J., Georget, V., Lucas, A., Badia, E., Castet, A., White, R., Nicolas, J.-C., Cavaillès, V., and Jalaguier, S. (2006). Receptor-interacting protein 140 is a repressor of the androgen receptor activity. *Mol. Endocrinol.* **20**, 1506–1518.
- Castet, A., Herledan, A., Bonnet, S., Jalaguier, S., Vanacker, J.-M., and Cavaillès, V. (2006). Receptor-interacting protein 140 differentially regulates estrogen receptor-related receptor transactivation depending on target genes. *Mol. Endocrinol.* **20**, 1035–1047.
- Cavaillès, V., and Lapierre, M. (2014). Regulation of intestinal homeostasis and tumorigenesis by the transcriptional coregulator RIP140. *Mol Cell Oncol* **1**, e960761.
- Chen, Y., Hu, X., and Wei, L.-N. (2004). Molecular interaction of retinoic acid receptors with coregulators PCAF and RIP140. *Mol. Cell. Endocrinol.* **226**, 43–50.
- Chiaradonna, F., Sacco, E., Manzoni, R., Giorgio, M., Vanoni, M., and Alberghina, L. (2006). Ras-dependent carbon metabolism and transformation in mouse fibroblasts. *Oncogene* **25**, 5391–5404.
- Concin, N., Zeillinger, C., Tong, D., Stimpfl, M., König, M., Printz, D., Stonek, F., Schneeberger, C., Hefler, L., Kainz, C., et al. (2003). Comparison of p53 Mutational Status with mRNA and Protein Expression in a Panel of 24 Human Breast Carcinoma Cell Lines. *Breast Cancer Research and Treatment* **79**, 37–46.
- Docquier, A., Harmand, P.-O., Fritsch, S., Chanrion, M., Darbon, J.-M., and Cavaillès, V. (2010). The transcriptional coregulator RIP140 represses E2F1 activity and discriminates breast cancer subtypes. *Clin. Cancer Res.* **16**, 2959–2970.
- Fritah, A. (2009). Control of skeletal muscle metabolic properties by the nuclear receptor corepressor RIP140. *Appl Physiol Nutr Metab* **34**, 362–367.
- Gomes, A.S., Ramos, H., Soares, J., and Saraiva, L. (2018). p53 and glucose metabolism: an orchestra to be directed in cancer therapy. *Pharmacol. Res.* **131**, 75–86.
- Gromak, N., Dienstbier, M., Macias, S., Plass, M., Eyra, E., Cáceres, J.F., and Proudfoot, N.J. (2013). Drosha Regulates Gene Expression Independently of RNA Cleavage Function. *Cell Rep* **5**, 1499–1510.
- Ho, P.-C., and Wei, L.-N. (2012). Biological activities of receptor-interacting protein 140 in adipocytes and metabolic diseases. *Curr Diabetes Rev* **8**, 452–457.
- Ho, P.-C., Lin, Y.-W., Tsui, Y.-C., Gupta, P., and Wei, L.-N. (2009). A negative regulatory pathway of GLUT4 trafficking in adipocyte: new function of RIP140 in the cytoplasm via AS160. *Cell Metab.* **10**, 516–523.
- Hsu, P.P., and Sabatini, D.M. (2008). Cancer cell metabolism: Warburg and beyond. *Cell* **134**, 703–707.
- Humpton, T., and Vousden, K.H. (2019). Taking up the reins of power: metabolic functions of p53. **610–614**.

- Jalaguier, S., Teyssier, C., Nait Achour, T., Lucas, A., Bonnet, S., Rodriguez, C., Elarouci, N., Lapierre, M., and Cavaillès, V. (2017). Complex regulation of LCoR signaling in breast cancer cells. *Oncogene* 36, 4790–4801.
- Jiang, P., Du, W., Wang, X., Mancuso, A., Gao, X., Wu, M., and Yang, X. (2011). p53 regulates biosynthesis through direct inactivation of glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Nat. Cell Biol.* 13, 310–316.
- Jin, L., Alesi, G.N., and Kang, S. (2016). Glutaminolysis as a target for cancer therapy. *Oncogene* 35, 3619–3625.
- Kawauchi, K., Araki, K., Tobiume, K., and Tanaka, N. (2008). p53 regulates glucose metabolism through an IKK-NF-kappaB pathway and inhibits cell transformation. *Nat. Cell Biol.* 10, 611–618.
- Kondo, K., Klco, J., Nakamura, E., Lechpammer, M., and Kaelin, W.G. (2002). Inhibition of HIF is necessary for tumor suppression by the von Hippel-Lindau protein. *Cancer Cell* 1, 237–246.
- Kuang, R., Jahangiri, A., Mascharak, S., Nguyen, A., Chandra, A., Flanigan, P.M., Yagnik, G., Wagner, J.R., Lay, M.D., Carrera, D., et al. (2017). GLUT3 upregulation promotes metabolic reprogramming associated with antiangiogenic therapy resistance. *JCI Insight* 2.
- Lapierre, M., Bonnet, S., Bascoul-Mollevi, C., Ait-Arsa, I., Jalaguier, S., Del Rio, M., Plateroti, M., Roepman, P., Ychou, M., Pannequin, J., et al. (2014). RIP140 increases APC expression and controls intestinal homeostasis and tumorigenesis. *J. Clin. Invest.* 124, 1899–1913.
- Liu, X.-S., Haines, J.E., Mehanna, E.K., Genet, M.D., Ben-Sahra, I., Asara, J.M., Manning, B.D., and Yuan, Z.-M. (2014). ZBTB7A acts as a tumor suppressor through the transcriptional repression of glycolysis. *Genes Dev.* 28, 1917–1928.
- Majmundar, A.J., Wong, W.J., and Simon, M.C. (2010). Hypoxia-Inducible Factors and the Response to Hypoxic Stress. *Molecular Cell* 40, 294–309.
- Makarona, K., Caputo, V.S., Costa, J.R., Liu, B., O'Connor, D., Iskander, D., Roper, D., Robertson, L., Bhatnagar, N., Terpos, E., et al. (2014). Transcriptional and epigenetic basis for restoration of G6PD enzymatic activity in human G6PD-deficient cells. *Blood* 124, 134–141.
- Metallo, C.M., and Vander Heiden, M.G. (2013). Understanding Metabolic Regulation and Its Influence on Cell Physiology. *Molecular Cell* 49, 388–398.
- Mi, Z., Rapisarda, A., Taylor, L., Brooks, A., Creighton-Gutteridge, M., Melillo, G., and Varesio, L. (2008). Synergistic induction of HIF-1alpha transcriptional activity by hypoxia and lipopolysaccharide in macrophages. *Cell Cycle* 7, 232–241.
- Mimura, I., Nangaku, M., Kanki, Y., Tsutsumi, S., Inoue, T., Kohro, T., Yamamoto, S., Fujita, T., Shimamura, T., Suehiro, J., et al. (2012). Dynamic Change of Chromatin Conformation in Response to Hypoxia Enhances the Expression of GLUT3 (SLC2A3) by Cooperative Interaction of Hypoxia-Inducible Factor 1 and KDM3A. *Molecular and Cellular Biology* 32, 3018–3032.
- Nautiyal, J. (2017). Transcriptional coregulator RIP140: an essential regulator of physiology. *J. Mol. Endocrinol.* 58, R147–R158.
- Patra, K.C., and Hay, N. (2014). The pentose phosphate pathway and cancer. *Trends Biochem. Sci.* 39, 347–354.
- Powelka, A.M., Seth, A., Virbasius, J.V., Kiskinis, E., Nicoloso, S.M., Guilherme, A., Tang, X., Straubhaar, J., Cherniack, A.D., Parker, M.G., et al. (2006). Suppression of oxidative metabolism and mitochondrial biogenesis by the transcriptional corepressor RIP140 in mouse adipocytes. *J. Clin. Invest.* 116, 125–136.
- Razungles, J., Cavaillès, V., Jalaguier, S., and Teyssier, C. (2013). [The Warburg effect: from theory to therapeutic applications in cancer]. *Med Sci (Paris)* 29, 1026–1033.
- Rodier, G., Kirsh, O., Baraibar, M., Houlès, T., Lacroix, M., Delpech, H., Hatchi, E., Arnould, S., Severac, D., Dubois, E., et al. (2015). The transcription factor E4F1 coordinates CHK1-dependent checkpoint and mitochondrial functions. *Cell Rep* 11, 220–233.
- Rosell, M., Nevedomskaya, E., Stelloo, S., Nautiyal, J., Poliandri, A., Steel, J.H., Wessels, L.F.A., Carroll, J.S., Parker, M.G., and Zwart, W. (2014). Complex formation and function of estrogen receptor α in transcription requires RIP140. *Cancer Res.* 74, 5469–5479.

- Sánchez-Puig, N., Veprintsev, D.B., and Fersht, A.R. (2005). Binding of Natively Unfolded HIF-1 α ODD Domain to p53. *Molecular Cell* 17, 11–21.
- Sborov, D.W., Haverkos, B.M., and Harris, P.J. (2015). Investigational cancer drugs targeting cell metabolism in clinical development. *Expert Opin Investig Drugs* 24, 79–94.
- Schmid, T., Zhou, J., Köhl, R., and Brüne, B. (2004). p300 relieves p53-evoked transcriptional repression of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Biochem. J.* 380, 289–295.
- Schwartzberg-Bar-Yoseph, F., Armoni, M., and Karnieli, E. (2004). The Tumor Suppressor p53 Down-Regulates Glucose Transporters GLUT1 and GLUT4 Gene Expression. *Cancer Res* 64, 2627–2633.
- Sermeus, A., and Michiels, C. (2011). Reciprocal influence of the p53 and the hypoxic pathways. *Cell Death Dis* 2, e164.
- Todaro, G.J., and Green, H. (1963). Quantitative studies of the growth of mouse embryo cells in culture and their development into established lines. *J. Cell Biol.* 17, 299–313.
- Vander Heiden, M.G., Cantley, L.C., and Thompson, C.B. (2009). Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* 324, 1029–1033.
- White, R., Leonardsson, G., Rosewell, I., Ann Jacobs, M., Milligan, S., and Parker, M. (2000). The nuclear receptor co-repressor nr1p (RIP140) is essential for female fertility. *Nat. Med.* 6, 1368–1374.
- Xu, J., Reumers, J., Couceiro, J.R., De Smet, F., Gallardo, R., Rudyak, S., Cornelis, A., Rozenski, J., Zwolinska, A., Marine, J.-C., et al. (2011). Gain of function of mutant p53 by coaggregation with multiple tumor suppressors. *Nature Chemical Biology* 7, 285–295.
- Yu, X.-H., Xue, X., Zhu, X., and Li, X. (2018). Downregulation of RIP140 in triple-negative breast cancer inhibits the growth and proliferation of cancer cells. *Oncol Lett* 15, 8784–8788.
- Zilliacus, J., Holter, E., Wakui, H., Tazawa, H., Treuter, E., and Gustafsson, J.A. (2001). Regulation of glucocorticoid receptor activity by 14--3-3-dependent intracellular relocalization of the corepressor RIP140. *Mol. Endocrinol.* 15, 501–511.
- Zong, W.-X., Rabinowitz, J.D., and White, E. (2016). Mitochondria and Cancer. *Molecular Cell* 61, 667–676.
- Zschiedrich, I., Hardeland, U., Krones-Herzig, A., Berriel Diaz, M., Vegiopoulos, A., Müggenburg, J., Sombroek, D., Hofmann, T.G., Zawatzky, R., Yu, X., et al. (2008). Coactivator function of RIP140 for NFkappaB/RelA-dependent cytokine gene expression. *Blood* 112, 264–276.

Figure Legends.

Fig. 1. RIP140-deficiency enhances cell proliferation and tumorigenesis.

a, b, Cell proliferation of breast cancer cells MCF7 (**a**) and (MDA-MB-436) (**b**) monitored by xCELLigence after silencing RIP140 by siRNA (representative experiment, n=2 independent experiments).

c, Cell proliferation of RIP140 WT and KO-immortalized MEFs (MEF #1) measured by MTT assay (n=4 independent experiments).

d, Western blot showing expression of Cyclin A, Phospho Serine 10-Histone 3 and Actin in MEF #1. Unprocessed original scans of blots are shown in Supplementary Figure 7.

e, SV40/H-RasV12-transformed MEF (MEF #2) WT and RIPKO cells were injected subcutaneously into the flanks of immuno-deficient mice (n=7) to assess their tumorigenic potential (left panel). The weight of the tumors were assessed six weeks after grafting (n=6 mice)(right panel).

f, Cell proliferation monitored by xCELLigence of MEF #1 WT stably overexpressing a pEGFP plasmid (WT+GFP) and (RIPKO+GFP) or a pEGFP-hRIP140 plasmid (RIPKO+hRIP140) (n=2 independent experiments).

g, Number of colonies of H-RasV12-transformed MEF #1 stably overexpressing pEGFP or pEGFP-hRIP140 obtained in a colony formation soft agar assay (representative experiment, n=4 independent experiments).

Fig. 2. Inhibiting glycolysis reduces the growth advantage of RIP140-deficient cells.

Unless otherwise stated, MEF #1 were used.

a, Cells were grown in medium without glucose. Cell proliferation analyzed by MTT assay was expressed relative to that of cells grown in Glucose 4.5g/L at day ten (representative experiment, n=3 independent experiments).

b, Microscopic morphological analysis of representative transformed MEF #3.

c, Cell proliferation analyzed by MTT assay upon 2-deoxyglucose treatment (2DG; 5mM) (n=3 independent experiments).

d, Cell number as percent of control following eight days of 2DG treatment (5mM) (n=3 independent experiments).

e, Cellular ATP content in MEF #1 after 3 days of 2DG treatment (5mM) expressed as percent of control (n=3 independent experiments).

f, Tumor volume of transformed MEF #1 xenografted in nude mice (n=6) after eighteen days of 2DG (20mg/g) administrated intra-peritoneally every other day.

g, Cell viability assessed by crystal violet staining of MDA-MB-436 after RIP140 silencing by siRNA at day seven and represented as percent of control after 2DG (5mM) and BrP (100μM) treatments (n=3 independent experiments).

Fig. 3. RIP140-deficiency enhances glycolysis in breast cancer cells.

Unless otherwise stated MEF #1 were used.

a, Percentage change in extracellular acidification rate (ECAR) was monitored in real-time with a Seahorse Bioscience Flux Analyzer. Cells were treated sequentially with glucose (10 mM), oligomycin (1μM) and 2-DG (100 mM). Values were normalized by protein quantity (representative experiment, n=5 independent experiments).

b, XF Glycolysis Stress Test Parameters represented as percent of basal WT ECAR from data obtained in Fig. 3a.

c, [³H] 2-Deoxy-D-glucose uptake in MEF #1, #2 and #3, relative to the WT group and normalized by protein quantity (representative experiment, n=2 independent experiments).

d, Glycolysis represented by Δ ECAR calculated as the difference of ECAR between basal and after-glucose injection in MEF #1 overexpressing or not hRIP140 (representative experiments, n=3 independent experiments).

e, Glycolysis represented by Δ ECAR calculated as the difference of ECAR between basal and after-glucose injection after RIP140 silencing by siRNA (siRIP#2) in breast cancer cell lines MCF7 and MDA-MB-436 (representative experiments, n=3 independent experiments).

Fig. 4. GLUT3 and G6PD are essential for the growth advantage induced by RIP140-deficiency.

a, mRNA levels of *RIP140*, *GLUT3* and *G6PD* quantified by RT-qPCR in MDA-MB-436 after RIP140 silencing by siRNA (n=3 independent experiments).

b, Protein expression level of GLUT3, G6PD and Actin quantified by western blot in MEF #1. Unprocessed original scans of blots are shown in Supplementary Figure 7.

c, mRNA levels of *GLUT3* and *G6PD* quantified by RT-qPCR in MEF #1 overexpressing hRIP140 (n=3 independent experiments).

d, Relative G6PD activity quantified in MEF #1 with a G6PD assay kit (Sigma) (n=2 independent experiments).

e, MTT assay at day four in MEF #3 upon 6-aminonicotinamide treatment (6AN) (representative experiment, n=3 independent experiments).

f, Numbers of colonies obtained in colony formation soft agar assay of MEF #3 after three weeks of 6-aminonicotinamide (6AN) (10 μ M) treatment and represented as percent of control (n=3 independent experiments).

g, Number of colonies formed by transformed MEF #1 stably expressing shGLUT3 or shG6PD and expressed as percent of WT shControl (shC) (n=2 independent experiments).

h, Cell proliferation measured by MTT assay of MDA-MB-436 breast cancer cells after RIP140 siRNA silencing combined with siRNA GLUT3 or G6PD silencing (representative experiment, n=3 independent experiments). The proliferation of siRIP140 cells (siRIP) was expressed as relative to that of siControl cells (siC) for each conditions.

i, Expression in the opposite directions between RIP140 and GLUT3 (left panel) (4580 breast cancer samples) and patient survival using the BreastMark algorithm to perform on-line Kaplan–Meier analyses of several data sets (median cut-off). Expression in the opposite directions between RIP140 and G6PD (right panel) (4406 breast cancer samples) and patient survival using the BreastMark algorithm. The *P*-values are indicated. The blue line corresponds

to highRIP140/lowGLUT3 or highRIP140/lowG6PD. The red line corresponds to the opposite ratios.

Fig. 5. RIP140 and p53 interact to inhibit the expression of GLUT3.

a, Transient transfection in MDA-MB-436 cells co-transfected with the gene reporter GLUT3-Luc expressing the firefly luciferase in presence of increasing concentrations of a siRNA specific of RIP140 (siRIP#2). Relative luciferase units (RLU) values as readout (n=3 independent experiments).

b, Transient transfection in MEF #1 co-transfected with a GLUT3-Luc reporter gene in the presence of increasing concentrations of a RIP140-expressing plasmid (representative experiment, n=5 independent experiments).

c, Chromatin immunoprecipitation with anti-RIP140 or IgG in MDA-MB-436. Bound DNA was amplified by qPCR with GLUT3 promoter-specific primers as indicated (n=3 independent experiments).

d, Transient transfection in MEF #1 RIPKO co-transfected with a GLUT3-Luc reporter gene in the presence of a RIP140-expressing plasmid (50ng) and increasing concentrations of a p53-expressing plasmid (representative experiment, n=3 independent experiments).

e, Transient transfection in MEF #1 RIPWT co-transfected with a GLUT3-Luc reporter gene in the presence (or not) of both RIP140-expressing (100ng) and p53-expressing plasmids (50ng) (representative experiment, n=3 independent experiments).

f, Proximity ligation assay in MEF WT or p53 null cells between RIP140 and p53 using rabbit anti-RIP140 and mouse anti-p53 to detect endogenous proteins. Right panel: Dots were quantified with the Duolink Software from 5 independent microscopic fields.

g, GST pull-down assays using bacterially expressed GST and GST-RIP140 fragments and ³⁵S-labeled p53. Schematic representation of full-length RIP140 structure and p53 binding sites are indicated (site 1 and site 2). RD: Repression domain.

h, p53 protein levels in MEF #1 quantified by western blot (left panel) and mRNA level quantified by RT-qPCR (right panel: n= 4 independent experiments).

Fig. 6. RIP140 and p53 inhibit the expression of GLUT3 induced by HIF-2 α .

a, Transient transfection in MEF #1 transfected with a Hypoxia Response Element reporter gene (HRE-Luc). DFO (0.1mM) was applied 24 h after transfection for 24 hours before performing luciferase assays (representative experiment, n=3 independent experiments).

b, Transient transfection in MEF #1 WT co-transfected with a HRE-Luc in presence of a HIF-1 α -expressing plasmid and increasing concentrations of a RIP140-expressing plasmid in the presence of a p53-expressing plasmid (left panel, representative experiment, n=3 independent experiments). Transient transfection in MCF7 co-transfected with a HRE-Luc in presence of a HIF-2 α -expressing plasmid and increasing concentrations of a RIP140-expressing plasmid in the presence of a p53-expressing plasmid (right panel, representative experiment, n=3 independent experiments).

c, *GLUT3* mRNA level quantified by RT-qPCR in MEF #1 after treatment with 0.1mM DFO for four hours. Samples were collected 48 h after DFO treatment (representative experiment, n=4 independent experiments).

d, *GLUT3* mRNA level quantified by RT-qPCR in MEF #1 transfected with plasmids expressing human HIF-1 α or human HIF-2 α for 48 h (representative experiment, n=3 independent experiments).

e, *GLUT3* mRNA level quantified by RT-qPCR in MEF #1 48h after HIF-2 α siRNA silencing (n=3 independent experiments).

f, Cell proliferation monitored by xCELLigence of MEF #1 RIPKO after HIF-2 α siRNA silencing (n=2 independent experiments).

g, Transient transfection in MEF #1 RIPKO co-transfected with a GLUT3-Luc reporter gene and increasing concentrations of a HIF-2 α -expressing plasmid in the presence of a RIP140-expressing plasmid combined or not with a p53-expressing plasmid (representative experiment, n=3 independent experiments).

h, Transient transfection in MEF #1 RIPKO co-transfected with a HRE-Luc (left panel) or a GLUT3-Luc (right panel) and plasmids expressing either p53 WT or p53 R273H mutant in combination with a HIF-2 α -expressing plasmid (representative experiment, n=3 independent experiments).

i, Proximity ligation assay in MEF #1WT between endogenous RIP140 and HIF-2 α with rabbit anti-RIP140 and mouse anti-HIF-2 α and between endogenous p53 and HIF-2 α with rabbit anti-HIF-2 α and mouse anti-p53.

Fig. 7. Model: RIP140 inhibits tumorigenesis by impacting the pentose phosphate pathway and glycolysis through the blockade of G6PD and GLUT3 expression. RIP140 and p53 together inhibit the expression of the GLUT3 promoter induced by HIF-2 α . Green arrows indicate a stimulating effect. Red lines indicate an inhibitory effect. Blue lines represent the cell membrane. Burgundy arrows represent the enzymatic reactions of glycolysis and the pentose

phosphate pathway. Ovoid forms represent proteins. Green rectangle represent GLUT3 gene and green squares represent GLUT3 protein at the cell membrane. PPP stands for pentose phosphate pathway.

Supplementary Figure Legends

Supplementary Fig. 1. RIP140-deficiency enhances cell proliferation and tumorigenesis.

a, RIP140 mRNA level quantified by RT-qPCR after silencing by two different siRNA specific of human RIP140 (n=4 independent experiments).

b, The slope of the curves was extracted using xCELLigence RTCA Software from the curves in Fig. 1a and 1b. The slopes of the curves were higher with siRIP140 than with control siRNA.

c, MTT assay in MCF7 cells after RIP140 silencing by siRNA #2 (siRIP#2) (n=3 independent experiments).

d, Cell proliferation monitored by xCELLigence in MDA-MB-436 after RIP140 silencing by siRNA #2 (siRIP#2) (n=4 independent experiments).

e, The slope of the curves was extracted using xCELLigence RTCA Software from Supplementary 1d for MDA-MB-436 and from cell proliferation monitored by xCELLigence in DU145 and RKO after RIP140 silencing by siRNA #2 (siRIP#2) for 7 days.

f, RIP140 expression levels quantified by RT-qPCR (left panel; representative experiment; n=) and immunofluorescence (right panel) in the MEFs used in the study. MEF#1 were immortalized by the 3T3 protocol. MEF#2, #3 and #4 were transformed by the infection of SV40/H-RasV12 expressing retrovirus.

- g**, Cell proliferation monitored by xCELLigence in MEF #1 (n=3 independent experiments).
- h**, ATP level in MEF #1 relative to WT (n=3 independent experiments).
- i**, MTT assay in SV40/H-RasV12-transformed RIP140 WT and KO MEF #3 (representative experiment, n=3 independent experiments).
- j**, Number of colonies from soft agar colony assay of MEF #2 (left panel, Student-t-test) and SV40/H-RasV12-transformed MEF #3 (right panel; n=3 independent experiments).
- k**, Tumor growth curve of H-RasV12-MEF #1 xenografted in nude mice (n=6).
- l**, Pictures of xenografted nude mice with MEF #2 from Fig. 1e.
- m**, Human RIP140 mRNA level quantified by RT-qPCR in MEF #1 stably overexpressing a pEGFP plasmid (WT+GFP) and (KO+GFP) or a pEGFP-hRIP140 plasmid (KO+hRIP140). Primers used are specific for the human RIP140 sequence (representative experiment, n=4 independent experiments).
- n**, Relative MTT assay at day 6 of MEF #1 overexpressing GFP or GFP-hRIP140 (n=3 independent experiments).
- o**, Representative pictures of colony soft agar assays of MEF #1 quantified in 1h.

Supplementary Fig. 2. Inhibiting glycolysis reduces the growth advantage of RIP140-deficient cells.

Unless otherwise stated, MEF #1 were used.

a, Representative pictures of MEF #1 under glucose starvation.

b, MTT assay at day 10 represented in Fig. 2a. RIPKO cell proliferation was expressed as relative to that of WT cells for each glucose concentration.

c, MTT assay of MEF #3 following glucose deprivation for 4 days and represented as percent of Glucose 4.5g/L for each cell line (n=3 independent experiments).

d, Cell proliferation monitored by xCELLigence upon 2DG treatment (2mM) (left panel). The slope of the curves was extracted using xCELLigence RTCA software (right panel) (representative experiment, n=2 independent experiments).

e, MTT assay of MEF #3 upon BrP treatment (100 μ M) (representative experiment, n=3 independent experiments).

f, Relative cell index is represented as percent of control after four days of 2DG treatment (5mM)(representative experiments, n=2; Student-t-test).

g, Crystal violet staining of MEF #3 after 3 weeks of 2-DG (5mM) treatment and number of colonies expressed as % of WT Control (n=3 independent experiments). This demonstrates that

RIPKO colonies were more numerous than WT colonies and that 2DG treatment abolished the growth of RIPKO colonies.

Supplementary Fig. 3. RIP140-deficiency enhances glycolysis.

a, Glycolysis represented as relative ECAR normalized to protein quantity in MEF #3 (representative experiment, n=3 independent experiments).

b, Glucose consumption (left panel) and lactate production (right panel) were measured by enzymatic determination (Sigma kit) 18h after changing medium. Values were normalized to cell number and time.

c, Extracellular acidification rate (ECAR) normalized by protein content in MDA-MB-436 after siRNA silencing of RIP140 (siRIP#2) for 48h (representative experiment, n=3 independent experiments).

d, Glycolysis represented as relative ECAR measured by Seahorse Bioscience Flux Analyzer and normalized to protein quantity in colon (RKO) and prostate cancer cell lines (DU145, PC3) after RIP140 silencing by siRNA (siRIP#2)(representative experiment, n=2 independent experiments).

Supplementary Fig. 4. GLUT3 and G6PD are essential for the growth advantage induced by RIP140-deficiency.

a, Heatmap of glycolytic genes showing differential expression in MEF #1 obtained from RT-qPCR of two independent samples. Data are expressed as relative to WT (# means at least 2-fold induction).

b, *GLUT3* and *G6PD* mRNA levels quantified by RT-qPCR in MEF #3 (n=3 independent experiments).

c, mRNA level of *RIP140*, *GLUT3* and *G6PD* quantified by RT-qPCR in MDA-MB-436 (left panel) and MCF7 (right panel) after RIP140 silencing (n=3 independent experiments).

d, Quantification with Image J software of western blot analyses shown in Fig. 4b.

e, Relative NADPH/NADP⁺ ratio quantified in MEF #1 using NADP/NADPH-Glo™ Assay (Promega) (representative experiment, n=3 independent experiments).

f, MTT assay of MEF #3 upon 6AN treatment (10μM) (representative experiment, n=3 independent experiments).

g, Crystal violet staining of soft agar colonies of MEF #3 after 3 weeks of 6AN (10μM) treatment quantified in Fig. 4f (representative experiment, n=3 independent experiments).

h, Cell viability assessed by crystal violet staining of MDA-MB-436 after RIP140 silencing by siRNA at day 7 and represented as percent of control after 6AN (10 μ M) treatment (n=2 independent experiments).

i, j, Knockdown efficiency by specific shRNA of GLUT3 (**i**) or G6PD (**j**) was determined by western blot (left and middle panels) and RT-qPCR (right panel: n=3 independent experiments).

k, siRNA efficiency was verified by RT-qPCR for *RIP140*, *GLUT3* and *G6PD* 48h after transfection in MDA-MD-436 used in Fig. 4h.

l, Crystal violet staining of soft agar colonies of transformed MEF #1 stably expressing shGLUT3 or shG6PD; quantification of Fig. 4g.

m, Cell proliferation measured by MTT assay of MEF #1 stably expressing shGLUT3 or shG6PD (representative experiment, Student-t-Test).

Supplementary Fig. 5. RIP140 and p53 interact to inhibit the expression of GLUT3.

a, Transient transfection in MDA-MB-436 co-transfected with a G6PD-Luc reporter gene in presence of increasing concentrations of a siRNA specific of RIP140 (siRIP#2) (n=3 independent experiments).

b, Transient transfection in MEF #4 co-transfected with GLUT3-Luc or G6PD-Luc reporter genes (n=3 independent experiments).

c, Transient transfection in MEF #1 co-transfected with a G6PD-Luc reporter gene in presence of increasing concentrations of a RIP140-expressing plasmid (representative experiment, n=5 independent experiments).

d, p53 protein level quantified by western blot in MEF #2 (left panel) and mRNA level quantified by RT-qPCR in MEF #2 and #3 (right panel: n=5 independent experiments for MEF #3).

e, p53 mRNA level quantified by RT-qPCR in MEF #1 overexpressing GFP or GFP-hRIP140.

f, p53 mRNA level quantified by RT-qPCR in MCF7 after RIP140 silencing (siRIP#2)(n=3 independent experiments).

Supplementary Fig. 6. RIP140 and p53 inhibit the expression of GLUT3 induced by HIF-2 α .

a, Transient transfection in MEF #1 RIPKO co-transfected with a HRE-Luc and increasing concentrations of plasmids expressing HIF-1 α or HIF-2 α in the presence of a RIP140-expressing plasmid (representative experiment, n=3 independent experiments).

b, Human HIF mRNA level quantified by RT-qPCR in MEF#1 after transient transfection of the corresponding plasmids (representative experiment, n=3 independent experiments).

c, Transient transfection in MEF #1 co-transfected with a GLUT3-Luc reporter gene and increasing concentrations of plasmids expressing HIF-1 α or HIF-2 α (representative experiment, n=3 independent experiments).

d, HIF protein level quantified by western blot in MEF #1 in normoxia. Unprocessed original scans of blots are shown in Supplementary Figure 7.

e, HIF mRNA level quantified by RT-qPCR in MEF #1 and MEF #4 (n=3 independent experiments).

f, HIF-2 α mRNA level quantified by RT-qPCR in MEF #1 after siRNA silencing (n=3 independent experiments).

g, Proximity ligation assay in MEF p53 null between RIP140 and HIF-2 α using rabbit anti-RIP140 and mouse anti-HIF-2 α and between p53 and HIF-2 α using rabbit anti-HIF-2 α and mouse anti-p53. Right panel: Dots were quantified with the Duolink Software from 5 independent microscopic fields.

Supplementary Fig. 7. Unprocessed original scans of blots.

Unprocessed images of all Western blots as indicated. Molecular size markers in kDa.

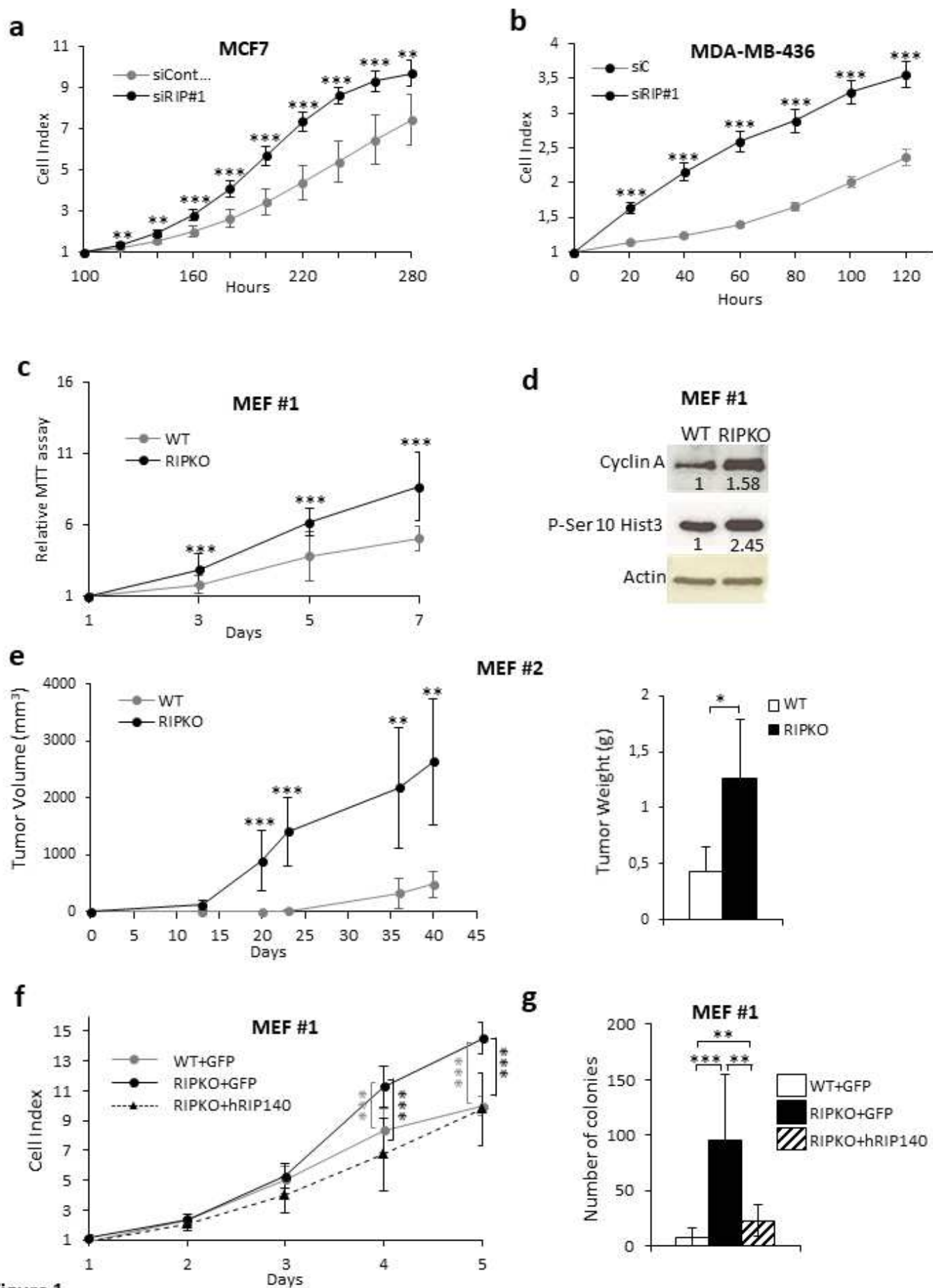
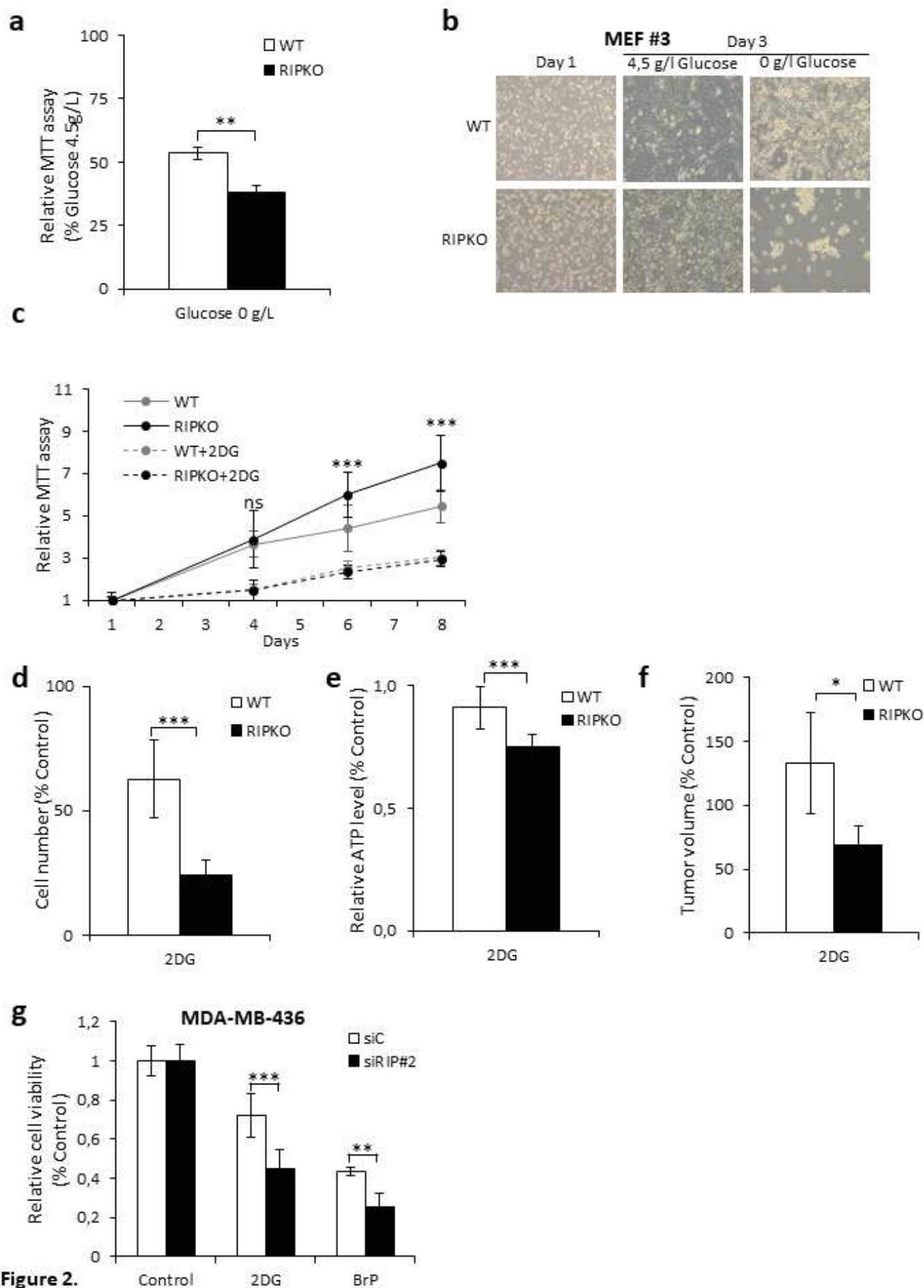


Figure 1.



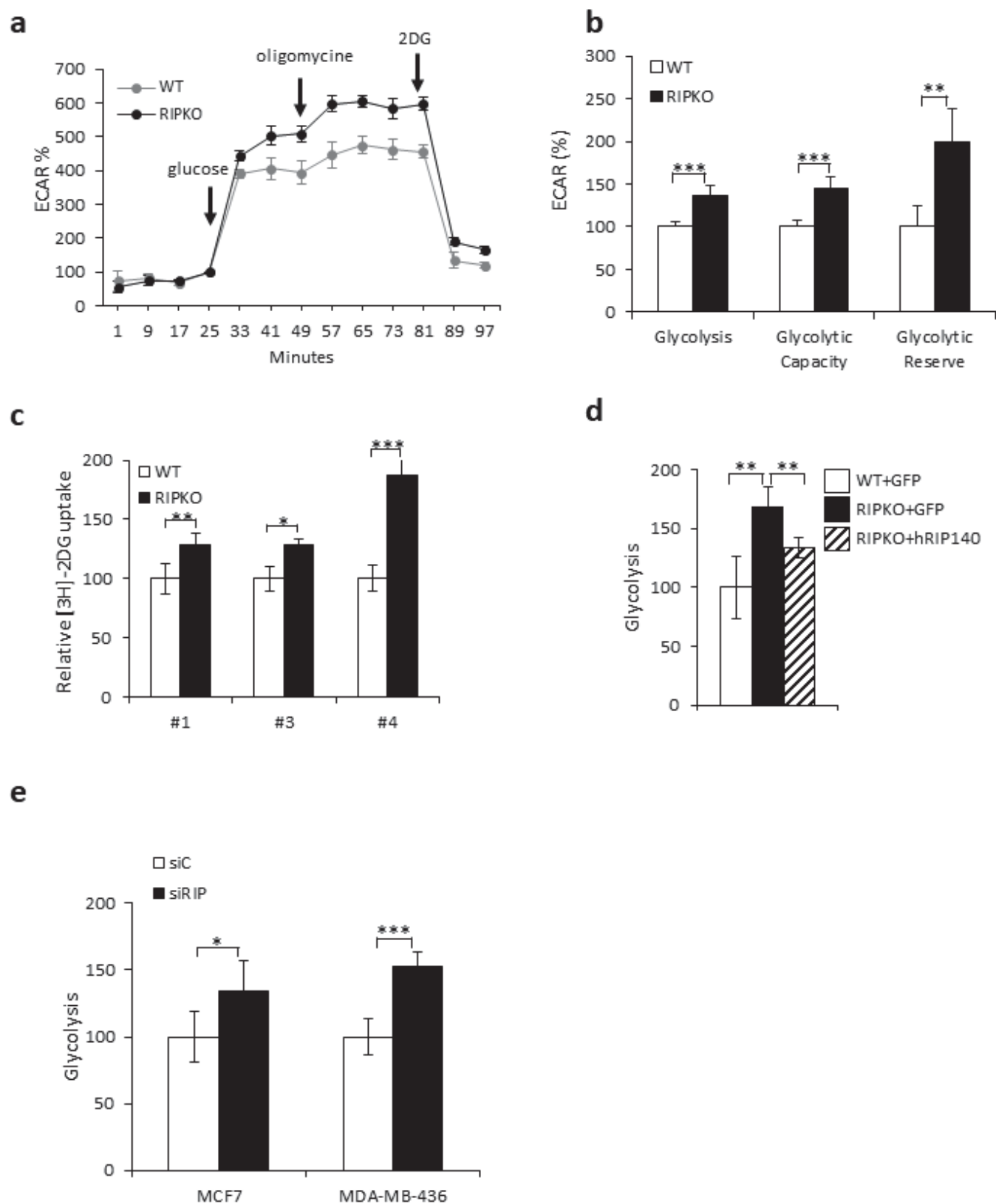


Figure 3.

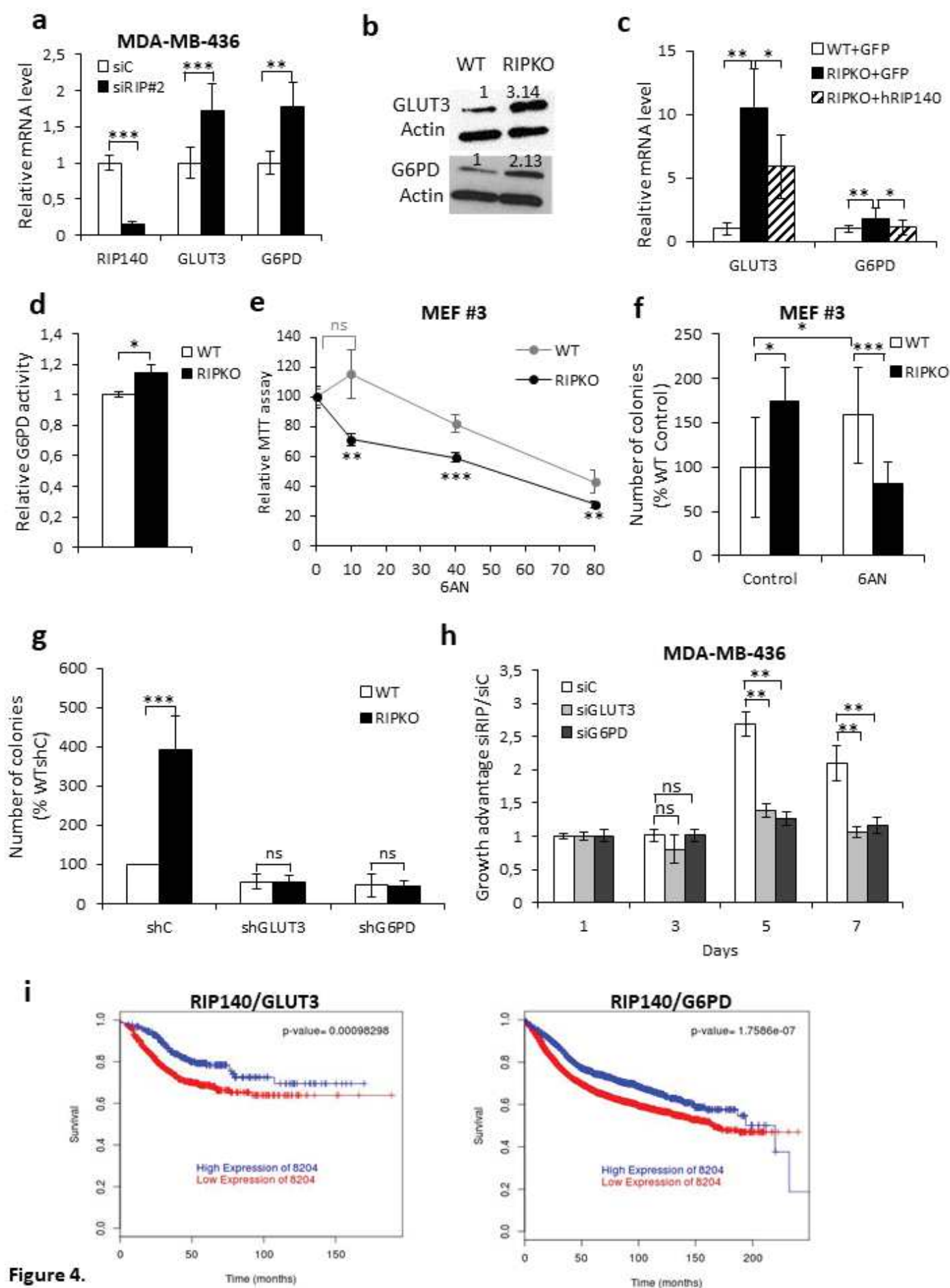


Figure 4.

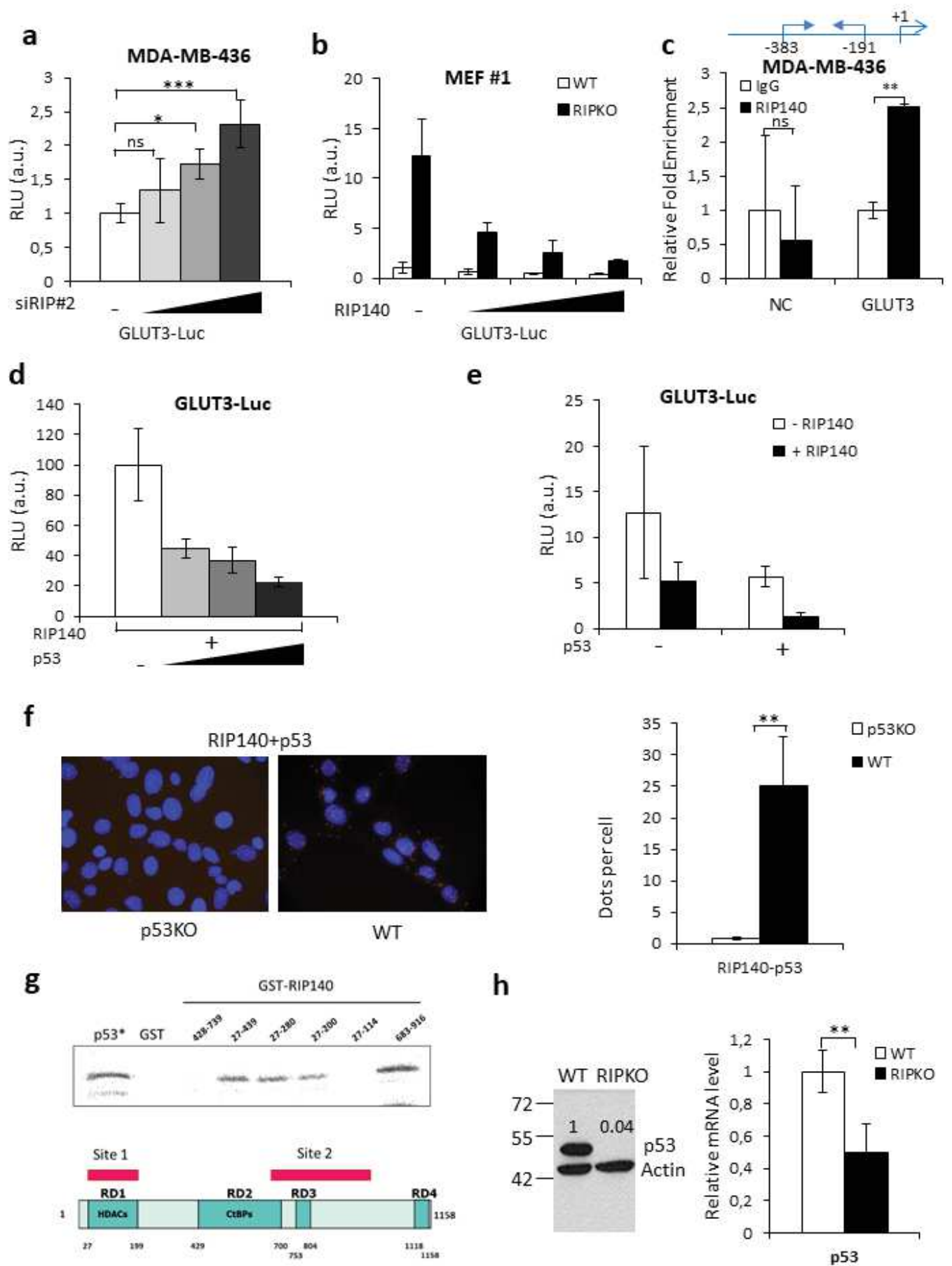


Figure 5

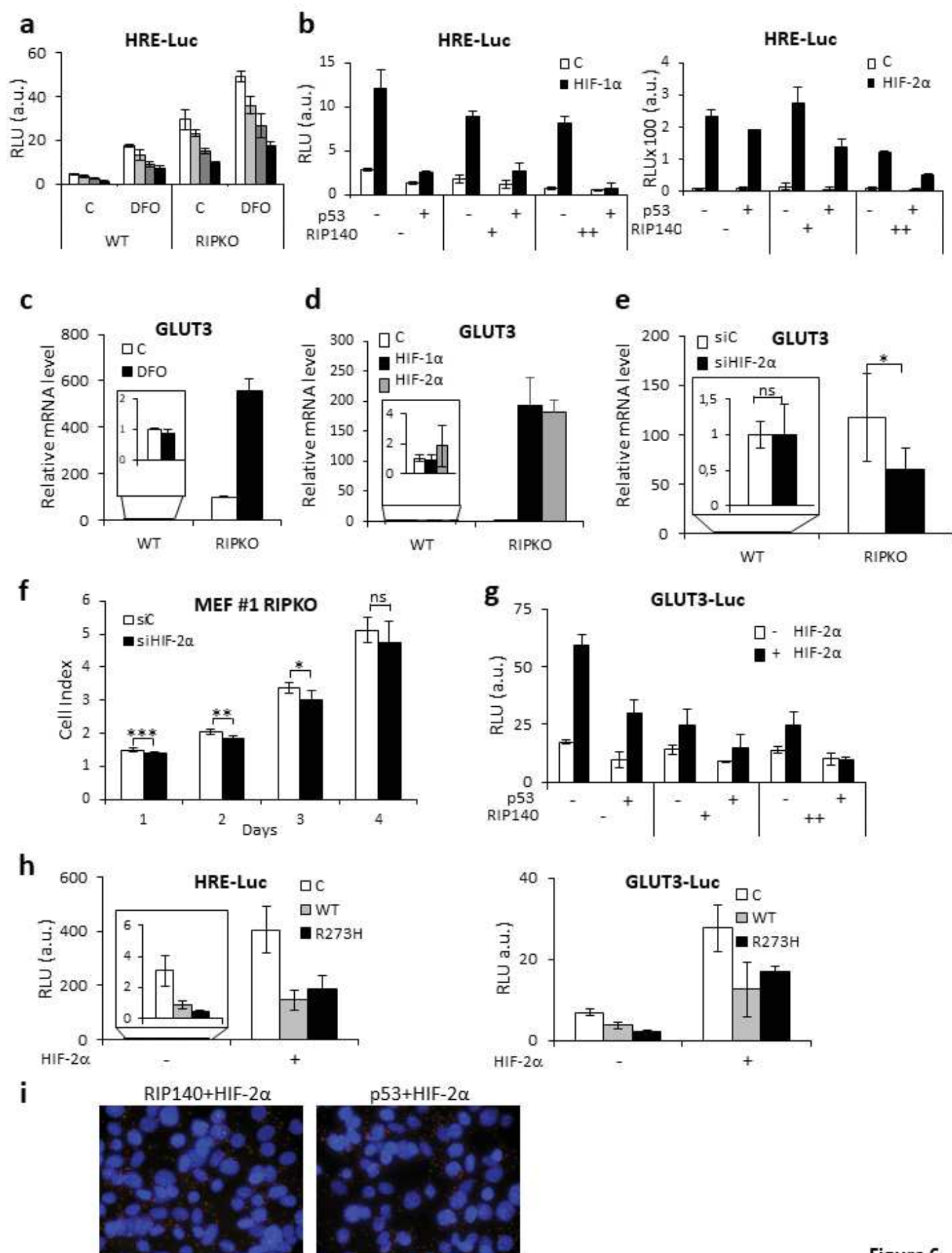


Figure 6.

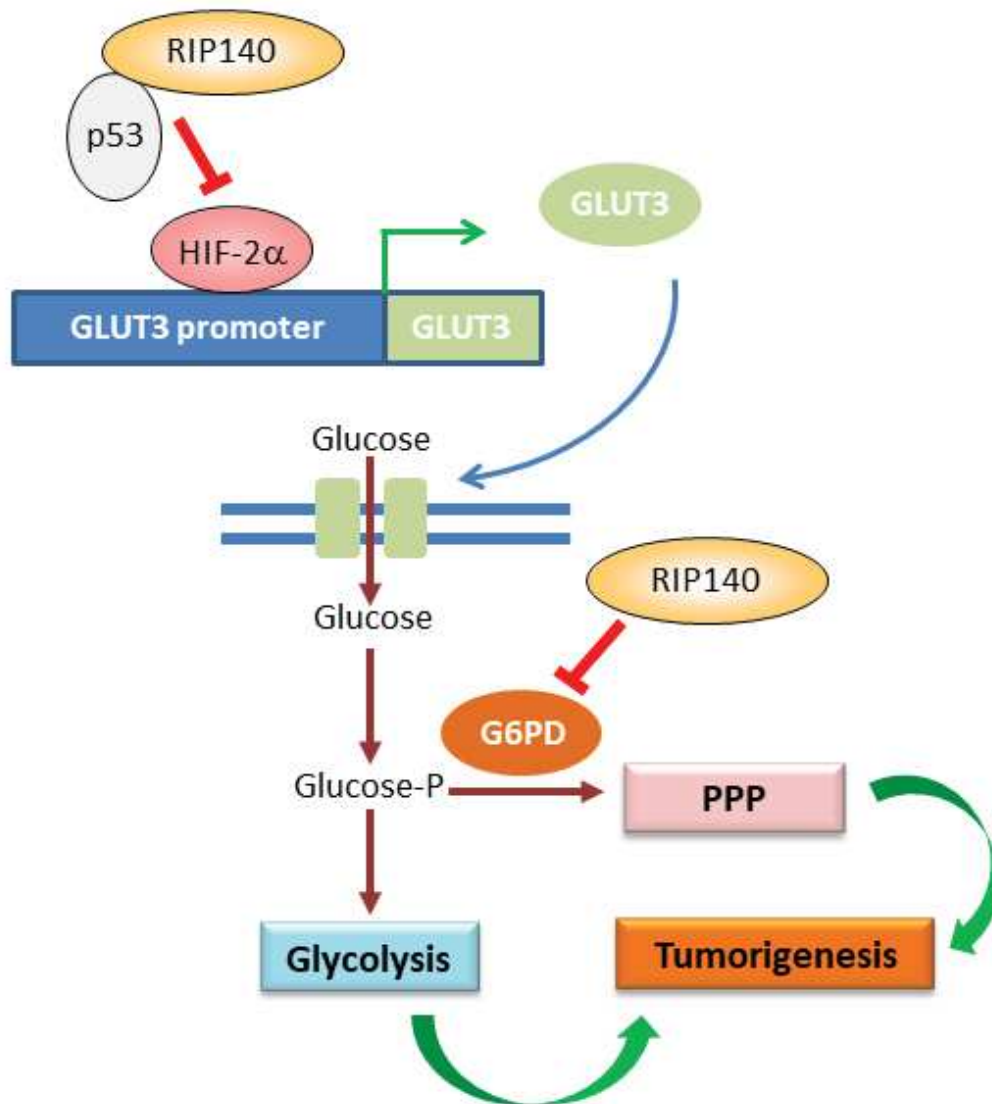
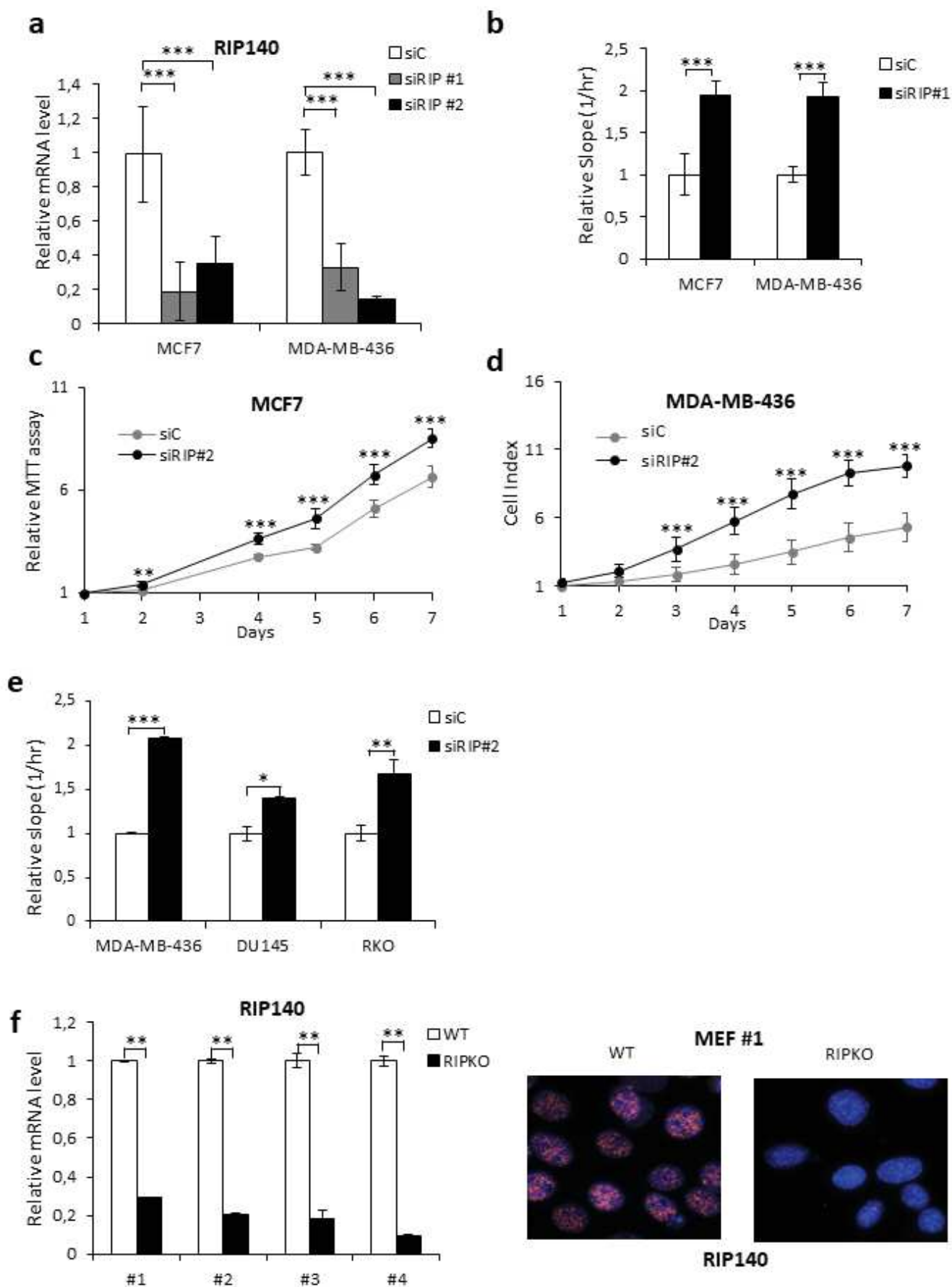
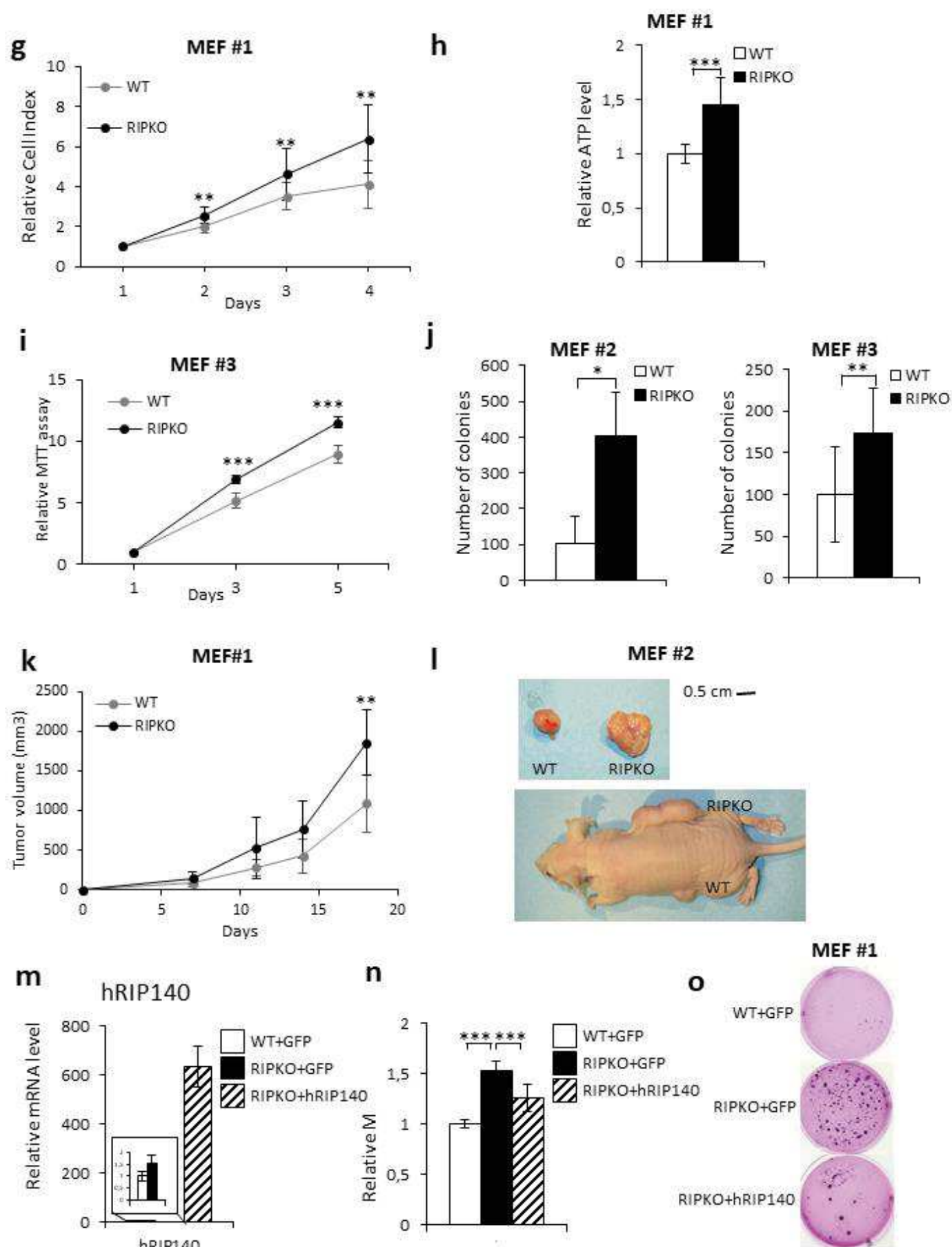


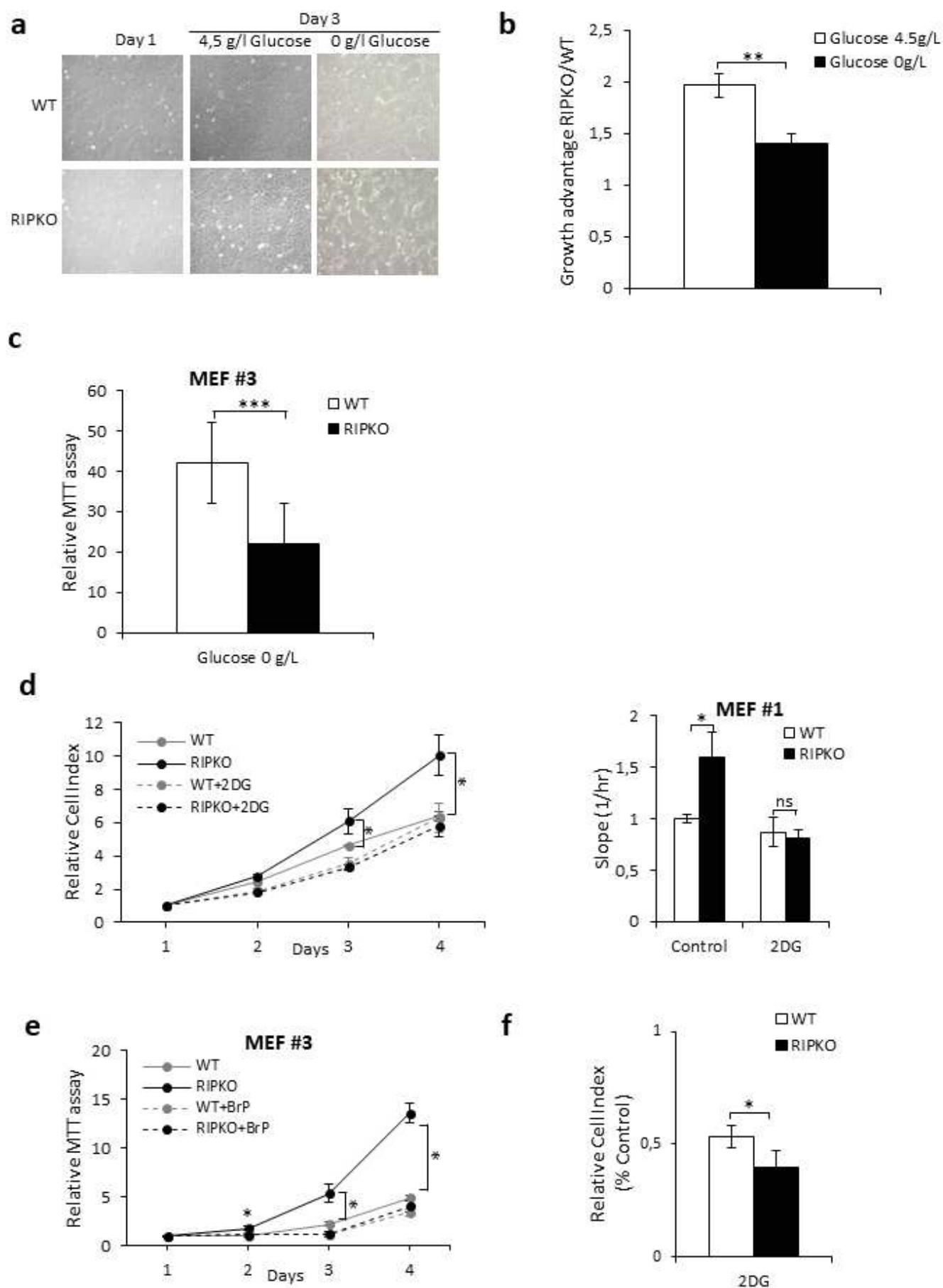
Figure 7.



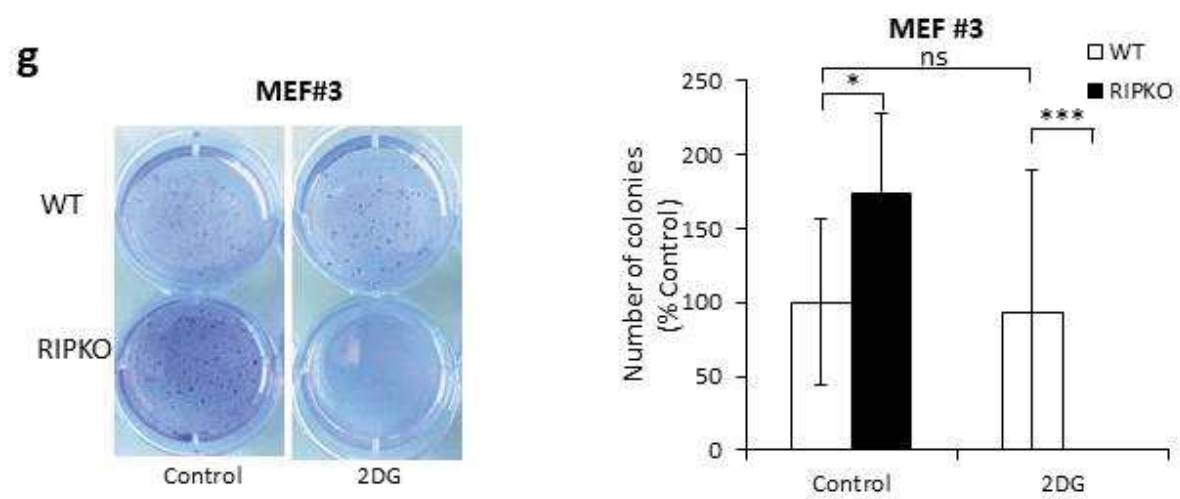
Supplementary Figure 1.



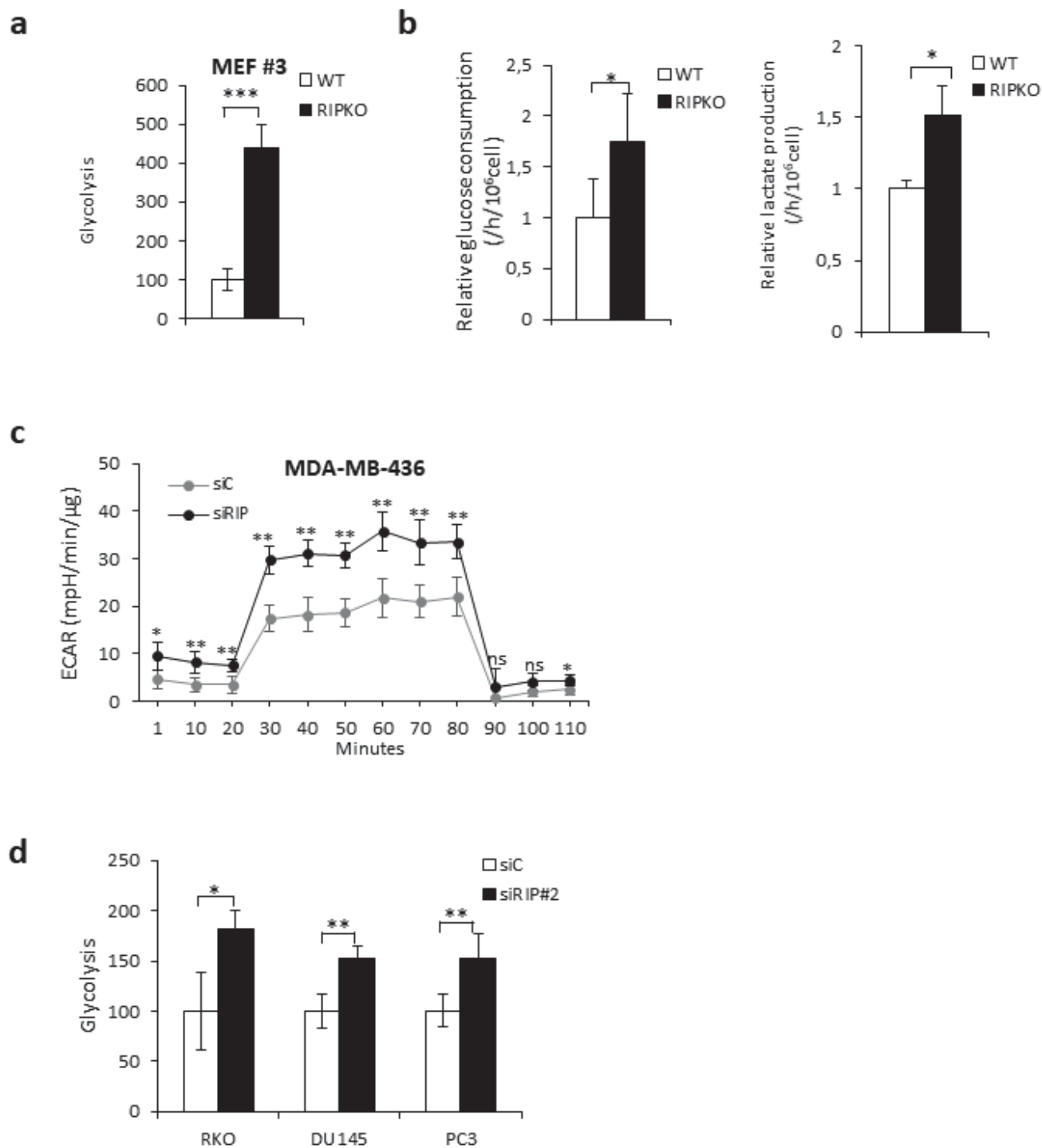
Supplementary Figure 1



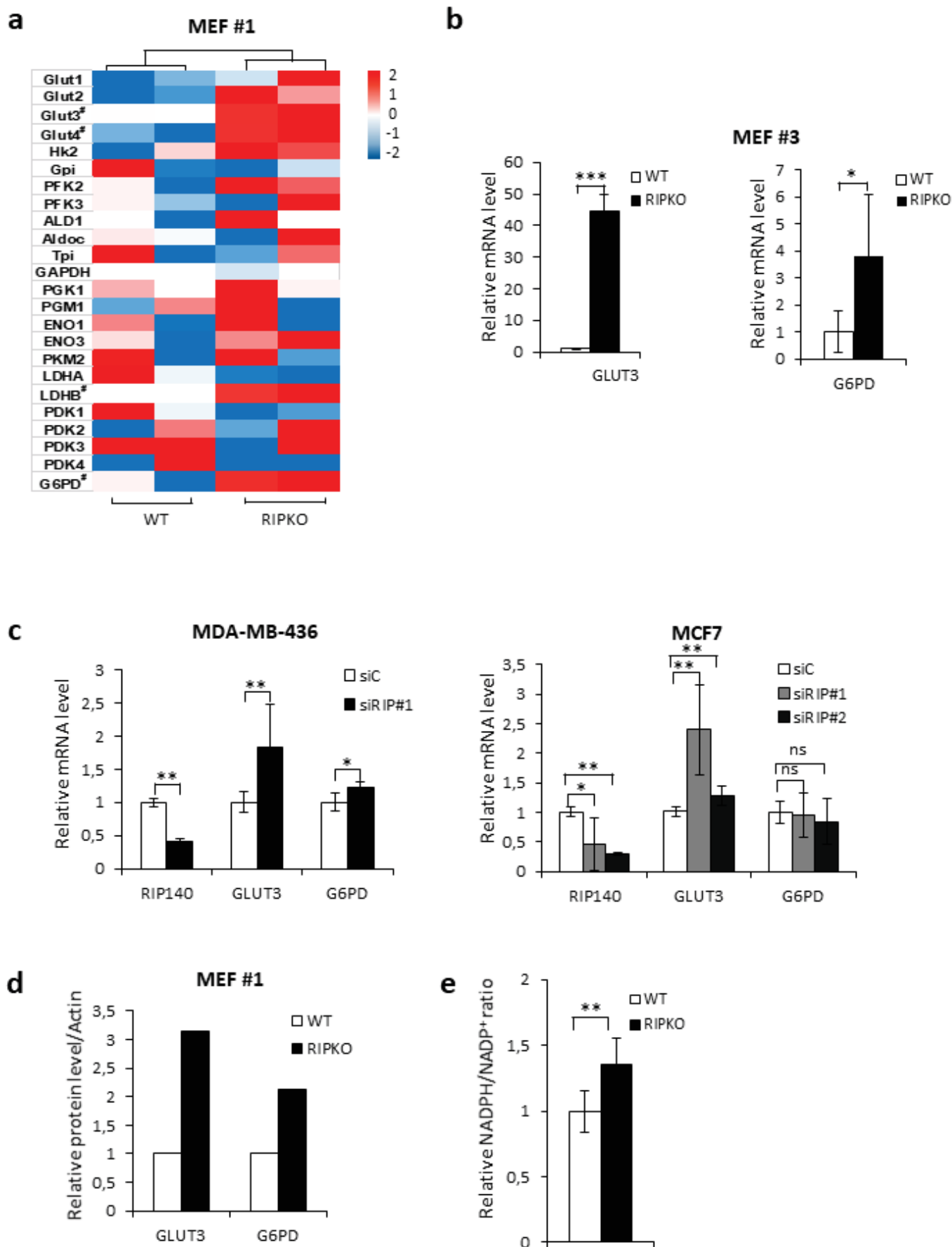
Supplementary Figure 2.



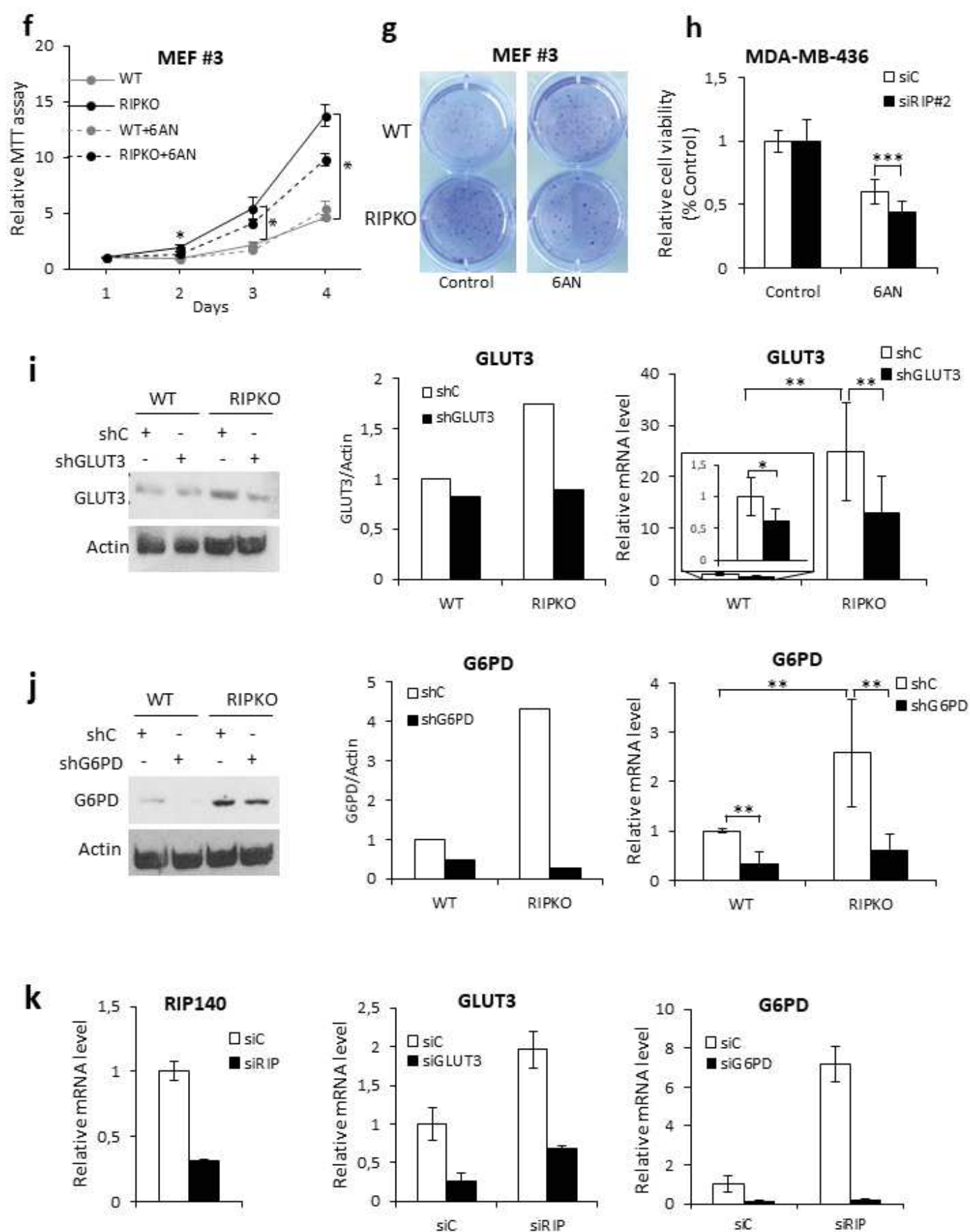
Supplementary Figure 2.



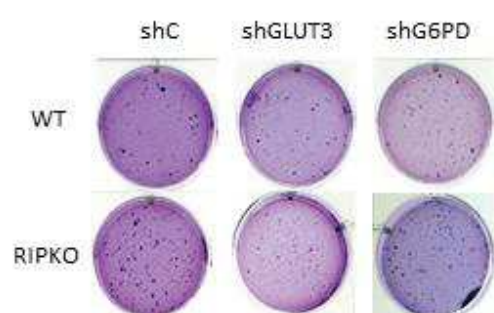
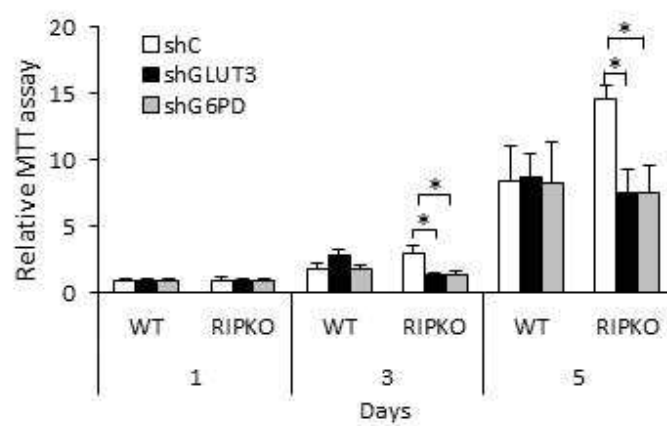
Supplementary Figure 3

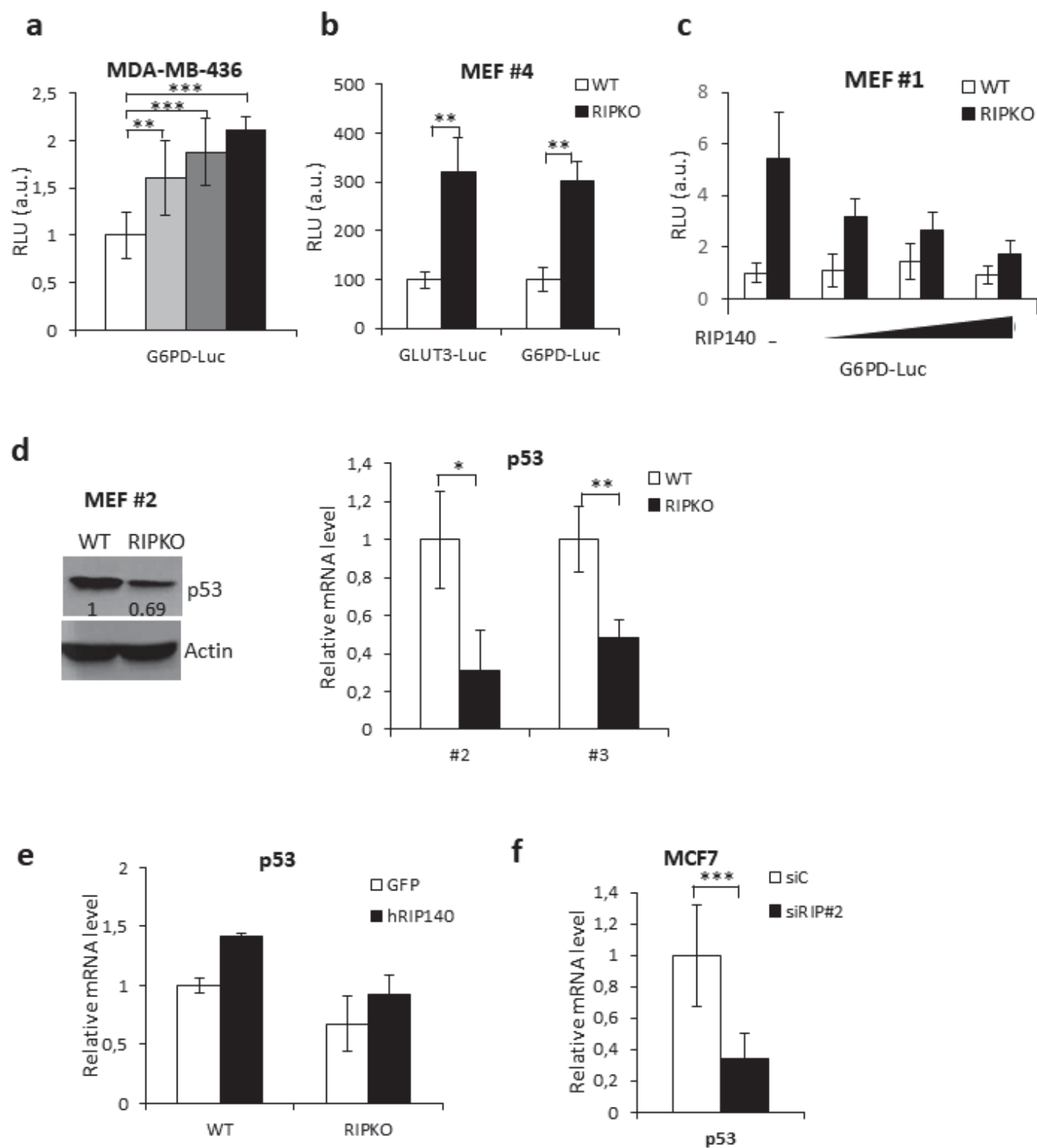


Supplementary Figure 4

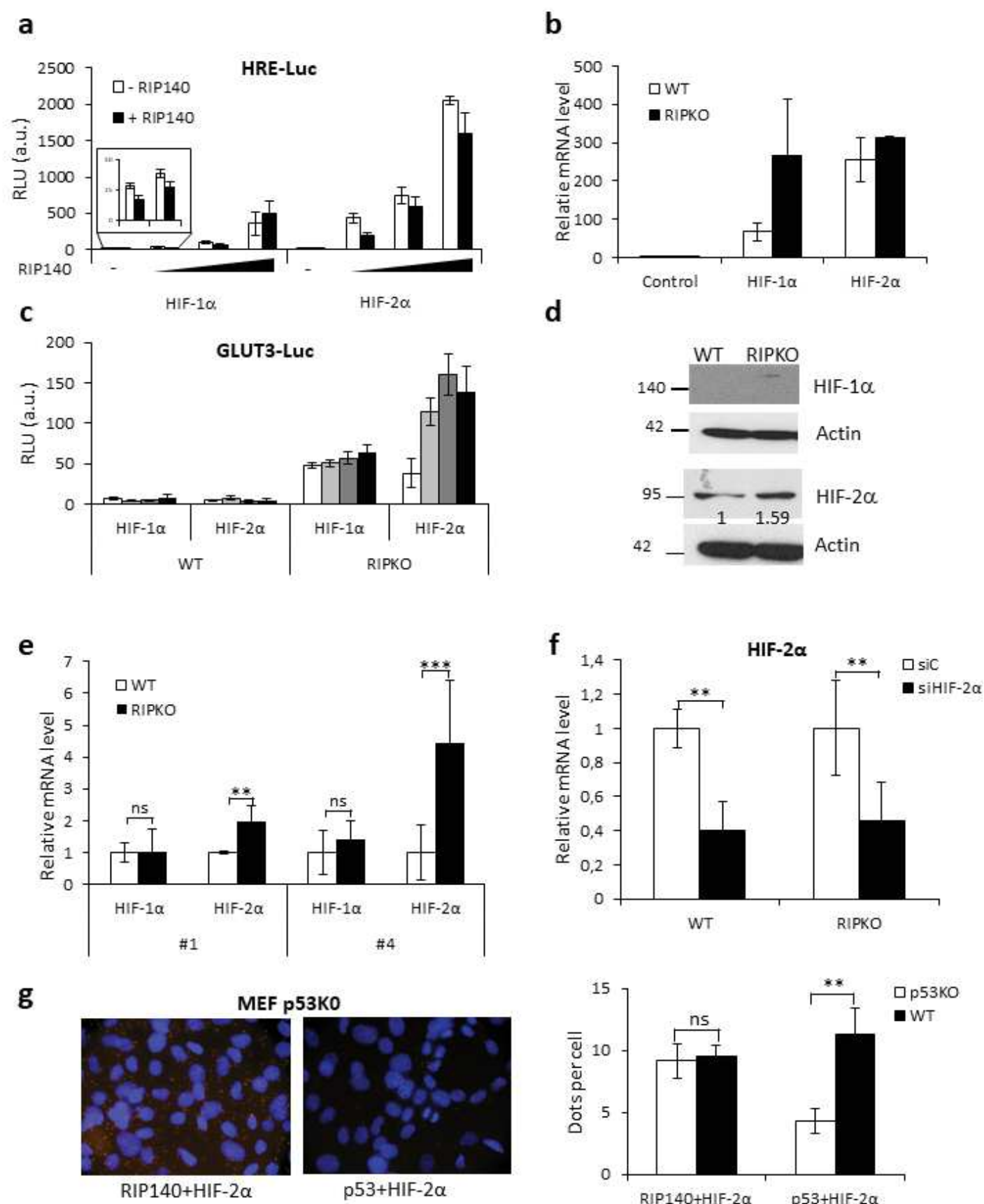


Supplementary Figure 4

l**m**

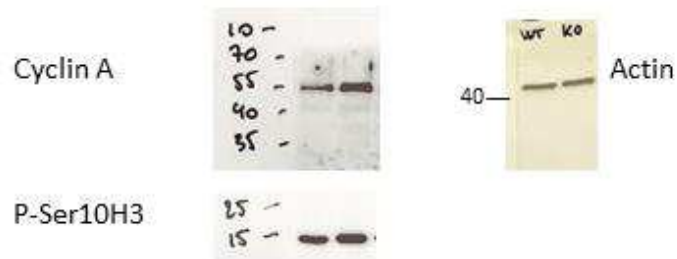


Supplementary Figure 5

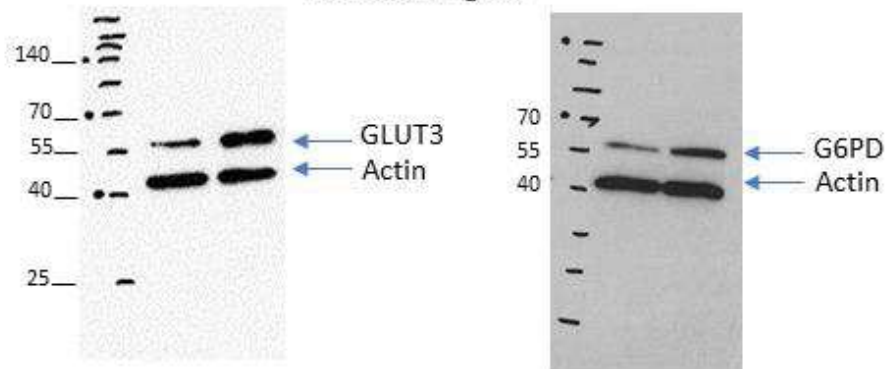


Supplementary Figure 6

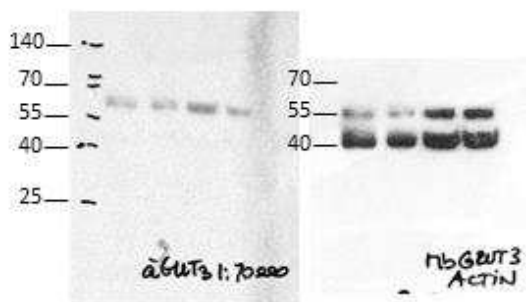
Related to Fig. 1d



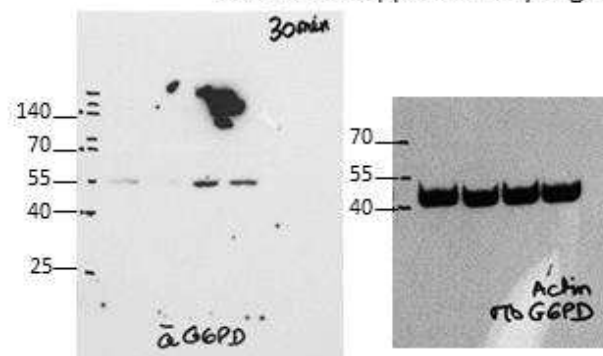
Related to Fig. 4b



Related to Supplementary Fig. 4i

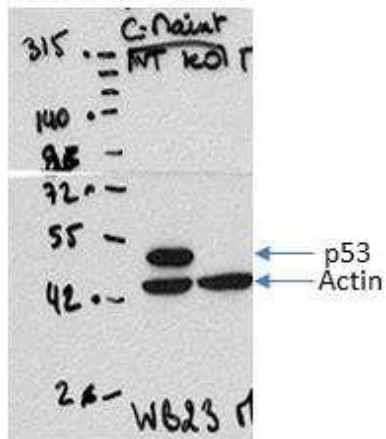


Related to Supplementary Fig. 4j

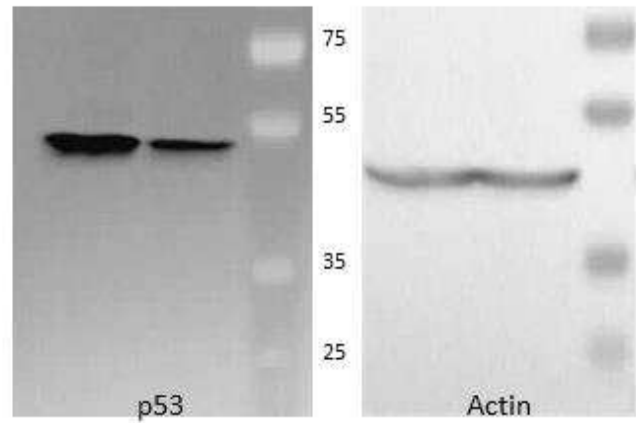


Supplementary Figure 7.

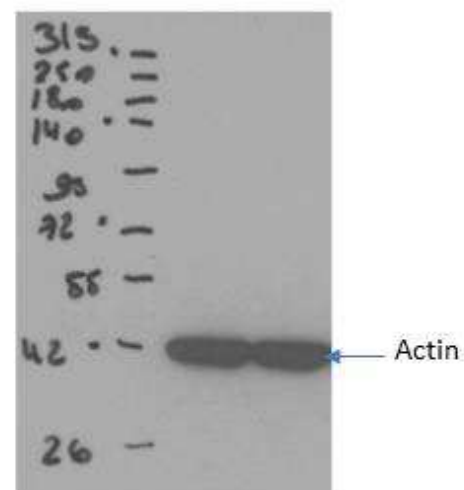
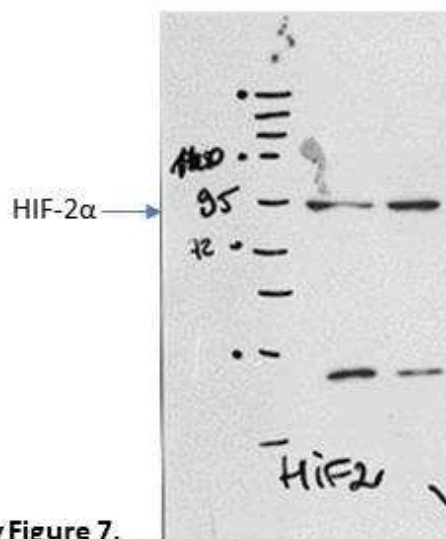
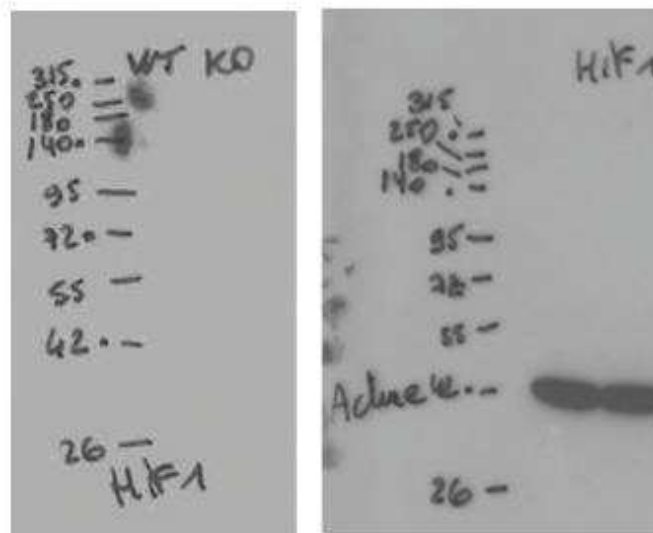
Related to Fig. 5h



Related to Supplementary Fig. 5d



Related to Supplementary Fig. 6d



Supplementary Figure 7.

2) RIP140 contrôle la prolifération des cellules leucémiques *via* une augmentation de l'apoptose et contre les effets de l'ATRA

a) Introduction

L'une des causes principales de l'échec des traitements de leucémies aiguës myéloïdes est la rechute des patients. En effet, les patients de moins de 60 ans ont de 35 à 80% de risque de faire une rechute. Ce risque grimpe entre 60 à 85% pour les patients de plus de 60 ans en fonction de leur risque cytogénétique établi par le réseau European LeukemiaNet. Ces rechutes sont dues à une résistance des cellules leucémiques aux traitements qui entraîne l'apparition de clones résistants par deux mécanismes :

- 1) le traitement chimiothérapeutique entraîne l'apparition de nouvelles mutations permettant aux clones préexistants de devenir résistants aux traitements,
- 2) le traitement entraîne une sélection compétitive des différentes sous populations de cellules leucémiques et fait émerger un clone résistant. La compréhension des mécanismes menant à cette chimiorésistance est donc un pan de recherche très actif dans le domaine des AML. Ceci a mené à la découverte en 2017 par l'équipe du Dr Sarry que le traitement à la cytarabine induit une reprogrammation métabolique des cellules leucémiques favorisant la phosphorylation oxydative mitochondriale leur permettant de résister aux traitements (Farge *et al.* 2017). Cette équipe a depuis mené des recherches complémentaires et ils ont démontré que les cellules résistantes présentent également une expression accrue de CD39 (Aroua *et al.* 2020). CD39 est une ectonucléotidase qui catalyse la transformation de l'ATP extracellulaire en AMP et active ainsi la voie cAMP-PKA qui *in fine* augmente l'activité mitochondriale. L'équipe du Dr. Sarry a également démontré que les mitochondries des cellules résistantes sont capables de réguler l'autophagie afin de moduler la β -oxydation pour alimenter la phosphorylation oxydative (Bosc *et al.* 2020). La découverte de nouveaux régulateurs et biomarqueurs de cette activité mitochondriale semble donc une voie prometteuse dans le traitement des AML.

Comme nous l'avons montré dans l'introduction de ce manuscrit, mais également dans l'article précédent, RIP140 est un régulateur du métabolisme des cellules saines et cancéreuses et notamment du métabolisme glucidique. Mais c'est également un régulateur du fonctionnement et de la biogénèse des mitochondries notamment *via* son antagonisme avec un des régulateurs positifs du fonctionnement mitochondrial PGC1 α . Cela a été notamment été montré chez les patients atteints de

trisomie 21 (chromosome sur lequel est situé le gène *RIP140*) qui présentent de nombreuses malformations mitochondriales (Izzo *et al.* 2014). Il est également intéressant de noter que les patients atteints de trisomie 21 ont une chance accrue de développer une leucémie (Hasle, Clemmensen, et Mikkelsen 2000). Cependant une étude récente a montré que le traitement de cellules de neuroblastome avec de la vitamine A, le précurseur de l'acide rétinoïque, entraîne leur différenciation ainsi que l'augmentation de l'expression de PGC1 α et de RIP140 (Mu *et al.* 2018). Cette augmentation conjointe de l'expression des deux protéines, augmente l'activité ainsi que la morphogénèse mitochondriale contrairement à ce qui pourrait être attendu.

Compte tenu de ces données nous avons émis l'hypothèse que RIP140 pouvait jouer un rôle dans le développement et la chimiorésistance des leucémies aiguës myéloïdes *via* une régulation du métabolisme mitochondrial. Nous démontrons dans ces travaux qu'une surexpression de RIP140 est associée à un mauvais pronostic et qu'il est également surexprimé dans les groupes à risque cytogénétique défavorable. L'analyse d'un RNAseq réalisé sur la lignée OCI-AML2 exprimant de manière stable un shRNA spécifique de RIP140 a mis en évidence une dérégulation des voies de signalisations suivantes : le cycle cellulaire, l'apoptose, le métabolisme de la phosphorylation oxydative ainsi que celui de l'acide rétinoïque. Nous avons axé nos investigations sur le rôle de RIP140 sur la prolifération des cellules d'AML. Nous démontrons que RIP140 contrôle la prolifération de lignées cellulaires d'AML en inhibant l'apoptose et en stimulant la progression du cycle cellulaire. Ces effets passent par la régulation de gènes du cycle cellulaire, comme p21. De plus, nos résultats montrent que la diminution de l'expression de RIP140 dans les cellules d'AML augmente leur sensibilité à l'ATRA. En effet, nous constatons une augmentation de l'expression des marqueurs de différenciation ainsi qu'une diminution de la prolifération cellulaire due à une augmentation de la mort cellulaire dans les cellules RIP140 KD par rapport au control. Ces résultats pourraient permettre à l'avenir d'utiliser RIP140 comme marqueur pronostic pour le diagnostic des AML mais également comme marqueur de l'efficacité des agents différenciant dans le traitement des AML non APL. Ceci est une version en préparation de l'article.

b) Article

RIP140 controls cell proliferation and potentiates ATRA-induced cell death in acute myeloid leukemia

Valentin Jacquier¹, Sandrine Bonnet¹, Lucile Stuani², Thomas Farge², Jean-Emmanuel Sarry², Vincent Cavaillès¹ and Catherine Teyssier¹

¹IRCM, Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier, INSERM U1194, Université Montpellier, Montpellier F-34298, France

²CRCT, Cancer Research Center of Toulouse, INSERM U1037, CNRS ERL5294, University of Toulouse, Toulouse, France

Abstract

Despite recent improvements in the standard care of acute myeloid leukemia (AML), the 5-year overall survival reaches only 5-15% for patients over 60 years old. Patients with one of the subtypes of AML, the acute promyelocytic leukemia (APL), have seen their overall survival greatly improved since the introduction of differentiating agents, such as all-trans retinoic acid or arsenic trioxide. Unfortunately, these treatments have a poor efficiency for non-APL AML patients. Therefore, there is an urgent need for biomarkers that would identify patients that could benefit of differentiating therapies. In the present study, we identify RIP140, a transcriptional coregulator of RAR, as a poor prognosis factor using AML patient databases. Using genetically engineered AML cell lines, we characterize the cellular pathways regulated by RIP140, such as oxidative phosphorylation, retinoic acid signaling and cell proliferation. Indeed, we report that RIP140 limits cell proliferation by blocking cell cycle progression and increasing apoptosis. Moreover, we demonstrate that the inhibition of RIP140 potentiates the effect of ATRA on AML cells. Altogether, our findings implicate RIP140 in AML pathogenesis and could lead to its use as a potential biomarker for ATRA efficiency.

Introduction

Acute myeloid leukemia (AML) is a heterogeneous group of hematopoietic malignancies affecting the hematopoietic cells of the myeloid lineage¹. This disease takes place in the hematopoietic stem cells or progenitors through the acquisition of oncogenic mutations resulting in the formation of undifferentiated and highly proliferative leukemic cells¹. Despite the development of recent new therapies², the standard care still consists of a combination of one anthracycline (Idarubicin, Daunorubicin) combined with cytarabine (Ara-C), a nucleoside analogue. The 5-year overall survival is 35-40% for patients younger than 60 years old and drops to 5-15% for patients older, due to chemoresistance leading to relapse. Therefore, the need for new biomarkers and therapies to provide a personalized treatment is urgent in order to improve patient survival.

The removal of the differentiation blockade has been used to treat AML, by leading to cell cycle arrest and later on, cell death³. Acute promyelocytic leukemia (APL), which is characterized by the translocation of chromosomes 15 and 17 leading to the formation of *PML-RAR α* fusion gene, have been treated by differentiating agents. The disruption of RAR α function, due to the translocation, results in the arrest of the myeloid cell maturation at the

promyelocytic stage, leading to cell accumulation. The use of differentiation-inducing agents, such as all-trans retinoic acid (ATRA) in combination with arsenic trioxide, reverses the differentiation blockade and led to the improvement of complete remission by 15% for APL patients⁴. Unfortunately, these treatments are not as efficient for non-APL AML, where they are only effective in small AML subgroups such as patients with *IDH1*⁵ or *NPM1*⁶ mutations or overexpressing FLT3-ITD⁷ or EVI-1⁸. This lack of efficiency in non-APL AML pinpoints the need for new biomarkers for differentiating therapy⁹.

RIP140, (Receptor Interacting Protein, 140 kDa) also known as NRIP1 (Nuclear Receptor-Interacting Protein 1), has been initially characterized as a transcriptional repressor of nuclear hormone receptors, including RAR α ¹⁰. Then, our team and others also identified RIP140 as a regulator of transcription factors such as NF- κ B¹¹, AP-1¹² and E2F1¹³. Recently, RIP140 has been identified as a key player in several solid cancers. For instance, in colon cancer, RIP140 acts as a tumor suppressor by interacting with b-Catenin¹⁴. The subcellular localization of RIP140 predicts cancer aggressiveness in breast cancer¹⁵. RIP140 controls also cell proliferation in breast^{13,16,17} and hepatocellular carcinoma¹⁸. More recently, data analysis from our team identified RIP140 as a good prognosis factor in chronic lymphocytic leukemia¹⁹.

Moreover, RIP140 has been implicated in the retinoic acid receptor (RAR) signaling as a target gene of RA but also as a repressor of the RAR-RXR pathway²⁰. Indeed, RIP140 inhibits RA target genes during tumor cell differentiation of pluripotent human embryonal carcinoma cells²⁰. In this present study, we found that RIP140 expression is associated with a poor prognosis in AML. We then used genetically engineered AML cell lines to demonstrate that RIP140 is implicated in AML cell proliferation by increasing apoptosis. Finally, we show that a disruption of RIP140 expression potentiates ATRA effects on both apoptosis and cell differentiation.

Results

RIP140 expression decreases during the differentiation of the hematopoietic lineage

As mentioned above, the level of RIP140 expression (NRIP1) in the hematopoietic tissue is not well described. Aiming to improve this, we analyzed a series of databases. We found that the expression of RIP140 decreased during the hematopoietic lineage differentiation (Figure 1A). Then, we analyzed transcriptomic data from patients classified by the French-American-British (FAB) classification. We found that RIP140 was more expressed in the undifferentiated M0 subtypes when compared with the other subtypes (Figure 1B). Moreover, RIP140 was

overexpressed in the hematopoietic stem cells when compared to its level in leukemic blasts, leukemic progenitor cells or leukemic stem cells (Figure 1C). These results demonstrate that RIP140 expression is lost during the hematopoietic differentiation.

RIP140 is associated with a poor prognosis in AML.

To go further, we investigated the expression of RIP140 in AML pathogenesis. We found that RIP140 was overexpressed in the adverse cytogenetic subgroup when compared to favorable and intermediate subgroups, according to the European LeukemiaNet classification (Figure 2A). Then, we quantified the level of RIP140 mRNA of AML patients at diagnosis and when they relapsed. We found that the level of RIP140 mRNA was higher at relapse when compared to its level at diagnosis (Figure 2B). Using NGS mice xenografted with patient samples and treated with Ara-C, we showed that the enrichment of RIP140 target genes was increased after chemotherapeutic treatment (Figure 2C). Finally, we found that RIP140 overexpression was associated with a poor prognosis by analyzing TCGA databases (Figure 2D and Supplementary Figure 1A). Altogether these data demonstrate that RIP140 is implicated in AML pathogenesis and could participate to AML chemoresistance.

RIP140 inhibits AML cell proliferation

To assess the role of RIP140 in AML, we then compared its expression in various AML cell lines at the mRNA and protein level. We found that the level of RIP140 expression was high in OCI-AML2 and HL-60, intermediate in KG1 α and Molm14 and low in U937 cell lines at the mRNA level, with some slight differences, especially for Molm14, at the protein level (Supplementary Figure 3A, B). We, then, decided to stably down-regulated the expression of RIP140 in the OCI-AML2 cell line using shRNA. We succeeded to decrease the expression of RIP140 by 70%, both at the mRNA and protein level (Figure 3A, B). To evaluate the pathways regulated by RIP140 in these cells, we performed RNA-seq analysis. Performing Gene Set Enrichment Analysis (GSEA), we discovered that genes implicated in cell cycle progression were down-regulated when RIP140 was knocked-down (KD) when compared to control cells (Figure 3B and Supplementary Figure 3C). On the contrary, genes involved in apoptosis were upregulated in the RIP140 KD cells (Figure 3D and Supplementary Figure 3D). These results suggest that RIP140 is directly implicated in the regulation of the cell proliferation of AML cell lines. To confirm the role of RIP140 in AML cell proliferation, we compared the proliferation of OCI-

AML2 cells knocked-down for RIP140 to control cells. Indeed, knocking down RIP140 expression decreased the number of cells during cell proliferation (Figure 3E).

RIP140 controls cell cycle progression and apoptosis in AML cell lines

To avoid cell adaptation to RIP140 KD, we set up an inducible shRNA system to reduce RIP140 expression in OCI-AML2 and Molm14 cell lines. After the induction of the shRNA specific of RIP140 by doxycycline treatment, we successfully reduced RIP140 expression, both at mRNA and protein level (Supplementary Figure 4A, B). Then, in accordance with the previous results, we detected a reduction of cell proliferation after RIP140 KD (Figure 4A and Supplementary 4C). To better characterize the role of RIP140 in AML cell proliferation, we investigated whether RIP140 could control cell cycle progression. We found that RIP140 KD slightly increased the number of cells in G0/G1 phase and more importantly in subG1, while it decreased it in the S and G2/M phase (Figure 4B). We, then, wondered whether RIP140 could control the expression of the cyclin dependent kinase inhibitor p21, which is known to be repressed by RIP140²¹. In concordance with our hypothesis, the expression of p21 was increased in RIP140 KD cells (Figure 4C and Supplementary Figure 4D).

As SubG1 phase corresponds to apoptotic cells, we looked at cell death using Trypan Blue exclusion assay. We confirmed that RIP140 KD increased the number of dead cells (Figure 4D). To look at the early apoptosis fraction, which is not detectable by Trypan Blue exclusion assay, we performed Annexin V and 7aaD staining. FACS analysis of stained cells allowed us to detect an increase in early apoptosis and in total Annexin V positive cells after RIP140KD (Figure 4E). These results show that RIP140 KD reduces cell cycle progression and increases cell death, leading to a reduction of AML cell proliferation.

Knocking down RIP140 potentiates the differentiating effects of ATRA in AML cells

Differentiating agents, such as ATRA induces AML cell differentiation followed by cell death. Our previous results showed that RIP140, known to be an RAR target gene, could be implicated in hematopoietic differentiation. Then, we wondered whether RIP140 could be implicated in AML cell differentiation. Interestingly, we found that genes involved in retinoic acid metabolism were up-regulated upon RIP140 KD (Supplementary Figure 5A). As expected, and in accordance with the literature, ATRA treatment decreased the proliferation of MOLM14 cells (Figure 5A). However, ATRA treatment combined with RIP140 KD greater inhibited cell proliferation than ATRA alone. We found that both treatments increased apoptosis as shown

by Annexin V staining. Indeed, under ATRA treatment the proportion of Annexin V positive cells was greater when RIP140 expression was knocked down (Figure 5B). To confirm this result, we quantified the expression of anti-apoptotic genes, such as *BCL2* or pro-apoptotic ones, such as Bax. Indeed, knocking down RIP140 in combination with ATRA decreased the expression of BCL2 and increased that of Bax (Figure 5C). Finally, the combination of ATRA and RIP140 KD induced to a greater extent the expression of differentiation markers, such as cd11B both at mRNA and protein level (Figure 5D), and ATRA-induced cell death gene, such as TNFSF10 (Figure 5E). These results demonstrate that the down regulation of RIP140 expression not only induces apoptosis but also potentiates the effect of ATRA on AML cell differentiation.

Discussion

The role of RIP140 in the hematopoietic tissue and its pathologies remains poorly studied. Here we combined databases analysis and *in vitro* studies to elucidate the role of RIP140 in AML. Despite the improvement of therapies in AML treatment, there is still an urgent need for new biomarkers to provide a personalized treatment in order to improve patient survival.

Our findings not only show that RIP140 expression is correlated with a poor prognosis in AML but also that its expression is increased at relapse in AML patients (Figure 2B), suggesting that RIP140 could be implicated in AML response to treatments. Moreover, the loss of RIP140 expression in blasts and leukemic stem cells when compared to hematopoietic stem cells reinforces this hypothesis; leukemic stem cells being involved in response to treatments²². Of note, we found an opposite function for RIP140 in AML when compared to CLL. Indeed, RIP140 is associated with a good prognosis in CLL¹⁹. The opposite functions of RIP140 could rely on RIP140 transcription partners. One can imagine that RIP140 could interact with transcription factors leading to cell death in the lymphoid lineage and the opposite in the myeloid lineage. In AML, RIP140 could interact with RAR and block cell differentiation, thus participating in the maintenance of the disease.

RIP140 has been shown to regulate RAR activity in urinary tract²³, colon cancer²⁴ or neural differentiation²⁵. Of interest, differentiation therapies using ATRA have transformed APL from a fatal to a highly curable disease. Unfortunately, their efficiency in other AML subtypes has been limited. Our work demonstrates that RIP140 represses ATRA-induced differentiation of non-APL AML. Mechanistically, RIP140 limits the expression of genes critical for myeloid

differentiation such as *cd11b* as well as genes required for cell-cycle arrest like *p21* and for retinoid-induced apoptosis (*Bax* and *TNFSF10*) (Figure 5C, D). This suggest that RIP140 could be a good indicator for non APL-AML response to ATRA treatment.

Altogether our study highlights the role of RIP140 in AML. We provide the first evidence that RIP140 acts as an oncogene in AML. Therefore, RIP140 could be used to identify AML patients that could benefit of therapies based on retinoic acid treatments.

Materials and Methods

Cell culture

OCI-AML2, Molm14, KG1 α , U937 and HL60 were kindly obtained from Dr Sarry (CRCT, Toulouse, France). Cell lines were authenticated by the ATCC using short tandem repeat analysis. All cells were regularly tested negative for Mycoplasma. Cells were maintained in Minimum Essential Medium- α supplemented with 10% fetal bovine serum (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) in the presence of 100 units per ml of penicillin and 100 μ g/ml of streptomycin, and were incubated at 37°C with 5% CO₂. After thawing, cells were passaged at

0.3.10E⁶/mL every 2 to 3 days for no more than 10 passages. For PlKO-Tet-on infected cells, Tetracycline-free serum (Ozyme, France) was used.

Plasmids and reagents.

The CSII-U6 vector containing shRNA specific of RIP140 was kindly donated by Dr. Nakatsumi and used to generate stable OCI-AML2 expressing shRIP140. shRNA against RIP140 were cloned into a pLKO-Tet-On inducible vector (plasmids #21915; Addgene, Cambridge, MA, USA)

at EcoRI and AgeI sites. shRNA sequences Top:

(CCGGCTACAGACCTATGTGTTAATTCAAGAGATTAACACATAGGTCTGTAGCATTTTT) Bottom:

(AATTAAAAATGCTACAGACCTATGTGTTAATCTCTTGAATTAACACATAGGTCTGTAG)

Both vectors were used to generate lentivirus particles into HEK293 cells. OCI-AML2 and MOLM14 cells were then infected and selected with puromycin (Invivogen, Toulouse, France) at 2 µg/ml. Doxycycline (Merck, Darmstadt, Germany) was used to induce the expression of shRIP140 at a concentration of 50 ng/mL and replaced every other day.

ATRA was purchased from Merck (Darmstadt, Germany) and used a concentration of 1 µM.

Real-time quantitative PCR (RT-qPCR)

Briefly, total RNA was extracted from cells using the Quick RNA™ Miniprep kit (Zymo Research, Irvine, CA, USA) according to the manufacturer's instructions. cDNA was synthesized with 1 µg of RNA and the qScript cDNA master mix (Quanta Bio, Beverly, MA, USA). RT-qPCR were performed with the Roche LightCycler® 480 instrument and the PCR SYBR Green SensiFAST™ SYBR® No-ROX Kit (Bioline, London, UK) and were carried out in a final volume of 10µl using 0.5µl of each primers (25µM), 5µl of the supplied enzyme mix, 2.5µl of H₂O and 2µl of the template diluted at 1:6 (See Table S1 for primer sequences). After pre-incubation at 95°C, runs corresponded to 35 cycles of 15s each at 95°C, 5s at 60°C and 15s at 72°C. Melting curves of the PCR products were analyzed using the LightCycler® software to exclude amplification of unspecific products. Results were normalized to HPRT housekeeping gene transcripts.

RNA sequencing

RNA extracts were submitted to Illumina sequencing following by a single end 1x75bp protocol. Read sequences were cut to eliminate the first 13 nucleotides due to compositional bias. Low quality ends were further trimmed with sickle. The resulting shortened reads were aligned against the human genome (hg38) with the TopHat 2.1.0 algorithm. Gene expression

data (read counts) were obtained applying HTSeq-count to extract the number of reads aligned over each protein-coding gene. Read counts were compiled in a gene expression matrix. Genes that did not reach a minimum read count of 5 in at least 2 samples were considered not expressed and thus discarded. The remaining expression matrix was normalized with edgeR 19 TMM method. We then constructed a statistical model of the whole data set using edgeR robust negative binomial generalized linear model with a design matrix linking the two replicates of each condition. Pairwise gene selections, e.g. shRNA RIP140 against control shGFP, were subsequently obtained from the globally calibrated model. In every case, we imposed a $P\text{-value} < 0.05$, a minimum $\log_2$ -fold-change of 1 in absolute value (1.4 in the linear scale), and an average minimum read count over all the samples of the two tested conditions of 20.

Immunofluorescence analysis

Immunofluorescence experiments were performed to detect RIP140 protein expression. Cells were first attached to glass slides using Cytospin 3 centrifuge (Marshall Scientific, Hampton, VA, USA) at 800rpm for 5minutes. Then, the cells were fixed with 3,7% paraformaldehyde, and permeabilized with PBS-1% Triton for 30 minutes, blocked with PBS 1%BSA for at least 3

hours and incubated with the primary antibodies (RIP140, 1:150, ab42126, Abcam, Cambridge, UK) overnight at 4°C, diluted in PBS 1% BSA. Revelation was performed using Alexa Fluor secondary rabbit antibodies IgG (AF488®, AF546®, 1/500, Invitrogen®). Slides were counterstained with Hoechst (1/1000, Merck, Darmstadt, Germany) and mounted with Mowiol (Merck, Darmstadt, Germany) for fluorescence microscopy. Staining quantification was performed at x40 magnification using the AxioVision software (Carl Zeiss®, Oberkochen, Germany).

Flow cytometry analysis

Cells were washed in PBS containing 2% FBS and incubated with cd11b-APC-cy7 (BD Pharmingen™, San Diego, CA, USA) at 4°C for 30 min. Cells were then washed and fixed in 1% paraformaldehyde. Data were acquired with a Galios cytometer (Beckman-Coulter, Fullerton, CA, USA) and analyzed with the Kaluza software.

Cell viability, cell cycle, and proliferation assays

For proliferation assays, cells were seeded at a concentration of 3×10^5 /mL, and viable cells were counted at regular intervals using the Trypan blue exclusion method with a Countess II automated counter (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Cell-cycle distribution was

analyzed by 7-Aminoactinomycin D (7aad, Merck, Darmstadt, Germany) staining. Cells were washed once with PBS and fixed with cold 70% ethanol for 10 minutes and washed once with PBS. Cells were washed with PBS and stained with 7aad at 50 µg/mL for 10 minutes at room temperature. Cells were then washed once with PBS and analyzed by flow cytometry. Cell apoptosis was analyzed by flow cytometry using Annexin V-FITC apoptosis detection kit (BD Biosciences; San Jose, CA, USA) according to the manufacturer's protocols. OCI/AML-2 and Molm14 cells following treatments were collected, washed with cold PBS and stained with binding buffer containing Annexin V-FITC and 7aad at room temperature under darkness for 15 min. Finally, cells were recorded using Gallios flow cytometer (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) and analyzed using Kaluza software.

Statistical analysis

All experiments were conducted independently at least three times. Results were expressed as the mean $\pm$ standard deviation (S.D.). Results were compared using the paired Wilcoxon, Mann-Whitney, or chi-squared test depending on the experiment. A P-value<0.05 was considered as statistically significant. Analyses were performed using the GraphPad Prism software (GraphPad Prism, GraphPad).

Table S1

Name	Sequence
HPRT-FOR	GGACAGGACTGAACGTCTTGCT
HPRT-REV	AAAGAATTTATAGCCCCCTTGA
RIP140-FOR	AATGTGCACTTGAGCCATGATG
RIP140-REV	TCGGACACTGGTAAGGCAGG
ITGAM-FOR	ACT GGT GAA GCC AAT AAC GCA
ITGAM-REV	TCC GTG ATG ACA ACT AGG ATC
hp21-FOR	TGAGCGATGGAACCTTCGAC
hp21-REV	ACAAGACAGTGACAGGTCC
BCL2-FOR	GGTGCCACCTGTGGTCCACCTG
BCL2-REV	CTTCACTTGTGGCCCAGATAGG
BAX-FOR	GGA GCA GCT TGG GAG CG
BAX-REV	AAA AGG CCC CTG TCT TCA TGA
TNFSF10-FOR	AAGGCTCTGGGCCGCAAAAT
TNFSF10-REV	TGGATGACCAGTTCACCATTCCT

References

1. Döhner, H., Weisdorf, D. J. & Bloomfield, C. D. Acute Myeloid Leukemia. *N. Engl. J. Med.* **373**, 1136–1152 (2015). 1. Döhner, H., Weisdorf, D. J. & Bloomfield, C. D. Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* **373**, 1136–1152 (2015).
2. Estey, E. H. Acute myeloid leukemia: 2019 update on risk-stratification and management. *American Journal of Hematology* **93**, 1267–1291 (2018).
3. Olsson, I., Bergh, G., Ehinger, M. & Gullberg, U. Cell differentiation in acute myeloid leukemia. *Eur J Haematol* **57**, 1–16 (1996).
4. Ng, C.-H. & Chng, W.-J. Recent advances in acute promyelocytic leukaemia. *F1000Res* **6**, (2017).
5. Boutzen, H. *et al.* Isocitrate dehydrogenase 1 mutations prime the all-trans retinoic acid myeloid differentiation pathway in acute myeloid leukemia. *J Exp Med* **213**, 483–497 (2016).
6. Martelli, M. P. *et al.* Arsenic trioxide and all-trans retinoic acid target NPM1 mutant oncoprotein levels and induce apoptosis in NPM1-mutated AML cells. *Blood* **125**, 3455–3465 (2015).
7. Ma, H. S. *et al.* All-trans retinoic acid synergizes with FLT3 inhibition to eliminate FLT3/ITD+ leukemia stem cells in vitro and in vivo. *Blood* **127**, 2867–2878 (2016).
8. Verhagen, H. J. M. P. *et al.* Primary acute myeloid leukemia cells with overexpression of EVI-1 are sensitive to all-trans retinoic acid. *Blood* **127**, 458–463 (2016).
9. Reikvam, H. *et al.* Disease-stabilizing treatment based on all-trans retinoic acid and valproic acid in acute myeloid leukemia - identification of responders by gene expression profiling of pretreatment leukemic cells. *BMC Cancer* **17**, 630 (2017).
10. Cavaillès, V., Dauvois, S., Danielian, P. S. & Parker, M. G. Interaction of proteins with transcriptionally active estrogen receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **91**, 10009–10013 (1994).
11. Zschiedrich, I., Hardeland, U., Krones-Herzig, A., Diaz, M. B. & Vegiopoulos, A. Coactivator function of RIP140 for NF- κ B/RelA-dependent cytokine gene expression. **112**, 13 (2008).
12. Teyssier, C., Belguise, K., Galtier, F., Cavailles, V. & Chalbos, D. Receptor-interacting protein 140 binds c-Jun and inhibits estradiol-induced activator protein-1 activity by reversing glucocorticoid receptor-interacting protein 1 effect. *Mol. Endocrinol.* **17**, 287–299 (2003).
13. Docquier, A. *et al.* The transcriptional coregulator RIP140 represses E2F1 activity and discriminates breast cancer subtypes. *Clin. Cancer Res.* **16**, 2959–2970 (2010).
14. Lapierre, M. *et al.* RIP140 increases APC expression and controls intestinal homeostasis and tumorigenesis. *J Clin Invest* **124**, 1899–1913 (2014).
15. Sixou, S. *et al.* Importance of RIP140 and LCoR Sub-Cellular Localization for Their Association With Breast Cancer Aggressiveness and Patient Survival. *Transl Oncol* **11**, 1090–1096 (2018).
16. Aziz, M. H. *et al.* Suppressing NRIP1 inhibits growth of breast cancer cells in vitro and in vivo. *Oncotarget* **6**, 39714–39724 (2015).
17. Jacquier, V. *et al.* RIP140 inhibits glycolysis-dependent proliferation of cancer cells by regulating transcriptional crosstalk between hypoxia induced factor and p53. *bioRxiv* 2020.07.30.228759 (2020) doi:10.1101/2020.07.30.228759.

18. Zhang, D. *et al.* Downregulation of RIP140 in hepatocellular carcinoma promoted the growth and migration of the cancer cells. *Tumour Biol.* **36**, 2077–2085 (2015).
19. Lapierre, M. *et al.* Expression and role of RIP140/NRIP1 in chronic lymphocytic leukemia. *J Hematol Oncol* **8**, (2015).
20. Heim, K. C. *et al.* Selective repression of retinoic acid target genes by RIP140 during induced tumor cell differentiation of pluripotent human embryonal carcinoma cells. *Mol Cancer* **6**, 57 (2007).
21. Jalaguier, S. *et al.* Complex regulation of LCoR signaling in breast cancer cells. *Oncogene* **36**, 4790–4801 (2017).
22. Laverdière, I. *et al.* Leukemic stem cell signatures identify novel therapeutics targeting acute myeloid leukemia. *Blood Cancer J* **8**, 52 (2018).
23. Vivante, A. *et al.* A Dominant Mutation in Nuclear Receptor Interacting Protein 1 Causes Urinary Tract Malformations via Dysregulation of Retinoic Acid Signaling. *J Am Soc Nephrol* **28**, 2364–2376 (2017).
24. Imajo, M. *et al.* Antagonistic Interactions between Extracellular Signal-Regulated Kinase Mitogen-Activated Protein Kinase and Retinoic Acid Receptor Signaling in Colorectal Cancer Cells. *Mol Cell Biol* **37**, (2017).
25. Mu, Q. *et al.* RIP140/PGC-1 α axis involved in vitamin A-induced neural differentiation by increasing mitochondrial function. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* **46**, 806–816 (2018).
26. Majeti, R. *et al.* Dysregulated gene expression networks in human acute myelogenous leukemia stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**, 3396–3401 (2009).

Figure Legends.

Figure 1: RIP140 expression decreases during the differentiation of the hematopoietic lineage.

A) RIP140 expression in the different lineages of hematopoietic cells, adapted from Bloodspot database, using the 202600_s_at samples. HSC: Hematopoietic stem cells, MPP: Multipotential progenitors, CMP: Common myeloid progenitor cell, GMP: Granulocyte monocyte progenitors, MEP: Megakaryocyte-erythroid progenitor cell, early PM: Early Promyelocyte, late PM: Late Promyelocyte, MY: Myelocyte, MM: Metamyelocytes, BC: Band cell, PMN: Polymorphonuclear cells.

B) RIP140 expression among the French American British classification stages of acute myeloid leukemia using the TCGA database.

C) RIP140 expression in hematopoietic stem cells, leukemic blast, leukemic progenitor cells and leukemic stem cells using the Majeti database²⁶.

Figure 2: RIP140 expression is associated with a poor prognosis in AML.

A) RIP140 expression in favorable, intermediate and defavorable cytogenetic risk groups from the TCGA database.

B) RIP140 mRNA expression measured at diagnosis (Dx) and relapse (Rel) of AML patients.

C) Normalized enrichment score of RIP140 target genes after AraC treatment xenografted NOD SCID mice. RIP140 target genes were identified by Genomatix analysis based on literature.

D) Kaplan-Meier curve representing AML patients overall survival according to RIP140 expression level using the TCGA database.

Figure 3: RIP140 knock-down inhibits AML cell proliferation.

A-B) RIP140 mRNA level of expression was measured by RT-qPCR **(A)** and by immunofluorescence **(B)** in OCI-AML2.

C-D) Heat map of represented color-coded expression levels of differentially expressed genes of cell cycle G1/S transition **(C)** and apoptosis **(D)** pathways in duplicate samples of shGFP and shRIP OCI-AML2 cells. P-value<0.05 and fold-change>2.

E) Cell proliferation assessed by Trypan Blue exclusion assay of OCI-AML2 stably expressing shGFP or shRIP140 for 96 hours (n=3 independent experiments in triplicates).

Figure 4: RIP140 controls cell cycle progression and apoptosis

A) Cell proliferation assessed by Trypan Blue exclusion assay of Molm14 stably expressing shRIP140 induced by doxycycline (50ng/ml) for 144 hours days (n=3 independent experiments in triplicates).

B) Cell cycle analysis performed by 7aad staining and analyzed by FACS. Molm14 cells were treated with doxycycline (50ng/ml) for 48h and fixed using cold 70% ethanol before analysis.

C) p21 mRNA expression level was measured by RT-qPCR after 72 hours of doxycycline treatment (n=3 independent experiments in triplicates).

D) Percentage of Molm14 dead cells measured by Trypan Blue exclusion assay after 72 hours of doxycycline treatment (n=3 independent experiments in triplicates).

E) Apoptosis measured by FACS in Molm14 cells treated with doxycycline for 72 hours. Cells were stained with 7aad and Annexin V-FITC antibody. Only positive cells for Annexin V staining

are represented in the early apoptosis category and positive cells both for 7aad and Annexin V are represented in the late apoptosis category (n=4 independent experiments in triplicates).

Figure 5: Knocking down RIP140 potentiates the differentiating effects of ATRA in AML cells.

A) Cell proliferation assessed by Trypan Blue exclusion assay of Molm14 treated with ATRA (1 μ M) and doxycycline (50ng/mL) for 96 hours. Cells were counted every 24 hours and medium every other day (n=3 independent experiment in triplicates).

B) Apoptosis measured by FACS after 7aad and Annexin V staining in Molm14 cells treated with ATRA (1 μ M) and doxycycline (50ng/mL) for 72 hours (n=4 independent experiment in triplicates).

C) Bcl2 (Left panel) and Bax (Right panel) mRNA level in Molm14 cells treated with doxycycline and ATRA for 72 hours.

D) cd11b positive cells assessed by FACS analysis(Left panel) and by mRNA level (ITGAM: Right panel) in Molm14 cells treated for 72 hours with doxycycline and ATRA (n=3 independent experiments for cd11b in triplicates).

E) TNFSF10 mRNA expression quantified by RT-qPCR in Molm14 cells treated for 72 hours with doxycycline and ATRA (n=4 independent experiments for TNFSF10 in triplicates).

Supplementary Figure Legends

Supplementary Figure 1

A) RIP140 prognostic value in AML patients.

Supplementary Figure 2

A-B) RIP140 expression level quantified by RT-qPCR (**A**) and immunofluorescence (**B**) in AML cell lines.

C-D) GSEA enrichment score in cell cycle G1/S transition (**C**) and apoptosis pathways (**D**). p-values are indicated.

Supplementary Figure 3

A-B) RIP140 expression was quantified by RT-qPCR (**A**) and immunofluorescence (**B**) in OCI-AML2 and Molm 14 cell lines 72 hours after shRNA induction by doxycycline treatment (50ng/ml) (n=3 independent experiments in triplicates).

C) Cell proliferation assessed by Trypan Blue exclusion assay in OCI-AML2 treated with doxycycline for 144 hours.

D) p21 mRNA level quantified by RT-qPCR in OCI-AML2 stably expressing shGFP or shRIP.

Supplementary Figure 4

A) Heat map of represented color-coded expression levels of differentially expressed genes of retinoic acid metabolic process (Left panel) and retinol metabolic process (Right panel) pathways in duplicate samples of shGFP and shRIP OCI-AML2 cells. P-value<0.05 and fold-change>2.

A) RIP140 mRNA level was quantified by RT-qPCR in Molm14 shRIP cells treated with doxycycline (50ng/ml) and ATRA (1 μ M) for 72 hours.

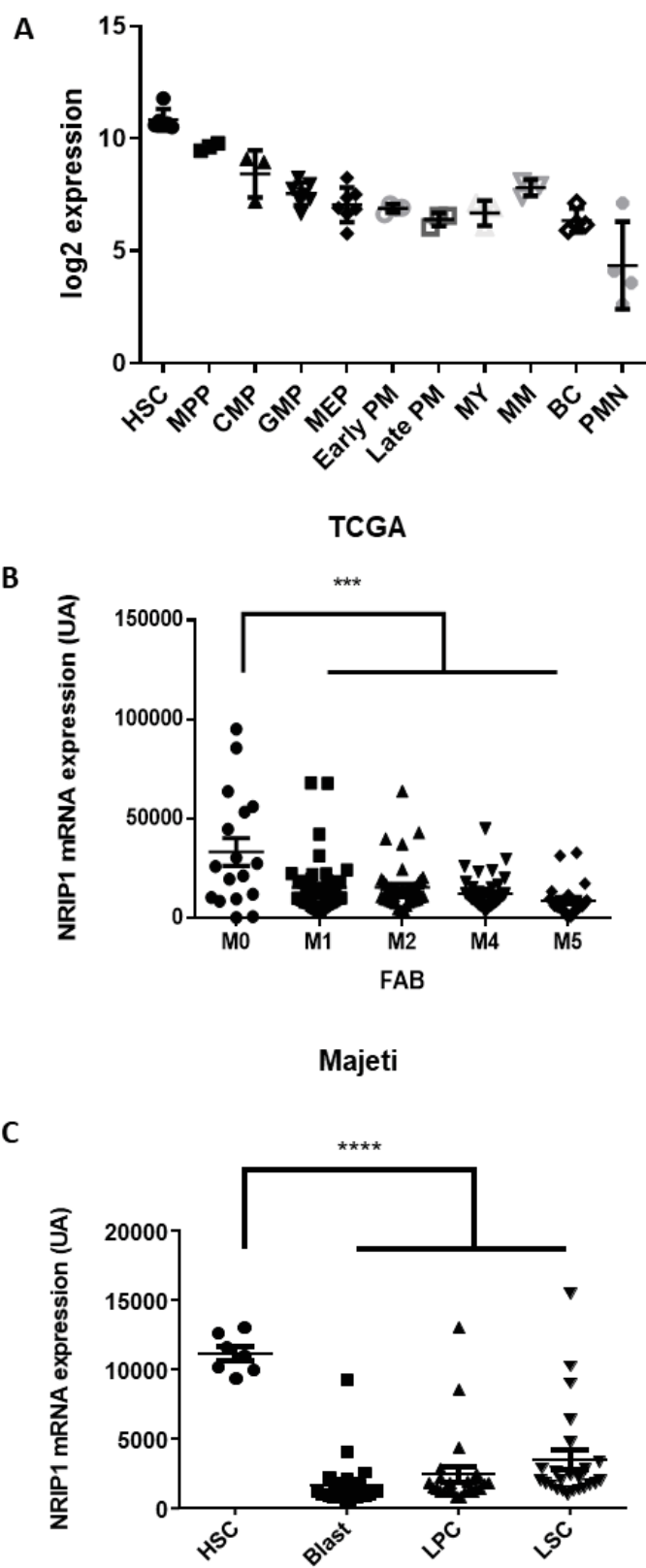


Figure 1. RIP140 expression decreases during the differentiation of the hematopoietic lineage

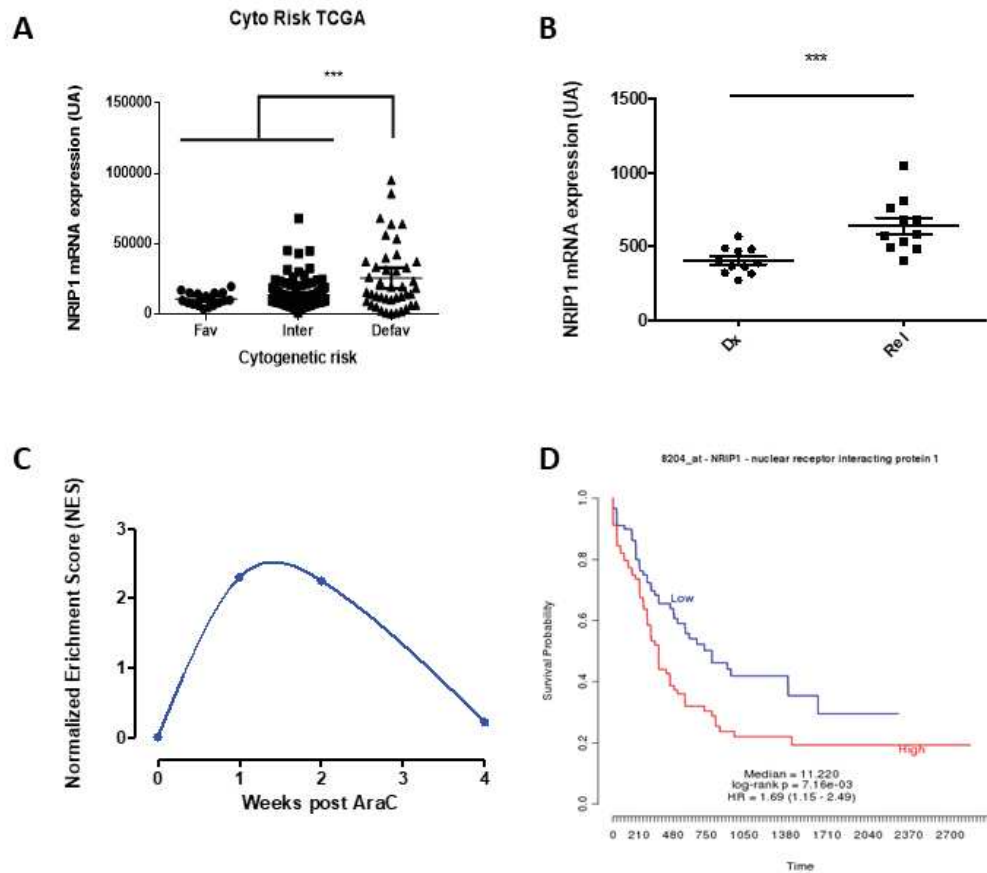


Figure 2: RIP140 is associated with a poor prognosis in AML.

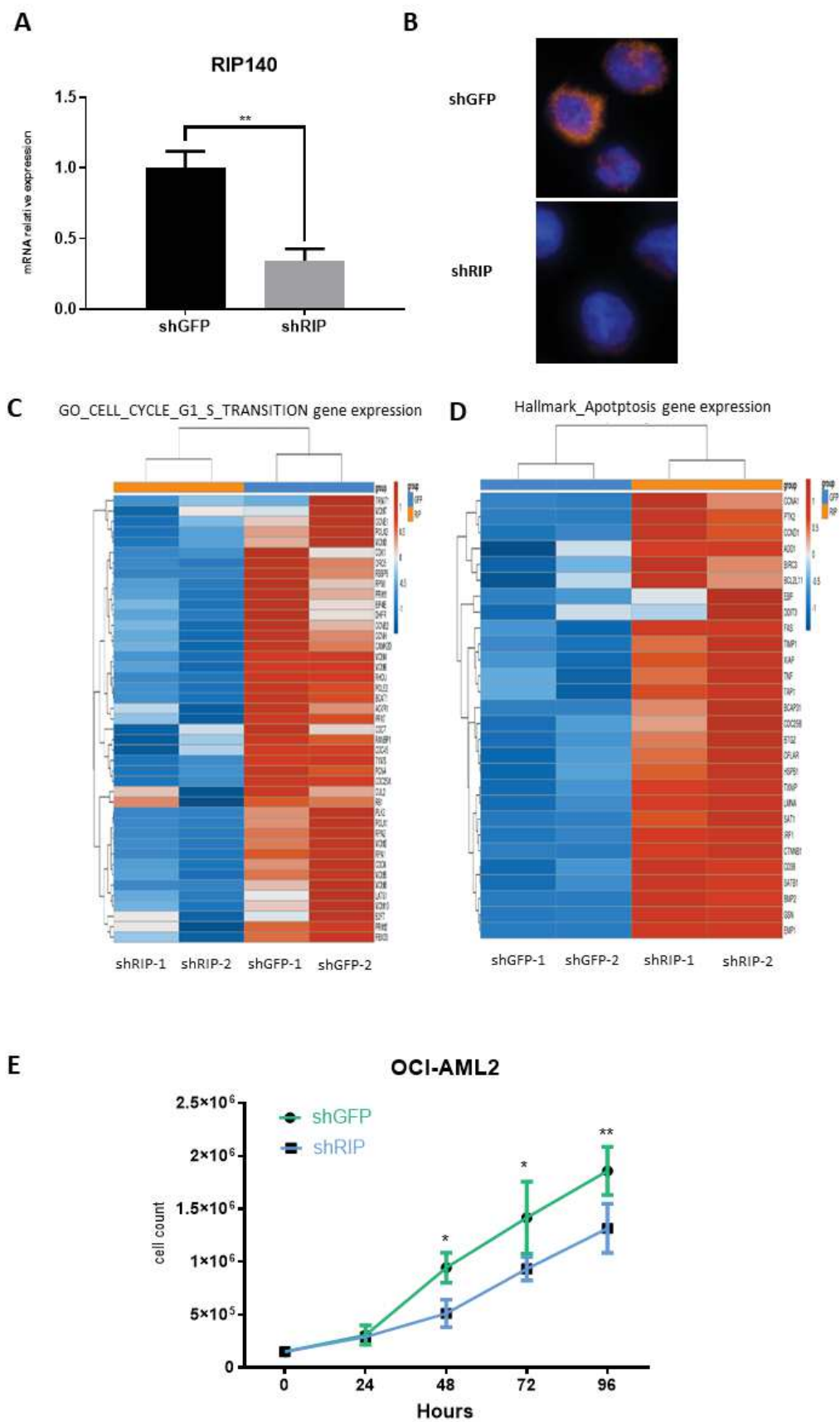


Figure 3: RIP140 knock down inhibits AML cell proliferation

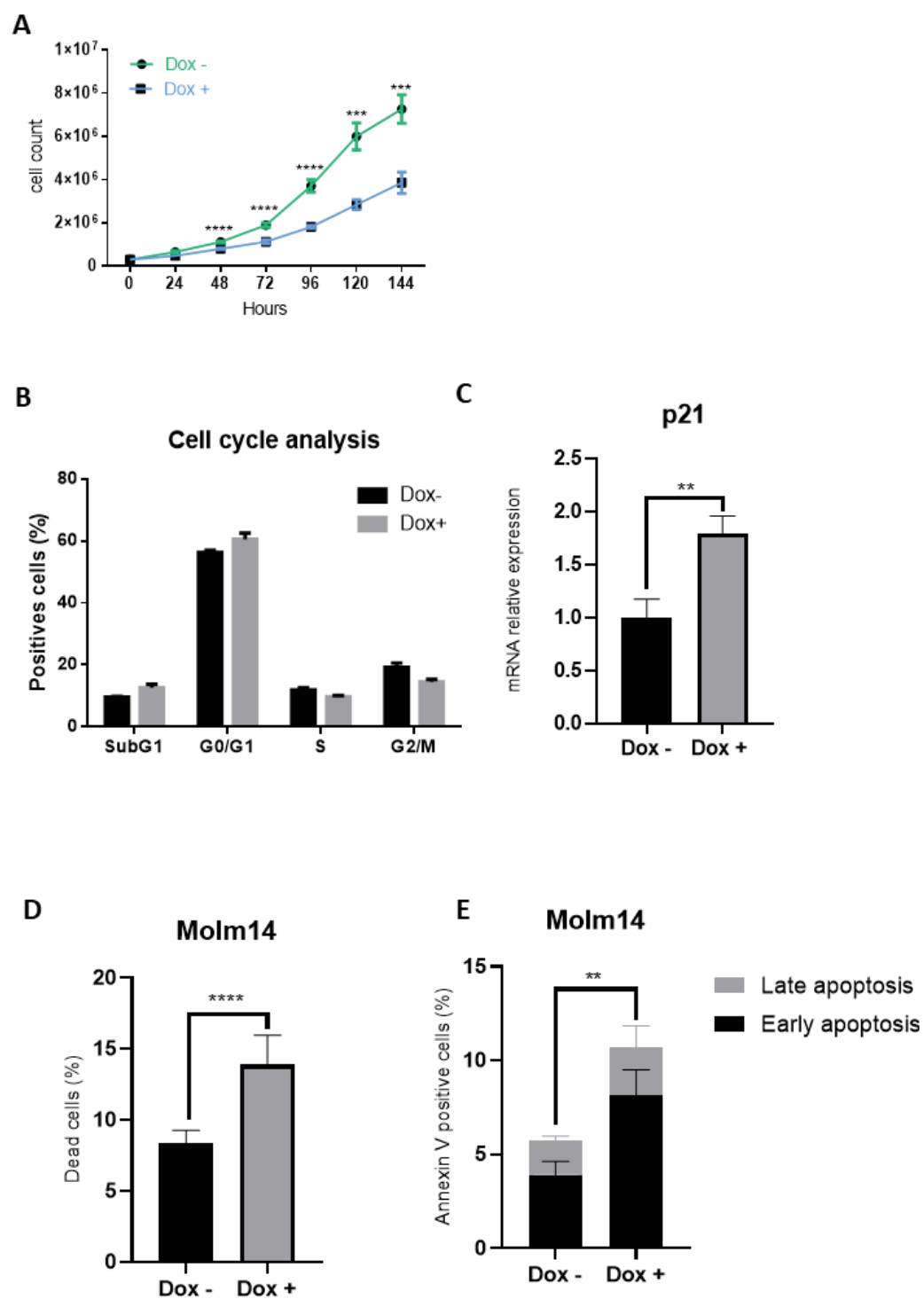


Figure 4: RIP140 controls cell cycle progression and apoptosis in AML cell lines

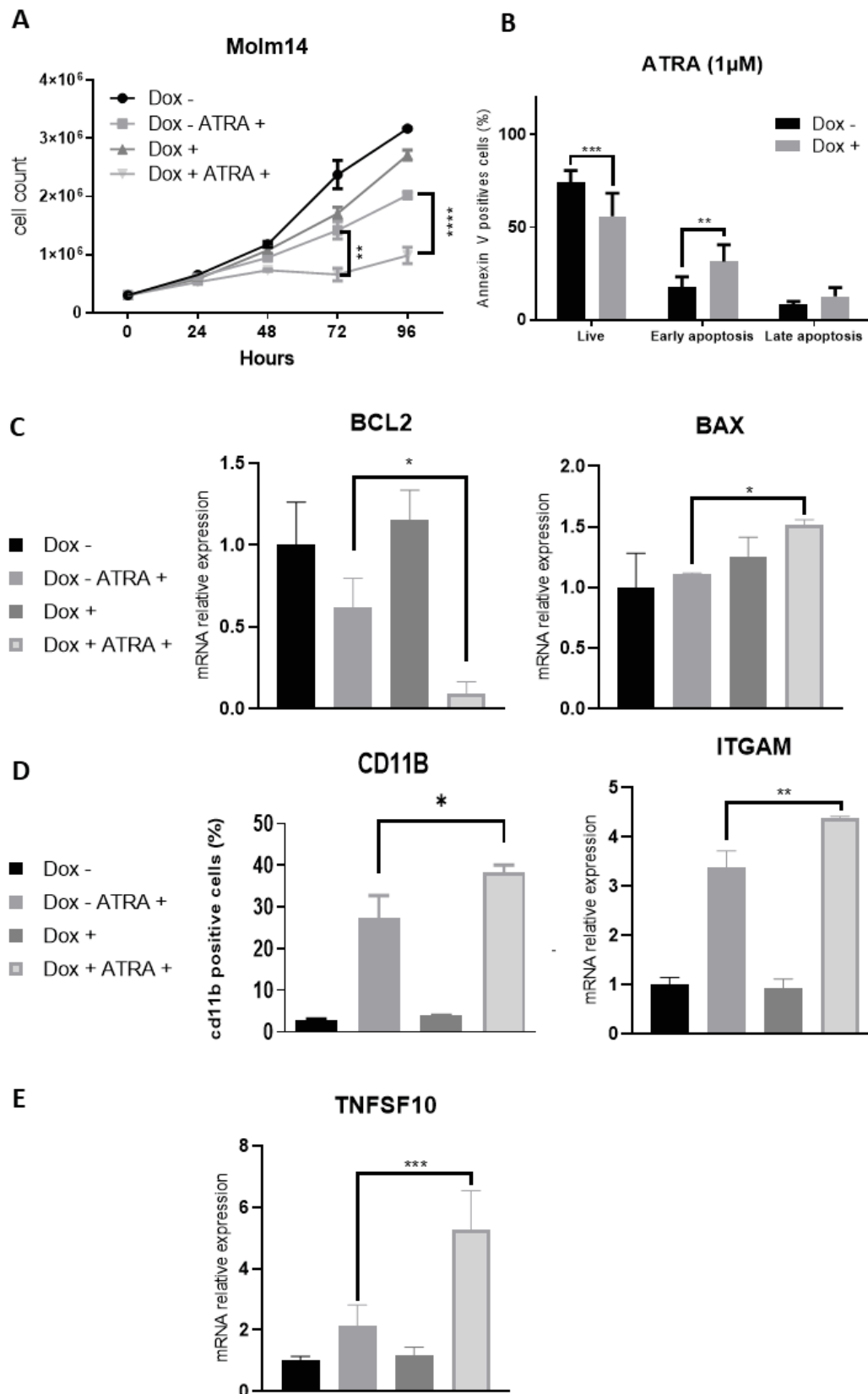
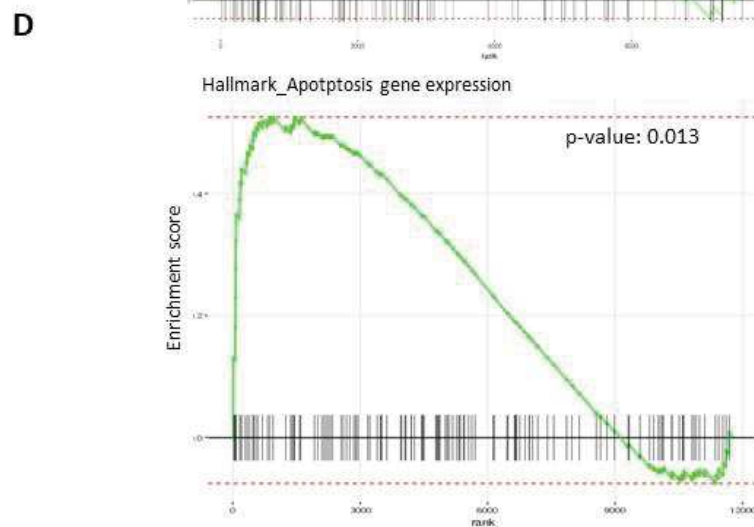
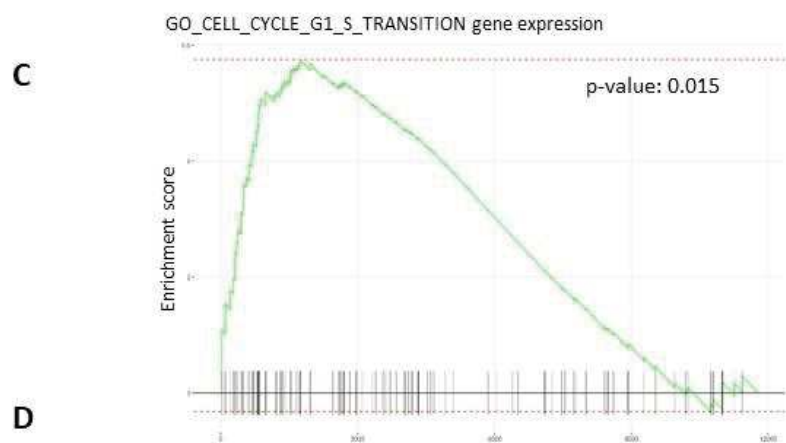
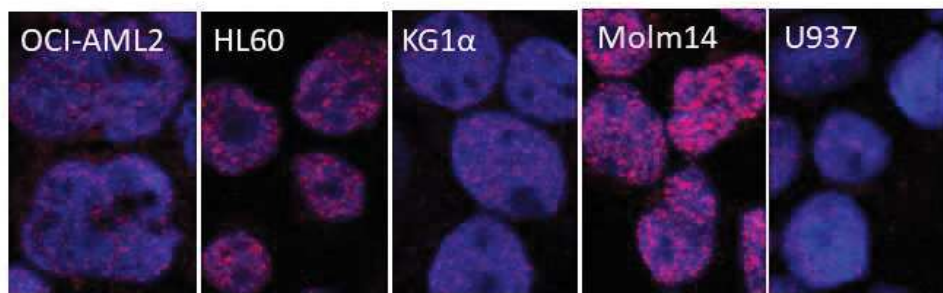
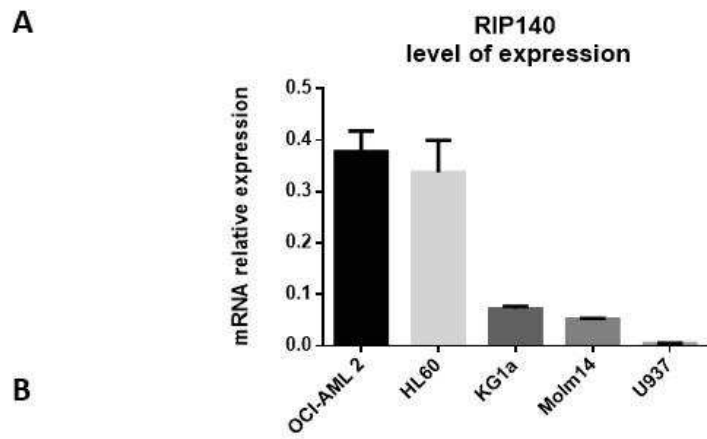


Figure 5: Knocking down RIP140 potentiates the differentiating effects of ATRA in AML cells.

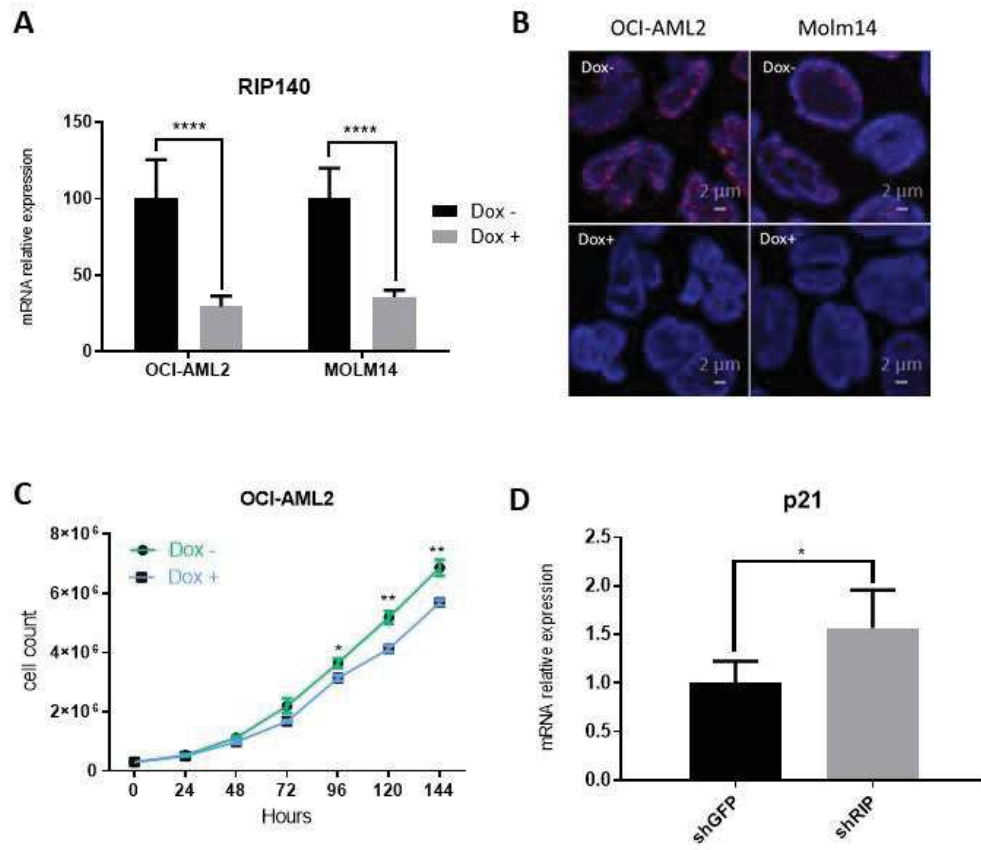
A

Database source	Number of patients	Hazard Ratio	P-value	RIP140 pronostic value
Wilson et al. Accession: ca00119	178	1.75	5.65 ^{e-03}	Poor
Metzeler et al. Accession: GSE12417	169	1.56	8.43 ^{e-03}	Poor
Metzeler et al. Accession: GSE12417	79	1.76	3.00 ^{e-04}	Poor
Bullinger et al. Accession: Bullinger_AML	163	1.24	2.76 ^{e-01}	Poor

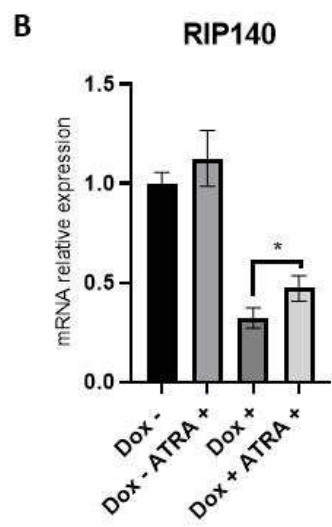
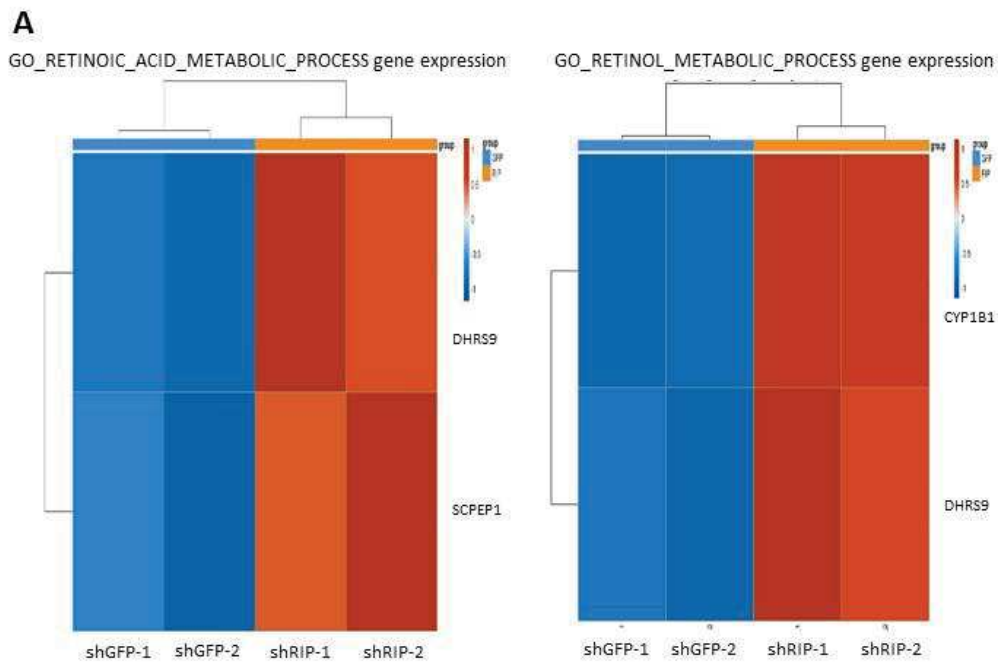
Supplementary Figure 1



Supplementary Figure 2



Supplementary Figure 3



Supplementary Figure 4

DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Durant ces trois années de thèse j'ai eu la chance de travailler sur un projet qui a amélioré les connaissances sur la fonction de RIP140 dans un contexte cancéreux, qu'il soit solide ou liquide. Mon projet de thèse a permis de caractériser le rôle de RIP140 dans le contrôle de la prolifération des cellules cancéreuses à travers la reprogrammation métabolique et la différenciation cellulaire. En effet, j'ai démontré d'un côté que RIP140 régule la prolifération dépendante du métabolisme glucidique des tumeurs mammaires *via* un contrôle du dialogue entre p53 et HIF2 α , et de l'autre qu'il est impliqué dans la prolifération et la réponse à l'ATRA dans les leucémies aiguës myéloïdes.

Ces résultats pourraient permettre une amélioration du diagnostic des patients et ainsi faciliter la prescription de traitements ciblés que ce soit pour le cancer du sein ou les AML. Cependant, les mécanismes par lesquels RIP140 régule le métabolisme glucidique des cellules de cancer du sein ou la prolifération des cellules d'AML restent à approfondir.

Dans cette partie je discuterai dans un premier temps des résultats de l'influence de RIP140 sur la régulation du métabolisme. Puis je discuterai de ses différentes interactions nouvellement identifiées ainsi que de son implication dans la différenciation des cellules hématopoïétiques et leucémiques. Je m'intéresserai ensuite à son rôle dans la prolifération cellulaire des cellules cancéreuses. Je terminerai enfin par les perspectives cliniques potentielles.

1. Contrôle du métabolisme des cellules cancéreuses par RIP140

1.1 Le gain prolifératif apporté par une déficience en RIP140 est dépendant de la glycolyse

Nous avons démontré par l'utilisation de divers inhibiteurs de la glycolyse et par des expériences de déprivation en glucose que l'inhibition de la prolifération des cellules de cancer du sein et des MEF RIPKO passe par un contrôle du métabolisme du glucose. La déprivation en glutamine affecte de la même façon les cellules contrôle et RIPKO indiquant une régulation spécifique de la glycolyse par RIP140. Cependant, il serait intéressant d'explorer une autre source d'énergie cellulaire, comme la β -oxydation. En effet, RIP140 est impliqué dans le métabolisme des lipides notamment dans les astrocytes (Feng, Lin, et Wei 2015) et les adipocytes (Hallberg et al. 2008). La β -oxydation ayant également un impact sur la prolifération des cellules cancéreuses (Rodríguez-Enríquez et al. 2015), il serait intéressant d'explorer l'impact de son inhibition sur les cellules déficientes pour RIP140.

1.2 RIP140 contrôle l'expression de gènes de la glycolyse dans le cancer du sein

RIP140 étant un régulateur transcriptionnel, nous avons investigué si ses effets sur la glycolyse provenaient de la régulation de gènes glycolytiques. Nous avons en effet constaté une augmentation de l'expression des gènes *GLUT3* et *G6PD* dans les lignées de cancer du sein ainsi que dans les MEF lorsque l'expression de RIP140 est inhibée. De plus, l'inhibition de l'expression de ces deux gènes abroge les effets sur la prolifération cellulaire induits par la perte de RIP140. Il serait également intéressant d'étudier si la régulation de ces protéines par RIP140 peut être post-traductionnelle. En effet, comme évoqué dans l'introduction, RIP140 régule également la translocation à la membrane du transporteur de glucose GLUT4 dans les adipocytes (Ho et al. 2009). Un mécanisme similaire est peut-être présent dans les lignées cancéreuses. Des expériences de *proximity ligation assay* pourraient permettre de déterminer si RIP140 est retrouvé au niveau cytoplasmique et en position d'interagir avec GLUT3 et G6PD. Des expériences de *GST-pulldown* permettraient ensuite de déterminer si cette interaction est directe ou non.

Nous avons également démontré que l'augmentation de l'expression de G6PD induit une augmentation du ratio NADPH/NADP⁺. Le NADPH étant impliqué dans la régénération du Glutathion, principale molécule utilisée dans la protection contre les ROS, une augmentation de sa concentration induite par la perte de RIP140 peut avoir un effet protecteur pour ces cellules. Il serait donc intéressant de quantifier le niveau de Glutathion, les ROS, ainsi que les dommages à l'ADN induits par ceux-ci *via* un marquage γ H2AX ou un *Comet assay*, afin de déterminer si cela influence la survie cellulaire.

1.3 RIP140 est impliqué dans la régulation de la phosphorylation oxydative dans la lignée OCI-AML2

Les données de RNAseq établies dans la lignée OCI-AML2 ont permis d'identifier les gènes de la phosphorylation oxydative comme étant moins exprimés dans les cellules RIP140 KD. Des expériences de mesure de la consommation d'oxygène mesurés par Seahorse nous permettront d'identifier si RIP140 a un impact sur la régulation de ce processus métabolique. Ces résultats seraient en accord avec l'association d'une forte expression de RIP140 avec un mauvais pronostic. En effet, une phosphorylation oxydative augmentée est une des caractéristiques des cellules leucémiques résistantes aux traitements. Si RIP140 régule positivement l'OXPPOS, cela expliquerait également pourquoi son expression est augmentée au moment de la rechute par rapport au diagnostic. Ce rôle serait cependant en opposition avec ceux précédemment décrits de régulateur négatif de l'OXPPOS dans le muscle strié squelettique (Seth et al. 2007) ou les adipocytes (Powelka et al. 2006). Néanmoins nous n'avons pas observé de modification de la consommation d'oxygène dans les MEF RIPKO, mais cela reste à déterminer dans les lignées cancéreuses. C'est pourquoi une caractérisation plus complète de l'implication de RIP140 dans la régulation de ce phénomène est nécessaire. Le rôle de RIP140 sur la régulation de la phosphorylation oxydative pourrait une nouvelle fois être tissu spécifique et en opposition entre les tumeurs solides et liquide.

2. De nouvelles interactions identifiées

2.1 RIP140 coopère avec p53 afin d'inhiber l'activité transcriptionnelle de HIF2 α

Nous avons montré pour la première fois une interaction directe entre p53, RIP140 et HIF2 α . De plus, une réduction de l'expression de RIP140 induit une baisse et une hausse de l'expression de p53 et HIF2 α , respectivement. Plusieurs questions restent à élucider sur ces points. Premièrement, est-ce que RIP140 interagit directement avec HIF-2 α ? En effet, nous avons démontré la présence concomitante des trois protéines grâce à des expériences de *proximity ligation assay*. Cependant il serait intéressant de voir, notamment avec des expériences de GST *Pulldown*, si RIP140 est également capable d'interagir directement avec HIF-2 α afin de moduler ses effets. Des expériences de mutagenèse pourraient également permettre de déterminer quels domaines permettent l'interaction avec HIF-2 α , si cette modulation directe des effets de HIF-2 α passe par un blocage des domaines effecteurs ou par modification conformationnelle de la protéine.

Deuxièmement, est-ce que RIP140 est directement impliqué dans la régulation de l'expression de HIF-2 α ? En effet, nous avons vu qu'une réduction de l'expression de RIP140 entraîne une augmentation de l'expression de HIF-2 α . Les mécanismes post-traductionnels mis en place pour réguler le niveau de HIF sont bien connus, cependant ceux mis en jeu au niveau transcriptionnel restent à élucider. Il reste donc à déterminer quel(s) facteur(s) de transcription est responsable de la transcription de HIF-2 α et si RIP140 interagit avec lui/eux.

Nous l'avons vu au cours de ce manuscrit, RIP140 est un régulateur du métabolisme, mais également de la différenciation cellulaire. C'est pourquoi nous sommes également aller explorer cette voie dans les AML, dont le blocage de la différenciation est une des caractéristiques majeures.

2.2 Interactions de RIP140 avec les RAR

Nous avons montré que la diminution de l'expression de RIP140 potentialise les effets de l'ATRA. Il reste cependant à démontrer l'interaction directe entre RIP140, RAR et la spécificité de celle-ci dans les lignées d'AML. En effet les RAR existent sous trois formes : α , β et γ et leurs effets sur les cellules hématopoïétiques peuvent être opposés. L'activation de RAR γ favorise le renouvellement des cellules souches alors qu'une activation de RAR α favorise quant à elle la différenciation (Chee et al. 2013). Par l'utilisation d'inhibiteurs et de siRNA spécifiques de chaque isoforme nous pourrions déterminer par quels récepteurs de l'acide rétinoïque les effets de RIP140 sont relayés et ainsi peut être expliquer en partie ses effets. Il serait également intéressant de mesurer les effets de RIP140 sur l'activité

transcriptionnelle de RXR grâce à des expériences gènes rapporteurs. En effet RXR contrôle également la différenciation des cellules hématopoïétiques, il peut être activé par le traitement à l'ATRA (Sanchez et al. 2014) et est un partenaire connu de RIP140. Une partie des effets de RIP140 pourrait donc se faire *via* une interaction avec ce récepteur nucléaire.

3. Implication de RIP140 dans la différenciation

3.1 L'expression de RIP140 diminue au cours de la différenciation des cellules hématopoïétiques.

Le niveau élevé de RIP140 dans les cellules souches hématopoïétiques suggère qu'il pourrait être impliqué dans le maintien de leur potentiel souche. C'est le cas dans les cryptes intestinales où RIP140 est impliqué dans la régulation du potentiel souche, comme semble l'indiquer des travaux en cours de notre équipe. De plus, la signalisation de la vitamine A, qui est une des principales voies de signalisation impliquée dans la régulation de l'hématopoïèse, est régulée par RIP140. En effet, il a déjà été identifié comme régulateur du maintien de la pluripotence notamment par l'inhibition des gènes cibles de la signalisation RA dans des cellules souches embryonnaires saines (Wu, Feng, et Wei 2014), cancéreuses (Heim et al. 2007) et neurales (Mu et al. 2018). De surcroît, RIP140 est impliqué dans la différenciation des monocytes/macrophages associés au tissu osseux grâce à la formation d'un complexe avec TR4 (Lee et al. 2017). Il serait donc intéressant d'inhiber l'expression de RIP140 dans les cellules souches hématopoïétiques pour étudier si cela est suffisant pour initier un processus de différenciation. L'étude d'une surexpression de RIP140 dans ces cellules pourrait également nous donner des informations cruciales sur son rôle dans l'hématopoïèse et le développement de leucémies. Il a été montré que les patients atteints de Trisomie 21 présente un risque accru de développer une leucémie (Bhatnagar et al. 2016). Le gène de *RIP140* étant présent sur le chromosome 21, il serait intéressant d'étudier son implication dans le développement de ces maladies. Pour ce faire, notre équipe a pour projet de générer des souris avec une surexpression conditionnelle de RIP140 dans les cellules souches hématopoïétiques. Grâce à un croisement entre des souris possédant la séquence du gène *RIP140* flanquée de sites loxP avec des souris possédant la séquence de la Cre recombinase sous le contrôle du promoteur *Mx1*, la surexpression de RIP140 se fera de manière exclusive dans les cellules hématopoïétiques. Diverses expériences comme des numérations de formule sanguine et des analyses histologiques et en cytométrie en flux nous permettront de mesurer l'impact d'une surexpression RIP140 dans ce tissu. Ces expériences pourraient également nous permettre de déterminer pourquoi une forte expression de RIP140 est associée à un bon pronostic dans les CLL au contraire des AML.

3.2 RIP140 potentialise les effets de l'ATRA sur les cellules d'AML

Nous avons démontré que la perte d'expression de RIP140 potentialise les effets de l'ATRA dans les lignées OCI-AML2 et MOLM14, que ce soit au niveau prolifératif ainsi qu'au niveau de l'expression de marqueurs de différenciation. Ces résultats peuvent potentiellement s'expliquer par la régulation négative de la signalisation RA évoqués auparavant. Il serait également intéressant de tester d'autres agents différenciants comme la vitamine D et ses analogues (Cao et al. 2017), qui ciblent quant à eux le récepteur à la vitamine D comme facteur de transcription régulant la différenciation. Enfin il serait également intéressant de tester la sensibilité des cellules RIP140 déficientes aux inhibiteurs de HDAC, seuls ou en combinaison avec un agent de différenciation, compte tenu du recrutement de ces dernières par RIP140.

4. Contrôle de la prolifération cellulaire des cellules cancéreuses par RIP140

Mes résultats démontrent qu'une diminution de l'expression de RIP140 influence le rythme de prolifération de différentes lignées cancéreuses. Cependant, une déplétion de l'expression de RIP140 dans les tumeurs solides augmente leur prolifération alors que l'effet inverse est observé dans les cellules d'AML. Pour expliquer ces disparités d'effet, je vais donc dans un premier temps aborder les tumeurs solides pour ensuite m'attaquer aux tumeurs liquides.

4.1 Influence de RIP140 sur la prolifération des cancers solides

Nous avons montré qu'une diminution de l'expression de RIP140 dans des lignées de cancer du sein, de colon, de la prostate mais également dans des MEF transformés induit une augmentation de la prolifération cellulaire. Bien qu'en accord avec les résultats précédemment obtenus par notre équipe (Docquier et al. 2010) (Jalaguier et al. 2017), ceux-ci sont en opposition avec les résultats observés par d'autres équipes (Yu et al. 2018) (Aziz et al. 2015). Cela peut s'expliquer notamment par les différentes lignées utilisées dans les différents travaux de recherches mais également par la méthode utilisée pour modifier l'expression de RIP140. En effet, une diminution de l'expression de RIP140 de manière transitoire ou stable n'aura pas forcément la même incidence sur les cellules, notamment dû aux effets d'adaptation de celles-ci. De plus, certains effets sur la prolifération ont été observés après surexpression de RIP140, ce qui peut engendrer l'obtention d'effets exacerbés. En effet, les effets de RIP140 sur la prolifération suivent dans la plupart des cas une fonction gaussienne, un niveau trop élevé de son expression sortira donc des effets physiologiques. Enfin, nous avons démontré, et nous en discuterons dans la partie suivante, que cette prolifération est dépendante de la glycolyse dans les cellules de cancer du sein. Ces différences pourraient donc s'expliquer par l'apport

en nutriment, et notamment en glucose, *via* le milieu de culture dans ces différents travaux. Ces différents résultats montrent que les effets de RIP140 sur la prolifération sont régulés de manière fine et soulignent également la dualité de ses effets, qui varient en fonction de son niveau d'expression et du contexte cellulaire. Enfin, des expériences complémentaires de viabilité et de cycle cellulaire pourraient permettre de déterminer si cet effet sur la prolifération est cytostatique ou cytotoxique.

4.2 Influence de RIP140 sur la prolifération des cancers liquides

Le rôle de RIP140 dans la lignée hématopoïétique étant encore indéterminé, la question restait ouverte quant à son influence possible sur la prolifération cellulaire. Nous avons pu déterminer qu'une diminution de l'expression de RIP140, de manière stable ou transitoire, induit une diminution de la prolifération cellulaire *via* une augmentation de l'apoptose. Il est intéressant de noter que nous n'avons pas reproduit cet effet sur la lignée HL-60 (non montré). Cela peut nous donner un indice sur les mécanismes moléculaires impliqués dans cette régulation. En effet, la lignée HL-60 est la seule des trois lignées testées à ne pas exprimer p53. Compte tenu de nos résultats montrant une interaction entre RIP140 et p53, il pourrait être intéressant d'étudier l'effet d'une diminution des deux protéines à la fois sur la prolifération de ces cellules.

Il serait également intéressant de voir si cet effet peut être inversé par une surexpression de RIP140, avec les désavantages que nous avons précédemment abordés, notamment dans la lignée U937 qui possède un niveau d'expression faible de la protéine. Enfin, tous ces résultats doivent être reproduits *in vivo* grâce à des xénogreffes chez des souris NOD SCID, notamment dû au fait que le microenvironnement tumoral de la moelle osseuse est très influent sur les cellules leucémiques et plus particulièrement sur leur survie (Shafat et al. 2017).

5. Potentiels cliniques

Le principal problème d'un ciblage thérapeutique de RIP140 dans une pathologie est qu'il n'existe pas d'inhibiteur le ciblant spécifiquement à l'heure actuelle. Cependant des molécules comme la simvastatin, un hypolipidémiant, ou certaines hormones, sont capables d'induire l'expression de RIP140 (Xia et al. 2018). Ce genre de traitement pourrait être utilisé en combinaison avec des chimiothérapies dans les cancers où l'expression de RIP140 est de bon pronostic, comme c'est le cas dans le cancer du sein.

Le fait de ne pas pouvoir cibler directement RIP140 implique donc que son potentiel clinique réside dans l'aide au diagnostic. En effet, nous avons démontré que les cellules de cancer du sein déficientes pour RIP140 sont plus sensibles à une inhibition de la glycolyse. Le dosage de l'expression de RIP140,

GLUT3 et G6PD dans ces cancers pourrait permettre de prévoir l'efficacité des différents inhibiteurs de la glycolyse qui sont actuellement en essais cliniques (Akins, Nielson, et Le 2018). Le dosage de l'expression de RIP140, p53 et HIF2 α pourra également s'avérer intéressant comme marqueurs d'un état hypoxique, et ainsi aider à la mise en place de traitements basés sur le niveau d'hypoxie de la tumeur (Walsh et al. 2014).

Dans le cadre de la leucémie aiguë myéloïde, nous avons démontré que RIP140 est associé à un mauvais pronostic. Si nous parvenons à confirmer qu'il est impliqué dans la sensibilité aux agents différenciants ou aux inhibiteurs de HDAC, RIP140 pourrait servir de marqueur de l'efficacité de ces différents traitements et donc élargir leur utilisation au traitement des AML non-APL. Enfin, si nous confirmons l'implication de RIP140 dans la régulation de l'O₂PHOS, il pourra également servir de marqueur du risque de résistance aux traitements chimiothérapeutiques.

Bibliographie

- Abdelwahab, Mohammed G., Kathryn E. Fenton, Mark C. Preul, Jong M. Rho, Andrew Lynch, Phillip Stafford, et Adrienne C. Scheck. 2012. « The Ketogenic Diet Is an Effective Adjuvant to Radiation Therapy for the Treatment of Malignant Glioma ». *PloS One* 7 (5): e36197. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036197>.
- Akins, Nicholas S., Tanner C. Nielson, et Hoang V. Le. 2018. « Inhibition of Glycolysis and Glutaminolysis: An Emerging Drug Discovery Approach to Combat Cancer ». *Current Topics in Medicinal Chemistry* 18 (6): 494-504. <https://doi.org/10.2174/1568026618666180523111351>.
- Albers, Michael, Harald Kranz, Ingo Kober, Carmen Kaiser, Martin Klink, Jörg Suckow, Rainer Kern, et Manfred Koegl. 2005. « Automated Yeast Two-Hybrid Screening for Nuclear Receptor-Interacting Proteins ». *Molecular & Cellular Proteomics: MCP* 4 (2): 205-13. <https://doi.org/10.1074/mcp.M400169-MCP200>.
- Alfayez, Mansour, Hagop Kantarjian, Tapan Kadia, Farhad Ravandi-Kashani, et Naval Daver. 2020. « CPX-351 (Vyxeos) in AML ». *Leukemia & Lymphoma* 61 (2): 288-97. <https://doi.org/10.1080/10428194.2019.1660970>.
- Allen, Bryan G., Sudershan K. Bhatia, John M. Buatti, Kristin E. Brandt, Kaleigh E. Lindholm, Anna M. Button, Luke I. Szweda, Brian J. Smith, Douglas R. Spitz, et Melissa A. Fath. 2013. « Ketogenic Diets Enhance Oxidative Stress and Radio-Chemo-Therapy Responses in Lung Cancer Xenografts ». *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 19 (14): 3905-13. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-0287>.
- Almond, L. Max, Maria Charalampakis, Samuel J. Ford, David Gourevitch, et Anant Desai. 2017. « Myeloid Sarcoma: Presentation, Diagnosis, and Treatment ». *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia* 17 (5): 263-67. <https://doi.org/10.1016/j.clml.2017.02.027>.
- An, J., R. C. Ribeiro, P. Webb, J. A. Gustafsson, P. J. Kushner, J. D. Baxter, et D. C. Leitman. 1999. « Estradiol Repression of Tumor Necrosis Factor-Alpha Transcription Requires Estrogen Receptor Activation Function-2 and Is Enhanced by Coactivators ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96 (26): 15161-66. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.26.15161>.
- An, W. G., M. Kanekal, M. C. Simon, E. Maltepe, M. V. Blagosklonny, et L. M. Neckers. 1998. « Stabilization of Wild-Type P53 by Hypoxia-Inducible Factor 1alpha ». *Nature* 392 (6674): 405-8. <https://doi.org/10.1038/32925>.

- Ancey, Pierre-Benoit, Caroline Contat, et Etienne Meylan. 2018. « Glucose Transporters in Cancer – from Tumor Cells to the Tumor Microenvironment ». *The FEBS Journal* 285 (16): 2926-43. <https://doi.org/10.1111/febs.14577>.
- Ao, Ada, Heiman Wang, Sushama Kamarajugadda, et Jianrong Lu. 2008. « Involvement of Estrogen-Related Receptors in Transcriptional Response to Hypoxia and Growth of Solid Tumors ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105 (22): 7821-26. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711677105>.
- Arana Yi, Cecilia Y., Hagop M. Kantarjian, Guillermo Garcia-Manero, William G. Wierda, Gautam Borthakur, Alfonso Quintas-Cardama, Marina Konopleva, et al. 2012. « Comparing Outcomes of Patients with Secondary AML: Treatment-Related MDS/AML, AML Secondary to Myeloproliferative Neoplasms (t-MPN), and AML with Prior Malignancies ». *Blood* 120 (21): 3557-3557. <https://doi.org/10.1182/blood.V120.21.3557.3557>.
- Arber, Daniel A., Attilio Orazi, Robert Hasserjian, Jürgen Thiele, Michael J. Borowitz, Michelle M. Le Beau, Clara D. Bloomfield, Mario Cazzola, et James W. Vardiman. 2016. « The 2016 Revision to the World Health Organization Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemia ». *Blood* 127 (20): 2391-2405. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-03-643544>.
- Aroua, Nesrine, Emeline Boet, Margherita Ghisi, Marie-Laure Nicolau-Travers, Estelle Saland, Ryan Gwilliam, Fabienne de Toni, et al. 2020. « Extracellular ATP and CD39 Activate CAMP-Mediated Mitochondrial Stress Response to Promote Cytarabine Resistance in Acute Myeloid Leukemia ». *Cancer Discovery* 10 (10): 1544-65. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-19-1008>.
- Augereau, Patrick, Eric Badia, Sophie Carascossa, Audrey Castet, Samuel Fritsch, Pierre-Olivier Harmand, Stéphan Jalaguier, et Vincent Cavailès. 2006. « The nuclear receptor transcriptional coregulator RIP140 ». *Nuclear Receptor Signaling* 4 (octobre). <https://doi.org/10.1621/nrs.04024>.
- Augereau, Patrick, Eric Badia, Maryse Fuentes, Fanja Rabenoelina, Marine Corniou, Danièle Derocq, Patrick Balaguer, et Vincent Cavailles. 2006. « Transcriptional Regulation of the Human NRIP1/RIP140 Gene by Estrogen Is Modulated by Dioxin Signalling ». *Molecular Pharmacology* 69 (4): 1338-46. <https://doi.org/10.1124/mol.105.017376>.
- Avvisati, G., F. Lo Coco, D. Diverio, M. Falda, F. Ferrara, M. Lazzarino, D. Russo, M. C. Petti, et F. Mandelli. 1996. « AIDA (All-Trans Retinoic Acid + Idarubicin) in Newly Diagnosed Acute Promyelocytic Leukemia: A Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne Dell'Adulto (GIMEMA) Pilot Study ». *Blood* 88 (4): 1390-98.
- Aziz, Moammir H., Xundi Chen, Qi Zhang, Chad DeFrain, Jared Osland, Yizhou Luo, Xin Shi, et Rong Yuan. 2015. « Suppressing NRIP1 inhibits growth of breast cancer cells in vitro and in vivo ». *Oncotarget* 6 (37): 39714-24.

- Bacelli, Irène, Yves Gareau, Bernhard Lehnertz, Stéphane Gingras, Jean-François Spinella, Sophie Corneau, Nadine Mayotte, et al. 2019. « Mubritinib Targets the Electron Transport Chain Complex I and Reveals the Landscape of OXPHOS Dependency in Acute Myeloid Leukemia ». *Cancer Cell* 36 (1): 84-99.e8. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2019.06.003>.
- Bache, Matthias, Svetlana Rot, Jacqueline Keßler, Antje Güttler, Henri Wichmann, Thomas Greither, Sven Wach, et al. 2015. « MRNA Expression Levels of Hypoxia-Induced and Stem Cell-Associated Genes in Human Glioblastoma ». *Oncology Reports* 33 (6): 3155-61. <https://doi.org/10.3892/or.2015.3932>.
- Bacigalupo, Andrea, Karen Ballen, Doug Rizzo, Sergio Giralt, Hillard Lazarus, Vincent Ho, Jane Apperley, et al. 2009. « Defining the Intensity of Conditioning Regimens: Working Definitions ». *Biology of Blood and Marrow Transplantation: Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* 15 (12): 1628-33. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2009.07.004>.
- Baldus, Claudia D., Sandya Liyanarachchi, Krzysztof Mrózek, Herbert Auer, Stephan M. Tanner, Martin Guimond, Amy S. Ruppert, et al. 2004. « Acute Myeloid Leukemia with Complex Karyotypes and Abnormal Chromosome 21: Amplification Discloses Overexpression of APP, ETS2, and ERG Genes ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (11): 3915-20. <https://doi.org/10.1073/pnas.0400272101>.
- Barbosa, Ana M., et Fátima Martel. 2020. « Targeting Glucose Transporters for Breast Cancer Therapy: The Effect of Natural and Synthetic Compounds ». *Cancers* 12 (1). <https://doi.org/10.3390/cancers12010154>.
- Baron, Jeffrey, et Eunice S. Wang. 2018. « Gemtuzumab Ozogamicin for the Treatment of Acute Myeloid Leukemia ». *Expert Review of Clinical Pharmacology* 11 (6): 549-59. <https://doi.org/10.1080/17512433.2018.1478725>.
- Bar-Shavit, Zvi. 2007. « The Osteoclast: A Multinucleated, Hematopoietic-Origin, Bone-Resorbing Osteoimmune Cell ». *Journal of Cellular Biochemistry* 102 (5): 1130-39. <https://doi.org/10.1002/jcb.21553>.
- Beckner, Marie E., Wendy Fellows-Mayle, Zhe Zhang, Naomi R. Agostino, Jeffrey A. Kant, Billy W. Day, et Ian F. Pollack. 2010. « Identification of ATP Citrate Lyase as a Positive Regulator of Glycolytic Function in Glioblastomas ». *International Journal of Cancer* 126 (10): 2282-95. <https://doi.org/10.1002/ijc.24918>.

- Bejanyan, Nelli, Daniel J. Weisdorf, Brent R. Logan, Hai-Lin Wang, Steven M. Devine, Marcos de Lima, Donald W. Bunjes, et Mei-Jie Zhang. 2015. « Survival of Patients with Acute Myeloid Leukemia Relapsing after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: A Center for International Blood and Marrow Transplant Research Study ». *Biology of Blood and Marrow Transplantation: Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* 21 (3): 454-59. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2014.11.007>.
- Bensaad, Karim, Atsushi Tsuruta, Mary A. Selak, M. Nieves Calvo Vidal, Katsunori Nakano, Ramon Bartrons, Eyal Gottlieb, et Karen H. Vousden. 2006. « TIGAR, a P53-Inducible Regulator of Glycolysis and Apoptosis ». *Cell* 126 (1): 107-20. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.05.036>.
- Benton, Carley R., David C. Wright, et Arend Bonen. 2008. « PGC-1alpha-Mediated Regulation of Gene Expression and Metabolism: Implications for Nutrition and Exercise Prescriptions ». *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquée, Nutrition Et Metabolisme* 33 (5): 843-62. <https://doi.org/10.1139/H08-074>.
- Berg, Jeremy M., John L. Tymoczko, et Lubert Stryer. 2002. « Glycolysis Is an Energy-Conversion Pathway in Many Organisms ». *Biochemistry. 5th Edition*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22593/>.
- Bergström, J., P. Fürst, L. O. Norée, et E. Vinnars. 1974. « Intracellular Free Amino Acid Concentration in Human Muscle Tissue ». *Journal of Applied Physiology* 36 (6): 693-97. <https://doi.org/10.1152/jappl.1974.36.6.693>.
- Bernard, Olivier A., François Delhommeau, Michaela Fontenay, et William Vainchenker. 2009. « Mutations du gène *TET2* dans les hémopathies myéloïdes humaines ». *médecine/sciences* 25 (10): 785-88. <https://doi.org/10.1051/medsci/20092510785>.
- Berriel Diaz, Mauricio, Anja Krones-Herzig, Dagmar Metzger, Anja Ziegler, Alexandros Vegiopoulos, Martin Klingenspor, Karin Müller-Decker, et Stephan Herzig. 2008. « Nuclear Receptor Cofactor Receptor Interacting Protein 140 Controls Hepatic Triglyceride Metabolism during Wasting in Mice ». *Hepatology (Baltimore, Md.)* 48 (3): 782-91. <https://doi.org/10.1002/hep.22383>.
- Bhatnagar, Neha, Laure Nizery, Oliver Tunstall, Paresh Vyas, et Irene Roberts. 2016. « Transient Abnormal Myelopoiesis and AML in Down Syndrome: An Update ». *Current Hematologic Malignancy Reports* 11 (5): 333-41. <https://doi.org/10.1007/s11899-016-0338-x>.
- Birket, Matthew J., Adam L. Orr, Akos A. Gerencser, David T. Madden, Cathy Vitelli, Andrzej Swistowski, Martin D. Brand, et Xianmin Zeng. 2011. « A reduction in ATP demand and mitochondrial activity with neural differentiation of human embryonic stem cells ». *Journal of Cell Science* 124 (3): 348-58. <https://doi.org/10.1242/jcs.072272>.

- Boddu, Prajwal, Hagop M. Kantarjian, Guillermo Garcia-Manero, Farhad Ravandi, Srdan Verstovsek, Elias Jabbour, Gautam Borthakur, et al. 2017. « Treated Secondary Acute Myeloid Leukemia: A Distinct High-Risk Subset of AML with Adverse Prognosis ». *Blood Advances* 1 (17): 1312-23. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2017008227>.
- Bosc, Claudie, Nicolas Broin, Marjorie Fanjul, Estelle Saland, Thomas Farge, Charly Courdy, Aurélie Batut, et al. 2020. « Autophagy Regulates Fatty Acid Availability for Oxidative Phosphorylation through Mitochondria-Endoplasmic Reticulum Contact Sites ». *Nature Communications* 11 (1): 4056. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17882-2>.
- Boutzen, Héléna, Estelle Saland, Clément Larrue, Fabienne de Toni, Lara Gales, Florence A. Castelli, Mathilde Cathebas, et al. 2016. « Isocitrate Dehydrogenase 1 Mutations Prime the All-Trans Retinoic Acid Myeloid Differentiation Pathway in Acute Myeloid Leukemia ». *Journal of Experimental Medicine* 213 (4): 483-97. <https://doi.org/10.1084/jem.20150736>.
- Burnett, Alan K., Nigel H. Russell, Robert K. Hills, Ann E. Hunter, Lars Kjeldsen, John Yin, Brenda E. S. Gibson, Keith Wheatley, et Donald Milligan. 2013. « Optimization of Chemotherapy for Younger Patients with Acute Myeloid Leukemia: Results of the Medical Research Council AML15 Trial ». *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 31 (27): 3360-68. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.47.4874>.
- Burnett, Alan K., Nigel H. Russell, Robert K. Hills, Jonathan Kell, Jamie Cavenagh, Lars Kjeldsen, Mary-Frances McMullin, et al. 2015. « A Randomized Comparison of Daunorubicin 90 Mg/M2 vs 60 Mg/M2 in AML Induction: Results from the UK NCRI AML17 Trial in 1206 Patients ». *Blood* 125 (25): 3878-85. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-01-623447>.
- Burnett, Alan K., Nigel H. Russell, Robert K. Hills, et United Kingdom National Cancer Research Institute Acute Myeloid Leukemia Study Group. 2016. « Higher Daunorubicin Exposure Benefits FLT3 Mutated Acute Myeloid Leukemia ». *Blood* 128 (3): 449-52. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-04-712091>.
- Buzzai, Monica, Daniel E. Bauer, Russell G. Jones, Ralph J. Deberardinis, Georgia Hatzivassiliou, Rebecca L. Elstrom, et Craig B. Thompson. 2005. « The Glucose Dependence of Akt-Transformed Cells Can Be Reversed by Pharmacologic Activation of Fatty Acid Beta-Oxidation ». *Oncogene* 24 (26): 4165-73. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208622>.
- Cai, Q., T. Lin, S. Kamarajugadda, et J. Lu. 2013. « Regulation of Glycolysis and the Warburg Effect by Estrogen-Related Receptors ». *Oncogene* 32 (16): 2079-86. <https://doi.org/10.1038/onc.2012.221>.

- Cai, Tianchi, Yingmin Kuang, Chunhua Zhang, Zheng Zhang, Long Chen, Bo Li, Yuqian Li, et al. 2015. « Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase and NADPH Oxidase 4 Control STAT3 Activity in Melanoma Cells through a Pathway Involving Reactive Oxygen Species, c-SRC and SHP2 ». *American Journal of Cancer Research* 5 (5): 1610-20.
- Cancer Genome Atlas Research Network, Timothy J. Ley, Christopher Miller, Li Ding, Benjamin J. Raphael, Andrew J. Mungall, A. Gordon Robertson, et al. 2013. « Genomic and Epigenomic Landscapes of Adult de Novo Acute Myeloid Leukemia ». *The New England Journal of Medicine* 368 (22): 2059-74. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1301689>.
- Cañete, Ana, Elena Cano, Ramón Muñoz-Chápuli, et Rita Carmona. 2017. « Role of Vitamin A/Retinoic Acid in Regulation of Embryonic and Adult Hematopoiesis ». *Nutrients* 9 (2). <https://doi.org/10.3390/nu9020159>.
- Cao, Huynh, Yi Xu, Rosalia de Necochea-Campion, David J. Baylink, Kimberly J. Payne, Xiaolei Tang, Christina Ratanatharathorn, Yong Ji, Saied Mirshahidi, et Chien-Shing Chen. 2017. « Application of Vitamin D and Vitamin D Analogs in Acute Myelogenous Leukemia ». *Experimental Hematology* 50: 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2017.01.007>.
- Carascossa, Sophie, Jérôme Gobinet, Virginie Georget, Annick Lucas, Eric Badia, Audrey Castet, Roger White, Jean-Claude Nicolas, Vincent Cavaillès, et Stéphane Jalaguier. 2006. « Receptor-Interacting Protein 140 Is a Repressor of the Androgen Receptor Activity ». *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)* 20 (7): 1506-18. <https://doi.org/10.1210/me.2005-0286>.
- Castet, Audrey, Abdelhay Boulahtouf, Gwennaëlle Versini, Sandrine Bonnet, Patrick Augereau, Françoise Vignon, Saadi Khochbin, Stéphane Jalaguier, et Vincent Cavaillès. 2004. « Multiple Domains of the Receptor-Interacting Protein 140 Contribute to Transcription Inhibition ». *Nucleic Acids Research* 32 (6): 1957-66. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh524>.
- Castet, Audrey, Adrien Herledan, Sandrine Bonnet, Stéphane Jalaguier, Jean-Marc Vanacker, et Vincent Cavaillès. 2006. « Receptor-Interacting Protein 140 Differentially Regulates Estrogen Receptor-Related Receptor Transactivation Depending on Target Genes ». *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)* 20 (5): 1035-47. <https://doi.org/10.1210/me.2005-0227>.
- Cavaillès, V., S. Dauvois, P. S. Danielian, et M. G. Parker. 1994. « Interaction of Proteins with Transcriptionally Active Estrogen Receptors ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91 (21): 10009-13. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.21.10009>.

- Cavaillès, V., S. Dauvois, F. L'Horset, G. Lopez, S. Hoare, P. J. Kushner, et M. G. Parker. 1995. « Nuclear Factor RIP140 Modulates Transcriptional Activation by the Estrogen Receptor ». *The EMBO Journal* 14 (15): 3741-51.
- Cerychova, Radka, et Gabriela Pavlinkova. 2018. « HIF-1, Metabolism, and Diabetes in the Embryonic and Adult Heart ». *Frontiers in Endocrinology* 9. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00460>.
- Chan, Stephen Y., Ying-Yi Zhang, Craig Hemann, Christopher E. Mahoney, Jay L. Zweier, et Joseph Loscalzo. 2009. « MicroRNA-210 Controls Mitochondrial Metabolism during Hypoxia by Repressing the Iron-Sulfur Cluster Assembly Proteins ISCU1/2 ». *Cell metabolism* 10 (4): 273-84. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.08.015>.
- Chen, Delin, Muyang Li, Jianyuan Luo, et Wei Gu. 2003. « Direct Interactions between HIF-1 Alpha and Mdm2 Modulate P53 Function ». *The Journal of Biological Chemistry* 278 (16): 13595-98. <https://doi.org/10.1074/jbc.C200694200>.
- Chen, Zhiqiang, Xueliang Zuo, Yao Zhang, Guoyong Han, Long Zhang, Jindao Wu, et Xuehao Wang. 2018. « MiR-3662 Suppresses Hepatocellular Carcinoma Growth through Inhibition of HIF-1 α -Mediated Warburg Effect ». *Cell Death & Disease* 9 (5): 549. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0616-8>.
- Cheng, Jidong, Tianliang Huang, Youfeng Li, Yubai Guo, Yuzhang Zhu, Qingjia Wang, Xiaojun Tan, et al. 2014. « AMP-Activated Protein Kinase Suppresses the in Vitro and in Vivo Proliferation of Hepatocellular Carcinoma ». *PloS One* 9 (4): e93256. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093256>.
- Christian, Mark, Evangelos Kiskinis, Darja Debevec, Göran Leonardsson, Roger White, et Malcolm G. Parker. 2005. « RIP140-Targeted Repression of Gene Expression in Adipocytes ». *Molecular and Cellular Biology* 25 (21): 9383-91. <https://doi.org/10.1128/MCB.25.21.9383-9391.2005>.
- Christian, Mark, Jennifer M. A. Tullet, et Malcolm G. Parker. 2004. « Characterization of Four Autonomous Repression Domains in the Corepressor Receptor Interacting Protein 140 ». *The Journal of Biological Chemistry* 279 (15): 15645-51. <https://doi.org/10.1074/jbc.M313906200>.
- Christofk, Heather R., Matthew G. Vander Heiden, Marian H. Harris, Arvind Ramanathan, Robert E. Gerszten, Ru Wei, Mark D. Fleming, Stuart L. Schreiber, et Lewis C. Cantley. 2008. « The M2 Splice Isoform of Pyruvate Kinase Is Important for Cancer Metabolism and Tumour Growth ». *Nature* 452 (7184): 230-33. <https://doi.org/10.1038/nature06734>.

- Cissé, Madi Y., Samuel Pyrdziak, Nelly Firmin, Laurie Gayte, Maud Heuillet, Floriant Bellvert, Maryse Fuentes, et al. 2020. « Targeting MDM2-Dependent Serine Metabolism as a Therapeutic Strategy for Liposarcoma ». *Science Translational Medicine* 12 (547). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aay2163>.
- Colamesta, Vittoria, Silvia D'Aguanno, Massimo Breccia, Sara Bruffa, Claudio Cartoni, et Giuseppe La Torre. 2016. « Do the Smoking Intensity and Duration, the Years since Quitting, the Methodological Quality and the Year of Publication of the Studies Affect the Results of the Meta-Analysis on Cigarette Smoking and Acute Myeloid Leukemia (AML) in Adults? » *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 99 (mars): 376-88. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2016.01.003>.
- Contractor, Tanupriya, et Chris R. Harris. 2012. « P53 Negatively Regulates Transcription of the Pyruvate Dehydrogenase Kinase Pdk2 ». *Cancer Research* 72 (2): 560-67. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-1215>.
- Cornelissen, Jan J., et Didier Blaise. 2016. « Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Patients with AML in First Complete Remission ». *Blood* 127 (1): 62-70. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-07-604546>.
- Correia, R. L., S. M. Oba-Shinjo, M. Uno, N. Huang, et S. K. N. Marie. 2011. « Mitochondrial DNA Depletion and Its Correlation with TFAM, TFB1M, TFB2M and POLG in Human Diffusely Infiltrating Astrocytomas ». *Mitochondrion* 11 (1): 48-53. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2010.07.001>.
- Cortes, Jorge E., Samer Khaled, Giovanni Martinelli, Alexander E. Perl, Siddhartha Ganguly, Nigel Russell, Alwin Krämer, et al. 2019. « Quizartinib versus Salvage Chemotherapy in Relapsed or Refractory FLT3-ITD Acute Myeloid Leukaemia (QuANTUM-R): A Multicentre, Randomised, Controlled, Open-Label, Phase 3 Trial ». *The Lancet. Oncology* 20 (7): 984-97. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(19\)30150-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(19)30150-0).
- Crespo-Solis, Erick, Jorge Contreras-Cisneros, Roberta Demichelis-Gómez, Adriana Rosas-López, Juan Mauricio Vera-Zertuche, Alvaro Aguayo, et Xavier López-Karpovitch. 2016. « Survival and treatment response in adults with acute promyelocytic leukemia treated with a modified International Consortium on Acute Promyelocytic Leukemia protocol ». *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* 38 (4): 285-90. <https://doi.org/10.1016/j.bjhh.2016.08.002>.
- Cull, Elizabeth H., et Jessica K. Altman. 2014. « Contemporary Treatment of APL ». *Current hematologic malignancy reports* 9 (2): 193-201. <https://doi.org/10.1007/s11899-014-0205-6>.
- Dahmani, Rajae, Pierre-Alexandre Just, et Christine Perret. 2011. « The Wnt/ β -Catenin Pathway as a Therapeutic Target in Human Hepatocellular Carcinoma ». *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* 35 (11): 709-13. <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2011.05.010>.

- Dang, Lenny, David W. White, Stefan Gross, Bryson D. Bennett, Mark A. Bittinger, Edward M. Driggers, Valeria R. Fantin, et al. 2009. « Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate ». *Nature* 462 (7274): 739. <https://doi.org/10.1038/nature08617>.
- Daver, Naval, Prajwal Boddu, Guillermo Garcia-Manero, Shalini Singh Yadav, Padmanee Sharma, James Allison, et Hagop Kantarjian. 2018. « Hypomethylating Agents in Combination with Immune Checkpoint Inhibitors in Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes ». *Leukemia* 32 (5): 1094-1105. <https://doi.org/10.1038/s41375-018-0070-8>.
- David, Charles J., Mo Chen, Marcela Assanah, Peter Canoll, et James L. Manley. 2010. « HnRNP Proteins Controlled by C-Myc Deregulate Pyruvate Kinase mRNA Splicing in Cancer ». *Nature* 463 (7279): 364-68. <https://doi.org/10.1038/nature08697>.
- De Braekeleer, Etienne, Nathalie Douet-Guilbert, et Marc De Braekeleer. 2014. « RARA Fusion Genes in Acute Promyelocytic Leukemia: A Review ». *Expert Review of Hematology* 7 (3): 347-57. <https://doi.org/10.1586/17474086.2014.903794>.
- De Kouchkovsky, I, et M Abdul-Hay. 2016. « ‘Acute myeloid leukemia: a comprehensive review and 2016 update’ ». *Blood Cancer Journal* 6 (7): e441. <https://doi.org/10.1038/bcj.2016.50>.
- DeBerardinis, Ralph J., et Navdeep S. Chandel. 2016. « Fundamentals of Cancer Metabolism ». *Science Advances* 2 (5): e1600200. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600200>.
- DiNardo, Courtney D., Eytan M. Stein, Stéphane de Botton, Gail J. Roboz, Jessica K. Altman, Alice S. Mims, Ronan Swords, et al. 2018. « Durable Remissions with Ivosidenib in IDH1-Mutated Relapsed or Refractory AML ». *The New England Journal of Medicine* 378 (25): 2386-98. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1716984>.
- Docquier, Aurélie, Patrick Augereau, Marion Lapierre, Pierre-Olivier Harmand, Eric Badia, Jean-Sébastien Annicotte, Lluís Fajas, et Vincent Cavaillès. 2012. « The RIP140 Gene Is a Transcriptional Target of E2F1 ». *PLoS ONE* 7 (5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035839>.
- Docquier, Aurélie, Aurélie Garcia, Julien Savatier, Abdel Boulahtouf, Sandrine Bonnet, Virginie Bellet, Muriel Busson, et al. 2013. « Negative Regulation of Estrogen Signaling by ER β and RIP140 in Ovarian Cancer Cells ». *Molecular Endocrinology* 27 (9): 1429-41. <https://doi.org/10.1210/me.2012-1351>.
- Docquier, Aurélie, Pierre-Olivier Harmand, Samuel Fritsch, Maïa Chanrion, Jean-Marie Darbon, et Vincent Cavaillès. 2010. « The Transcriptional Coregulator RIP140 Represses E2F1 Activity and Discriminates Breast Cancer Subtypes ». *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 16 (11): 2959-70. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-3153>.

- Döhner, Hartmut, Elihu H. Estey, Sergio Amadori, Frederick R. Appelbaum, Thomas Büchner, Alan K. Burnett, Hervé Dombret, et al. 2010. « Diagnosis and Management of Acute Myeloid Leukemia in Adults: Recommendations from an International Expert Panel, on Behalf of the European LeukemiaNet ». *Blood* 115 (3): 453-74. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-07-235358>.
- Döhner, Hartmut, Daniel J. Weisdorf, et Clara D. Bloomfield. 2015. « Acute Myeloid Leukemia ». *The New England Journal of Medicine* 373 (12): 1136-52. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1406184>.
- Dombret, Hervé, John F. Seymour, Aleksandra Butrym, Agnieszka Wierzbowska, Dominik Selleslag, Jun Ho Jang, Rajat Kumar, et al. 2015a. « International Phase 3 Study of Azacitidine vs Conventional Care Regimens in Older Patients with Newly Diagnosed AML with >30% Blasts ». *Blood* 126 (3): 291-99. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-01-621664>.
- . 2015b. « International Phase 3 Study of Azacitidine vs Conventional Care Regimens in Older Patients with Newly Diagnosed AML with >30% Blasts ». *Blood* 126 (3): 291-99. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-01-621664>.
- Dong, Yang, Rongfu Tu, Hudan Liu, et Guoliang Qing. 2020. « Regulation of cancer cell metabolism: oncogenic MYC in the driver's seat ». *Signal Transduction and Targeted Therapy* 5 (juillet). <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00235-2>.
- Dozio, Elena, Massimiliano Ruscica, Luca Passafaro, Giada Dogliotti, Liliana Steffani, Alessandra Pagani, Germana Demartini, Daniele Esposti, Franco Frascini, et Paolo Magni. 2010. « The Natural Antioxidant Alpha-Lipoic Acid Induces P27Kip1-Dependent Cell Cycle Arrest and Apoptosis in MCF-7 Human Breast Cancer Cells ». *European Journal of Pharmacology* 641 (1): 29-34. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.05.009>.
- Ebert, B. L., J. D. Firth, et P. J. Ratcliffe. 1995. « Hypoxia and Mitochondrial Inhibitors Regulate Expression of Glucose Transporter-1 via Distinct Cis-Acting Sequences ». *The Journal of Biological Chemistry* 270 (49): 29083-89. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.49.29083>.
- Eichner, Lillian J., et Vincent Giguère. 2011. « Estrogen Related Receptors (ERRs): A New Dawn in Transcriptional Control of Mitochondrial Gene Networks ». *Mitochondrion* 11 (4): 544-52. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2011.03.121>.
- Ekhtiari, Seper, Kentaro Chiba, Snezana Popovic, Rhianne Crowther, Gregory Wohl, Andy Kin On Wong, Darren H. Tanke, et al. 2020. « First Case of Osteosarcoma in a Dinosaur: A Multimodal Diagnosis ». *The Lancet. Oncology* 21 (8): 1021-22. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(20\)30171-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30171-6).

- Elia, Ilaria, Dorien Broekaert, Stefan Christen, Ruben Boon, Enrico Radaelli, Martin F. Orth, Catherine Verfaillie, Thomas G. P. Grünewald, et Sarah-Maria Fendt. 2017. « Proline Metabolism Supports Metastasis Formation and Could Be Inhibited to Selectively Target Metastasizing Cancer Cells ». *Nature Communications* 8: 15267. <https://doi.org/10.1038/ncomms15267>.
- Elstrom, Rebecca L., Daniel E. Bauer, Monica Buzzai, Robyn Karnauskas, Marian H. Harris, David R. Plas, Hongming Zhuang, et al. 2004. « Akt Stimulates Aerobic Glycolysis in Cancer Cells ». *Cancer Research* 64 (11): 3892-99. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-03-2904>.
- Escande, Aurélie, Arnaud Pillon, Nadège Servant, Jean-Pierre Cravedi, Fernando Larrea, Peter Muhn, Jean-Claude Nicolas, Vincent Cavaillès, et Patrick Balaguer. 2006. « Evaluation of Ligand Selectivity Using Reporter Cell Lines Stably Expressing Estrogen Receptor Alpha or Beta ». *Biochemical Pharmacology* 71 (10): 1459-69. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.02.002>.
- Esfahani, Maryam, Negar Ataei, et Mojtaba Panjehpour. 2015. « Biomarkers for Evaluation of Prostate Cancer Prognosis ». *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP* 16 (7): 2601-11. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2015.16.7.2601>.
- Estey, E., P. Thall, M. Beran, H. Kantarjian, S. Pierce, et M. Keating. 1997. « Effect of Diagnosis (Refractory Anemia with Excess Blasts, Refractory Anemia with Excess Blasts in Transformation, or Acute Myeloid Leukemia [AML]) on Outcome of AML-Type Chemotherapy ». *Blood* 90 (8): 2969-77.
- Estey, Elihu H. 2018. « Acute Myeloid Leukemia: 2019 Update on Risk-Stratification and Management ». *American Journal of Hematology* 93 (10): 1267-91. <https://doi.org/10.1002/ajh.25214>.
- Fajas, Lluís. 2013. « Metabolic Control in Cancer Cells ». *Annales d'Endocrinologie*, 56es Journées internationales d'Endocrinologie clinique, Henri-Pierre Klotz (06/06/-07/06/13, Paris), 74 (2): 71-73. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2013.03.021>.
- Fajas, Lluís, Jean-Sébastien Annicotte, Stéphanie Miard, David Sarruf, Mitsuhiro Watanabe, et Johan Auwerx. 2004. « Impaired pancreatic growth, β cell mass, and β cell function in E2F1 $-/-$ mice ». *Journal of Clinical Investigation* 113 (9): 1288-95. <https://doi.org/10.1172/JCI200418555>.
- Fang, Rong, Tian Xiao, Zhaoyuan Fang, Yihua Sun, Fei Li, Yijun Gao, Yan Feng, et al. 2012. « MicroRNA-143 (MiR-143) Regulates Cancer Glycolysis via Targeting Hexokinase 2 Gene ». *The Journal of Biological Chemistry* 287 (27): 23227-35. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.373084>.

- Farge, Thomas, Estelle Saland, Fabienne de Toni, Nesrine Aroua, Mohsen Hosseini, Robin Perry, Claudie Bosc, et al. 2017. « Chemotherapy-Resistant Human Acute Myeloid Leukemia Cells Are Not Enriched for Leukemic Stem Cells but Require Oxidative Metabolism ». *Cancer Discovery* 7 (7): 716-35. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-16-0441>.
- Farhat, D., et H. Lincet. 2020. « Lipoic Acid a Multi-Level Molecular Inhibitor of Tumorigenesis ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1873 (1): 188317. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2019.188317>.
- Farooqui, Mariya, Peter J. Franco, Jim Thompson, Hiroyuki Kagechika, Roshantha A. S. Chandraratna, Len Banaszak, et Li-Na Wei. 2003. « Effects of Retinoid Ligands on RIP140: Molecular Interaction with Retinoid Receptors and Biological Activity ». *Biochemistry* 42 (4): 971-79. <https://doi.org/10.1021/bi020497k>.
- Fekir, Karim, Hélène Dubois-Pot-Schneider, Romain Désert, Yoann Daniel, Denise Glaise, Claudine Rauch, Fabrice Morel, et al. 2019. « Retrodifferentiation of Human Tumor Hepatocytes to Stem Cells Leads to Metabolic Reprogramming and Chemoresistance ». *Cancer Research* 79 (8): 1869-83. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-2110>.
- Feng, Xudong, Yu-Lung Lin, et Li-Na Wei. 2015. « Behavioral stress reduces RIP140 expression in astrocyte and increases brain lipid accumulation ». *Brain, behavior, and immunity* 46 (mai): 270-79. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.02.008>.
- Fritah, Asmaà, M. Christian, et M. Parker. 2010. « The metabolic coregulator RIP140: an update. » *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00243.2010>.
- Fritah, Asmaà, Jennifer H. Steel, Donna Nichol, Nadeene Parker, Sharron Williams, Anthony Price, Leena Strauss, et al. 2010. « Elevated Expression of the Metabolic Regulator Receptor-Interacting Protein 140 Results in Cardiac Hypertrophy and Impaired Cardiac Function ». *Cardiovascular Research* 86 (3): 443-51. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvp418>.
- Fu, Deyuan, Jing Li, Jinli Wei, Zhengquan Zhang, Yulin Luo, Haosheng Tan, et Chuanli Ren. 2018. « HMGB2 Is Associated with Malignancy and Regulates Warburg Effect by Targeting LDHB and FBP1 in Breast Cancer ». *Cell Communication and Signaling: CCS* 16 (1): 8. <https://doi.org/10.1186/s12964-018-0219-0>.
- Fujii, Takeo, Muhammad Rizwan Khawaja, Courtney D. DiNardo, Johnique T. Atkins, et Filip Janku. 2016. « Targeting Isocitrate Dehydrogenase (IDH) in Cancer ». *Discovery Medicine* 21 (117): 373-80.

- Galani, Allison, Hayley Ma, Trivikram Rajkhowa, Abhijit Ramachandran, Donald Small, Jorge Cortes, et Mark Levis. 2014. « Crenolanib Is a Potent Inhibitor of FLT3 with Activity against Resistance-Confering Point Mutants ». *Blood* 123 (1): 94-100. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-10-529313>.
- Galera, Pallavi, Alina Dulau-Florea, et Katherine R. Calvo. 2019. « Inherited Thrombocytopenia and Platelet Disorders with Germline Predisposition to Myeloid Neoplasia ». *International Journal of Laboratory Hematology* 41 Suppl 1 (mai): 131-41. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12999>.
- Gámez, Cristina, Rafael Rosell, Alejandro Fernández, Eduard Andía, M Dolores Arnáiz, Felipe Cardenal, et Carles Lorenzo. 2006. « PET/CT Fusion Scan in Lung Cancer: Current Recommendations and Innovations ». *Journal of Thoracic Oncology* 1 (1): 74-77. [https://doi.org/10.1016/S1556-0864\(15\)31517-3](https://doi.org/10.1016/S1556-0864(15)31517-3).
- Garfunkel, Adi A. 2004. « Oral Mucositis--the Search for a Solution ». *The New England Journal of Medicine* 351 (25): 2649-51. <https://doi.org/10.1056/NEJMe048239>.
- Garg, Pankaj Kumar, Saurabh Kumar Singh, Gaurav Prakash, Ashish Jakhetiya, et Durgatosh Pandey. 2016. « Role of positron emission tomography-computed tomography in non-small cell lung cancer ». *World Journal of Methodology* 6 (1): 105-11. <https://doi.org/10.5662/wjm.v6.i1.105>.
- Gilron, Ian, Sylvia Robb, Dongsheng Tu, Ronald Holden, Tanveer Towheed, Dan Ziegler, Louie Wang, Roumen Milev, et Christopher Gray. 2020. « Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Crossover Trial of Alpha-Lipoic Acid for the Treatment of Fibromyalgia Pain: The IMPALA Trial ». *Pain*, août. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000002028>.
- Gils, Noortje van, Han J. M. P. Verhagen, et Linda Smit. 2017. « Reprogramming Acute Myeloid Leukemia into Sensitivity for Retinoic-Acid-Driven Differentiation ». *Experimental Hematology* 52 (août): 12-23. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2017.04.007>.
- Graeber, T G, J F Peterson, M Tsai, K Monica, A J Fornace, et A J Giaccia. 1994. « Hypoxia induces accumulation of p53 protein, but activation of a G1-phase checkpoint by low-oxygen conditions is independent of p53 status. » *Molecular and Cellular Biology* 14 (9): 6264-77.
- Granchi, Carlotta. 2018. « ATP Citrate Lyase (ACLY) Inhibitors: An Anti-Cancer Strategy at the Crossroads of Glucose and Lipid Metabolism ». *European Journal of Medicinal Chemistry* 157 (septembre): 1276-91. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.09.001>.

- Grandhi, Miral Sadaria, Amy K. Kim, Sean M. Ronnekleiv-Kelly, Ihab R. Kamel, Mounes A. Ghasebeh, et Timothy M. Pawlik. 2016. « Hepatocellular Carcinoma: From Diagnosis to Treatment ». *Surgical Oncology* 25 (2): 74-85. <https://doi.org/10.1016/j.suronc.2016.03.002>.
- Guo, Jianhui, Li Zheng, Wenyong Liu, Xianshu Wang, Zemin Wang, Zehua Wang, Amy J. French, et al. 2011. « Frequent Truncating Mutation of TFAM Induces Mitochondrial DNA Depletion and Apoptotic Resistance in Microsatellite-Unstable Colorectal Cancer ». *Cancer Research* 71 (8): 2978-87. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-3482>.
- Guo, Ying, Desiree Jones, J. Lynn Palmer, Arthur Forman, Shaker R. Dakhil, Maria R. Velasco, Matthias Weiss, et al. 2014. « Oral Alpha-Lipoic Acid to Prevent Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial ». *Supportive Care in Cancer: Official Journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer* 22 (5): 1223-31. <https://doi.org/10.1007/s00520-013-2075-1>.
- Gupta, Pawan, Ping-Chih Ho, M. D. Mostaqul Huq, Amjad Ali Khan, Nien-Pei Tsai, et Li-Na Wei. 2008. « PKC ϵ Stimulated Arginine Methylation of RIP140 for Its Nuclear-Cytoplasmic Export in Adipocyte Differentiation ». *PLoS ONE* 3 (7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002658>.
- Gupta, Pawan, M. D. Mostaqul Huq, Shaukat Ali Khan, Nien-Pei Tsai, et Li-Na Wei. 2005. « Regulation of Co-Repressive Activity of and HDAC Recruitment to RIP140 by Site-Specific Phosphorylation ». *Molecular & Cellular Proteomics: MCP* 4 (11): 1776-84. <https://doi.org/10.1074/mcp.M500236-MCP200>.
- Gupta, Vikas, Martin S. Tallman, et Daniel J. Weisdorf. 2011. « Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation for Adults with Acute Myeloid Leukemia: Myths, Controversies, and Unknowns ». *Blood* 117 (8): 2307-18. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-10-265603>.
- Hajdu, Steven I. 2011. « A Note from History: Landmarks in History of Cancer, Part 1 ». *Cancer* 117 (5): 1097-1102. <https://doi.org/10.1002/cncr.25553>.
- Hallberg, Magnus, Daniel L. Morganstein, Evangelos Kiskinis, Kunal Shah, Anastasia Kralli, Stephen M. Dilworth, Roger White, Malcolm G. Parker, et Mark Christian. 2008. « A Functional Interaction between RIP140 and PGC-1 α Regulates the Expression of the Lipid Droplet Protein CIDEA ». *Molecular and Cellular Biology* 28 (22): 6785-95. <https://doi.org/10.1128/MCB.00504-08>.
- Halpern, Anna B., Gary H. Lyman, Thomas J. Walsh, Dimitrios P. Kontoyiannis, et Roland B. Walter. 2015. « Primary Antifungal Prophylaxis during Curative-Intent Therapy for Acute Myeloid Leukemia ». *Blood* 126 (26): 2790-97. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-07-627323>.

- Hanahan, Douglas, et Robert A Weinberg. 2000. « The Hallmarks of Cancer ». *Cell* 100 (1): 57-70. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81683-9).
- Hanahan, Douglas, et Robert A. Weinberg. 2011. « Hallmarks of Cancer: The next Generation ». *Cell* 144 (5): 646-74. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>.
- Handschin, Christoph. 2010. « Regulation of Skeletal Muscle Cell Plasticity by the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Coactivator 1 α ». *Journal of Receptor and Signal Transduction Research* 30 (6): 376-84. <https://doi.org/10.3109/10799891003641074>.
- Haricharan, S., et Y. Li. 2014. « STAT Signaling in Mammary Gland Differentiation, Cell Survival and Tumorigenesis ». *Molecular and Cellular Endocrinology* 382 (1): 560-69. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2013.03.014>.
- Hasle, H., I. H. Clemmensen, et M. Mikkelsen. 2000. « Risks of Leukaemia and Solid Tumours in Individuals with Down's Syndrome ». *Lancet (London, England)* 355 (9199): 165-69. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)05264-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(99)05264-2).
- He, T. C., A. B. Sparks, C. Rago, H. Hermeking, L. Zawel, L. T. da Costa, P. J. Morin, B. Vogelstein, et K. W. Kinzler. 1998. « Identification of C-MYC as a Target of the APC Pathway ». *Science (New York, N.Y.)* 281 (5382): 1509-12. <https://doi.org/10.1126/science.281.5382.1509>.
- Heery, D. M., E. Kalkhoven, S. Hoare, et M. G. Parker. 1997. « A Signature Motif in Transcriptional Co-Activators Mediates Binding to Nuclear Receptors ». *Nature* 387 (6634): 733-36. <https://doi.org/10.1038/42750>.
- Heim, Kelly C., Kristina A. White, Dexin Deng, Craig R. Tomlinson, Jason H. Moore, Sarah J. Freemantle, et Michael J. Spinella. 2007. « Selective Repression of Retinoic Acid Target Genes by RIP140 during Induced Tumor Cell Differentiation of Pluripotent Human Embryonal Carcinoma Cells ». *Molecular Cancer* 6 (septembre): 57. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-6-57>.
- Hernlund, E., A. Svedbom, M. Ivergård, J. Compston, C. Cooper, J. Stenmark, E. V. McCloskey, B. Jönsson, et J. A. Kanis. 2013. « Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden ». *Archives of Osteoporosis* 8 (1-2). <https://doi.org/10.1007/s11657-013-0136-1>.
- Herzog, Birger, Magnus Hallberg, Asha Seth, Angela Woods, Roger White, et Malcolm G. Parker. 2007. « The Nuclear Receptor Cofactor RIP140 is Required for the Regulation of Hepatic Lipid and Glucose Metabolism by LXR ». *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)* 21 (11): 2687-97. <https://doi.org/10.1210/me.2007-0213>.

- Higuchi, Masakazu, Darin O'Brien, Parasakthy Kumaravelu, Noel Lenny, Eng-Juh Yeoh, et James R. Downing. 2002. « Expression of a Conditional AML1-ETO Oncogene Bypasses Embryonic Lethality and Establishes a Murine Model of Human t(8;21) Acute Myeloid Leukemia ». *Cancer Cell* 1 (1): 63-74. [https://doi.org/10.1016/s1535-6108\(02\)00016-8](https://doi.org/10.1016/s1535-6108(02)00016-8).
- Hills, Robert K., et Alan K. Burnett. 2011. « Applicability of a “Pick a Winner” Trial Design to Acute Myeloid Leukemia ». *Blood* 118 (9): 2389-94. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-02-337261>.
- Hills, Robert K., Sylvie Castaigne, Frederick R. Appelbaum, Jacques Delaunay, Stephen Petersdorf, Megan Othus, Elihu H. Estey, et al. 2014. « Addition of Gemtuzumab Ozogamicin to Induction Chemotherapy in Adult Patients with Acute Myeloid Leukaemia: A Meta-Analysis of Individual Patient Data from Randomised Controlled Trials ». *The Lancet. Oncology* 15 (9): 986-96. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70281-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70281-5).
- Ho, Ping-Chih, Yi-Wei Lin, Yao-Chen Tsui, Pawan Gupta, et Li-Na Wei. 2009. « A Negative Regulatory Pathway of GLUT4 Trafficking in Adipocyte: New Function of RIP140 in the Cytoplasm via AS160 ». *Cell Metabolism* 10 (6): 516-23. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.09.012>.
- Holtick, Udo, Alexander Shimabukuro-Vornhagen, Geothy Chakupurakal, Sebastian Theurich, Silke Leitzke, Anke Burst, Michael Hallek, Michael von Bergwelt-Baildon, Christof Scheid, et Jens M. Chemnitz. 2016. « FLAMSA Reduced-Intensity Conditioning Is Equally Effective in AML Patients with Primary Induction Failure as Well as in First or Second Complete Remission ». *European Journal of Haematology* 96 (5): 475-82. <https://doi.org/10.1111/ejh.12615>.
- Hong, Xiaoting, Linhai Zhong, Yurou Xie, Kaifeng Zheng, Jinglong Pang, Yesen Li, Yifan Yang, et al. 2019. « Matrine Reverses the Warburg Effect and Suppresses Colon Cancer Cell Growth via Negatively Regulating HIF-1 α ». *Frontiers in Pharmacology* 10 (novembre). <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01437>.
- Horton, T. M., J. A. Petros, A. Heddi, J. Shoffner, A. E. Kaufman, S. D. Graham, T. Gramlich, et D. C. Wallace. 1996. « Novel Mitochondrial DNA Deletion Found in a Renal Cell Carcinoma ». *Genes, Chromosomes & Cancer* 15 (2): 95-101. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2264\(199602\)15:2<95::AID-GCC3>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2264(199602)15:2<95::AID-GCC3>3.0.CO;2-Z).
- Hoxhaj, Gerta, et Brendan D. Manning. 2020. « The PI3K-AKT network at the interface of oncogenic signalling and cancer metabolism ». *Nature reviews. Cancer* 20 (2): 74-88. <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0216-7>.

- Huang, Tse-Shun, Jui-Yu Hsieh, Yu-Hsuan Wu, Chih-Hung Jen, Yang-Hwei Tsuang, Shih-Hwa Chiou, Jukka Partanen, et al. 2008. « Functional Network Reconstruction Reveals Somatic Stemness Genetic Maps and Dedifferentiation-like Transcriptome Reprogramming Induced by GATA2 ». *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 26 (5): 1186-1201. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2007-0821>.
- Hulegårdh, Erik, Christer Nilsson, Vladimir Lazarevic, Hege Garelius, Petar Antunovic, Åsa Rangert Derolf, Lars Möllgård, et al. 2015. « Characterization and Prognostic Features of Secondary Acute Myeloid Leukemia in a Population-Based Setting: A Report from the Swedish Acute Leukemia Registry ». *American Journal of Hematology* 90 (3): 208-14. <https://doi.org/10.1002/ajh.23908>.
- Huq, M. D. Mostaqul, Sung Gil Ha, Helene Barcelona, et Li-Na Wei. 2009. « Lysine Methylation of Nuclear Co-Repressor Receptor Interacting Protein 140 ». *Journal of Proteome Research* 8 (3): 1156-67. <https://doi.org/10.1021/pr800569c>.
- Huq, M. D. Mostaqul, Shaukat Ali Khan, Sung Wook Park, et Li-Na Wei. 2005. « Mapping of Phosphorylation Sites of Nuclear Corepressor Receptor Interacting Protein 140 by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectroscopy ». *Proteomics* 5 (8): 2157-66. <https://doi.org/10.1002/pmic.200401090>.
- Huq, M. D. Mostaqul, et Li-Na Wei. 2005. « Post-Translational Modification of Nuclear Co-Repressor Receptor-Interacting Protein 140 by Acetylation ». *Molecular & Cellular Proteomics: MCP* 4 (7): 975-83. <https://doi.org/10.1074/mcp.M500015-MCP200>.
- Ikonen, T., J. J. Palvimo, et O. A. Jänne. 1997. « Interaction between the Amino- and Carboxyl-Terminal Regions of the Rat Androgen Receptor Modulates Transcriptional Activity and Is Influenced by Nuclear Receptor Coactivators ». *The Journal of Biological Chemistry* 272 (47): 29821-28. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.47.29821>.
- Imajo, Masamichi, Kunio Kondoh, Takuya Yamamoto, Kei Nakayama, May Nakajima-Koyama, et Eisuke Nishida. 2017. « Antagonistic Interactions between Extracellular Signal-Regulated Kinase Mitogen-Activated Protein Kinase and Retinoic Acid Receptor Signaling in Colorectal Cancer Cells ». *Molecular and Cellular Biology* 37 (15). <https://doi.org/10.1128/MCB.00012-17>.
- Inaba, Toshiya. 2009. « [Radiation-induced and therapy-related AML/MDS] ». *Nihon Rinsho. Japanese Journal of Clinical Medicine* 67 (10): 1880-83.
- Ishikawa, Kaori, Keizo Takenaga, Miho Akimoto, Nobuko Koshikawa, Aya Yamaguchi, Hirotake Imanishi, Kazuto Nakada, Yoshio Honma, et Jun-Ichi Hayashi. 2008. « ROS-Generating Mitochondrial DNA Mutations Can Regulate Tumor Cell Metastasis ». *Science (New York, N.Y.)* 320 (5876): 661-64. <https://doi.org/10.1126/science.1156906>.

- Itahana, Yoko, et Koji Itahana. 2018. « Emerging Roles of p53 Family Members in Glucose Metabolism ». *International Journal of Molecular Sciences* 19 (3). <https://doi.org/10.3390/ijms19030776>.
- Iyer, Narayan V., Lori E. Kotch, Faton Agani, Sandra W. Leung, Erik Laughner, Roland H. Wenger, Max Gassmann, et al. 1998. « Cellular and developmental control of O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 α ». *Genes & Development* 12 (2): 149-62.
- Izzo, Antonella, Rosanna Manco, Ferdinando Bonfiglio, Gaetano Calì, Tiziana De Cristofaro, Simone Patergnani, Rita Cicatiello, et al. 2014. « NRIP1/RIP140 SiRNA-Mediated Attenuation Counteracts Mitochondrial Dysfunction in Down Syndrome ». *Human Molecular Genetics* 23 (16): 4406-19. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu157>.
- Izzo, Antonella, Nunzia Mollo, Maria Nitti, Simona Paladino, Gaetano Calì, Rita Genesio, Ferdinando Bonfiglio, et al. 2018. « Mitochondrial Dysfunction in down Syndrome: Molecular Mechanisms and Therapeutic Targets ». *Molecular Medicine (Cambridge, Mass.)* 24 (1): 2. <https://doi.org/10.1186/s10020-018-0004-y>.
- Jacque, Nathalie, et Véronique Leblond. 2019. « [Chronic lymphocytic leukemia] ». *Presse Medicale (Paris, France: 1983)* 48 (7-8 Pt 1): 807-15. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2019.07.019>.
- Jalaguier, S, C Teyssier, T Nait Achour, A Lucas, S Bonnet, C Rodriguez, N Elarouci, M Lapierre, et V Cavaillès. 2017. « Complex regulation of LCoR signaling in breast cancer cells ». *Oncogene* 36 (33): 4790-4801. <https://doi.org/10.1038/onc.2017.97>.
- Jaramillo, S., A. Benner, J. Krauter, H. Martin, T. Kindler, M. Bentz, H. R. Salih, et al. 2017. « Condensed versus Standard Schedule of High-Dose Cytarabine Consolidation Therapy with Pegfilgrastim Growth Factor Support in Acute Myeloid Leukemia ». *Blood Cancer Journal* 7 (5): e564. <https://doi.org/10.1038/bcj.2017.45>.
- Jiang, Peng, Wenjing Du, Xingwu Wang, Anthony Mancuso, Xiang Gao, Mian Wu, et Xiaolu Yang. 2011. « P53 Regulates Biosynthesis through Direct Inactivation of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase ». *Nature Cell Biology* 13 (3): 310-16. <https://doi.org/10.1038/ncb2172>.
- Jiao, Lin, Hai-Liang Zhang, Dan-Dan Li, Ke-Li Yang, Jun Tang, Xuan Li, Jiao Ji, et al. 2018. « Regulation of glycolytic metabolism by autophagy in liver cancer involves selective autophagic degradation of HK2 (hexokinase 2) ». *Autophagy* 14 (4): 671-84. <https://doi.org/10.1080/15548627.2017.1381804>.
- Jimenez-Rojo, Lucia, Zoraide Granchi, Daniel Graf, et Thimios Mitsiadis. 2012. « Stem Cell Fate Determination during Development and Regeneration of Ectodermal Organs ». *Frontiers in Physiology* 3. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00107>.

- Kang, Kihwa, Shannon M. Reilly, Volkan Karabacak, Matthew R. Gangl, Kelly Fitzgerald, Ben Hatano, et Chih-Hao Lee. 2008. « Adipocyte-derived Th2 cytokines and myeloid PPAR delta regulate macrophage polarization and insulin sensitivity ». *Cell metabolism* 7 (6): 485-95. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.04.002>.
- Kantarjian, Hagop M., Xavier G. Thomas, Anna Dmoszynska, Agnieszka Wierzbowska, Grzegorz Mazur, Jiri Mayer, Jyh-Pyng Gau, et al. 2012. « Multicenter, Randomized, Open-Label, Phase III Trial of Decitabine versus Patient Choice, with Physician Advice, of Either Supportive Care or Low-Dose Cytarabine for the Treatment of Older Patients with Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia ». *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 30 (21): 2670-77. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.38.9429>.
- Kassim, Adetola A., et Bipib N. Savani. 2017. « Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Acute Myeloid Leukemia: A Review ». *Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy* 10 (4): 245-51. <https://doi.org/10.1016/j.hemonc.2017.05.021>.
- Kawauchi, Keiko, Keigo Araki, Kei Tobiume, et Nobuyuki Tanaka. 2008. « P53 Regulates Glucose Metabolism through an IKK-NF-KB Pathway and Inhibits Cell Transformation ». *Nature Cell Biology* 10 (5): 611-18. <https://doi.org/10.1038/ncb1724>.
- Ke, Rong, Qicao Xu, Cong Li, Lingyu Luo, et Deqiang Huang. 2018. « Mechanisms of AMPK in the Maintenance of ATP Balance during Energy Metabolism ». *Cell Biology International* 42 (4): 384-92. <https://doi.org/10.1002/cbin.10915>.
- Kelly, Louise M., et D. Gary Gilliland. 2002. « Genetics of myeloid leukemias ». *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 3 (1): 179-98. <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.3.032802.115046>.
- Kent, Lindsey N., et Gustavo Leone. 2019. « The Broken Cycle: E2F Dysfunction in Cancer ». *Nature Reviews. Cancer* 19 (6): 326-38. <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0143-7>.
- Kerley, J. S., S. L. Olsen, S. J. Freemantle, et M. J. Spinella. 2001. « Transcriptional Activation of the Nuclear Receptor Corepressor RIP140 by Retinoic Acid: A Potential Negative-Feedback Regulatory Mechanism ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 285 (4): 969-75. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.5274>.
- Kim, Jung-whan, Irina Tchernyshyov, Gregg L. Semenza, et Chi V. Dang. 2006. « HIF-1-Mediated Expression of Pyruvate Dehydrogenase Kinase: A Metabolic Switch Required for Cellular Adaptation to Hypoxia ». *Cell Metabolism* 3 (3): 177-85. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.02.002>.
- Kim, Jung-whan, Karen I. Zeller, Yunyue Wang, Anil G. Jegga, Bruce J. Aronow, Kathryn A. O'Donnell, et Chi V. Dang. 2004. « Evaluation of Myc E-Box Phylogenetic Footprints in Glycolytic Genes by Chromatin Immunoprecipitation Assays ». *Molecular and Cellular Biology* 24 (13): 5923-36. <https://doi.org/10.1128/MCB.24.13.5923-5936.2004>.

- Kiskinis, Evangelos, Lemonia Chatzeli, Edward Curry, Myrsini Kaforou, Andrea Frontini, Saverio Cinti, Giovanni Montana, Malcolm G. Parker, et Mark Christian. 2014. « RIP140 Represses the “Brown-in-White” Adipocyte Program Including a Futile Cycle of Triacylglycerol Breakdown and Synthesis ». *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)* 28 (3): 344-56. <https://doi.org/10.1210/me.2013-1254>.
- Korga, Agnieszka, Marta Ostrowska, Magdalena Iwan, Mariola Herbet, et Jaroslaw Dudka. 2019. « Inhibition of Glycolysis Disrupts Cellular Antioxidant Defense and Sensitizes HepG2 Cells to Doxorubicin Treatment ». *FEBS Open Bio* 9 (5): 959-72. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12628>.
- Krug, U., W. E. Berdel, R. P. Gale, C. Haferlach, S. Schnittger, C. Müller-Tidow, J. Braess, et al. 2016. « Increasing Intensity of Therapies Assigned at Diagnosis Does Not Improve Survival of Adults with Acute Myeloid Leukemia ». *Leukemia* 30 (6): 1230-36. <https://doi.org/10.1038/leu.2016.25>.
- Kumar, M. B., R. W. Tarpey, et G. H. Perdew. 1999. « Differential Recruitment of Coactivator RIP140 by Ah and Estrogen Receptors. Absence of a Role for LXXLL Motifs ». *The Journal of Biological Chemistry* 274 (32): 22155-64. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.32.22155>.
- Kuphal, Silke, Andreas Winklmeier, Christina Warnecke, et Anja-Katrin Bosserhoff. 2010. « Constitutive HIF-1 Activity in Malignant Melanoma ». *European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990)* 46 (6): 1159-69. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.01.031>.
- Lagunas-Rangel, Francisco Alejandro, Venice Chávez-Valencia, Miguel Ángel Gómez-Guijosa, et Carlos Cortes-Penagos. 2017. « Acute Myeloid Leukemia-Genetic Alterations and Their Clinical Prognosis ». *International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research* 11 (4): 328-39.
- Lapierre, Marion, Sandrine Bonnet, Caroline Bascoul-Mollevi, Imade Ait-Arsa, Stéphan Jalaguier, Maguy Del Rio, Michela Plateroti, et al. 2014. « RIP140 increases APC expression and controls intestinal homeostasis and tumorigenesis ». *The Journal of Clinical Investigation* 124 (5): 1899-1913. <https://doi.org/10.1172/JCI65178>.
- Lapierre, Marion, Audrey Castet-Nicolas, Delphine Gitenay, Stéphan Jalaguier, Catherine Teyssier, Caroline Bret, Guillaume Cartron, Jérôme Moreaux, et Vincent Cavaillès. 2015. « Expression and role of RIP140/NRIP1 in chronic lymphocytic leukemia ». *Journal of Hematology & Oncology* 8 (mars). <https://doi.org/10.1186/s13045-015-0116-6>.
- Lebedeva, Maria A., Jana S. Eaton, et Gerald S. Shadel. 2009. « Loss of P53 Causes Mitochondrial DNA Depletion and Altered Mitochondrial Reactive Oxygen Species Homeostasis ». *Biochimica Et Biophysica Acta* 1787 (5): 328-34. <https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2009.01.004>.

- Lecarpentier, Yves, Olivier Schussler, Jean-Louis Hébert, et Alexandre Vallée. 2019. « Multiple Targets of the Canonical WNT/ β -Catenin Signaling in Cancers ». *Frontiers in Oncology* 9 (novembre). <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01248>.
- Lee, Bomi, Ping-Chih Ho, et Li-Na Wei. 2018. « Nuclear Receptor-Interacting Protein 1 (NRIP1) ». In *Encyclopedia of Signaling Molecules*, édité par Sangdun Choi, 3606-16. Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-67199-4_280.
- Lee, Bomi, Urszula T. Iwaniec, Russell T. Turner, Yi-Wei Lin, Bart L. Clarke, Anne Gingery, et Li-Na Wei. 2017. « RIP140 in Monocytes/Macrophages Regulates Osteoclast Differentiation and Bone Homeostasis ». *JCI Insight* 2 (7). <https://doi.org/10.1172/jci.insight.90517>.
- Lee, Changhan, Lizzia Raffaghello, Sebastian Brandhorst, Fernando M. Safdie, Giovanna Bianchi, Alejandro Martin-Montalvo, Vito Pistoia, et al. 2012. « Fasting Cycles Retard Growth of Tumors and Sensitize a Range of Cancer Cell Types to Chemotherapy ». *Science Translational Medicine* 4 (124): 124ra27. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003293>.
- Lee, Chih-Hao, Chatchai Chinpaisal, et Li-Na Wei. 1998. « Cloning and Characterization of Mouse RIP140, a Corepressor for Nuclear Orphan Receptor TR2 ». *Molecular and Cellular Biology* 18 (11): 6745-55.
- Lee, Je-Hwan, Young-Don Joo, Hawk Kim, Sung Hwa Bae, Min Kyoung Kim, Dae Young Zang, Jung-Lim Lee, et al. 2011. « A Randomized Trial Comparing Standard versus High-Dose Daunorubicin Induction in Patients with Acute Myeloid Leukemia ». *Blood* 118 (14): 3832-41. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-06-361410>.
- Lee, Woo Je, Kee-Ho Song, Eun Hee Koh, Jong Chul Won, Hyoun Sik Kim, Hye-Sun Park, Min-Seon Kim, Seung-Whan Kim, Ki-Up Lee, et Joong-Yeol Park. 2005. « α -Lipoic Acid Increases Insulin Sensitivity by Activating AMPK in Skeletal Muscle ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 332 (3): 885-91. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.05.035>.
- Leonardsson, Göran, Jenny H. Steel, Mark Christian, Victoria Pocock, Stuart Milligan, Jimmy Bell, Po-Wah So, et al. 2004. « Nuclear Receptor Corepressor RIP140 Regulates Fat Accumulation ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101 (22): 8437-42. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401013101>.
- Leone, G., L. Mele, A. Pulsoni, F. Equitani, et L. Pagano. 1999. « The Incidence of Secondary Leukemias ». *Haematologica* 84 (10): 937-45.

- Lh, Castilla, Garrett L, Adya N, Orlic D, Dutra A, Anderson S, Owens J, Eckhaus M, Bodine D, et Liu Pp. 1999. « The Fusion Gene Cbfb-MYH11 Blocks Myeloid Differentiation and Predisposes Mice to Acute Myelomonocytic Leukaemia. » *Nature Genetics* 23 (2): 144-46. <https://doi.org/10.1038/13776>.
- L'Horset, F, S Dauvois, D M Heery, V Cavaillès, et M G Parker. 1996. « RIP-140 interacts with multiple nuclear receptors by means of two distinct sites. » *Molecular and Cellular Biology* 16 (11): 6029-36.
- Li, Chuan, Maria M. Xu, Kepeng Wang, Adam J. Adler, Anthony T. Vella, et Beiyan Zhou. 2018. « Macrophage polarization and Metainflammation ». *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine* 191 (janvier): 29-44. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2017.10.004>.
- Li, Shufen, Li Chen, Wen Jin, Xuefei Ma, Yunlin Ma, Fangyi Dong, Hongming Zhu, Junmin Li, et Kankan Wang. 2017. « Influence of Body Mass Index on Incidence and Prognosis of Acute Myeloid Leukemia and Acute Promyelocytic Leukemia: A Meta-Analysis ». *Scientific Reports* 7 (1): 17998. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18278-x>.
- Li, Zhaoyong, et Huafeng Zhang. 2016. « Reprogramming of Glucose, Fatty Acid and Amino Acid Metabolism for Cancer Progression ». *Cellular and Molecular Life Sciences* 73 (2): 377-92. <https://doi.org/10.1007/s00018-015-2070-4>.
- Lim, Hyunjung J., Irene Moon, et Kyuyong Han. 2004. « Transcriptional Cofactors Exhibit Differential Preference toward Peroxisome Proliferator-Activated Receptors Alpha and Delta in Uterine Cells ». *Endocrinology* 145 (6): 2886-95. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0011>.
- Liu, Chunyan, Xiuli Wang, et Youzhong Zhang. 2019. « The Roles of HK2 on Tumorigenesis of Cervical Cancer ». *Technology in Cancer Research & Treatment* 18: 1533033819871306. <https://doi.org/10.1177/1533033819871306>.
- Liu, Jingjing, Dacheng Wen, Xuedong Fang, Xudong Wang, Tianzhou Liu, et Jiaming Zhu. 2015. « P38MAPK Signaling Enhances Glycolysis Through the Up-Regulation of the Glucose Transporter GLUT-4 in Gastric Cancer Cells ». *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology* 36 (1): 155-65. <https://doi.org/10.1159/000374060>.
- Liu, Jinyou, Suryavathi Viswanadhapalli, Lauren Garcia, Mei Zhou, Binoj C. Nair, Edward Kost, Rajeshwar Rao Tekmal, et al. 2017. « Therapeutic utility of natural estrogen receptor beta agonists on ovarian cancer ». *Oncotarget* 8 (30): 50002-14. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18442>.

- Liu, Kun, Fanzhou Li, Haichao Han, Yue Chen, Zebin Mao, Jianyuan Luo, Yingming Zhao, Bin Zheng, Wei Gu, et Wenhui Zhao. 2016. « Parkin Regulates the Activity of Pyruvate Kinase M2 ». *The Journal of Biological Chemistry* 291 (19): 10307-17. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.703066>.
- Liu, Wei, Chad N. Hancock, Joseph W. Fischer, Meredith Harman, et James M. Phang. 2015. « Proline biosynthesis augments tumor cell growth and aerobic glycolysis: involvement of pyridine nucleotides ». *Scientific Reports* 5 (novembre). <https://doi.org/10.1038/srep17206>.
- Ln, Wei. 2004. « Retinoids and Receptor Interacting Protein 140 (RIP140) in Gene Regulation ». *Current Medicinal Chemistry. Curr Med Chem.* juin 2004. <https://doi.org/10.2174/0929867043365017>.
- Lobo, C., M. A. Ruiz-Bellido, J. C. Aledo, J. Márquez, I. Núñez De Castro, et F. J. Alonso. 2000. « Inhibition of Glutaminase Expression by Antisense mRNA Decreases Growth and Tumourigenicity of Tumour Cells ». *The Biochemical Journal* 348 Pt 2 (juin): 257-61.
- Lo-Coco, Francesco, Giuseppe Cimino, Massimo Breccia, Nélida I. Noguera, Daniela Diverio, Erica Finolezzi, Enrico M. Pogliani, et al. 2004. « Gemtuzumab Ozogamicin (Mylotarg) as a Single Agent for Molecularly Relapsed Acute Promyelocytic Leukemia ». *Blood* 104 (7): 1995-99. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-04-1550>.
- Löwenberg, Bob. 2013. « Sense and Nonsense of High-Dose Cytarabine for Acute Myeloid Leukemia ». *Blood* 121 (1): 26-28. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-07-444851>.
- Lu, Xiao, Dong Zhou, Bing Hou, Quan-Xing Liu, Qian Chen, Xu-Feng Deng, Zu-Bin Yu, Ji-Gang Dai, et Hong Zheng. 2018. « Dichloroacetate Enhances the Antitumor Efficacy of Chemotherapeutic Agents via Inhibiting Autophagy in Non-Small-Cell Lung Cancer ». *Cancer Management and Research* 10: 1231-41. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S156530>.
- Luo, Lingyu, Shanshan Jiang, Deqiang Huang, Nonghua Lu, et Zhijun Luo. 2015. « MLK3 Phosphorylates AMPK Independently of LKB1 ». *PloS One* 10 (4): e0123927. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123927>.
- Ma, Hayley S., Sarah M. Greenblatt, Courtney M. Shirley, Amy S. Duffield, J. Kyle Bruner, Li Li, Bao Nguyen, et al. 2016. « All-Trans Retinoic Acid Synergizes with FLT3 Inhibition to Eliminate FLT3/ITD+ Leukemia Stem Cells in Vitro and in Vivo ». *Blood* 127 (23): 2867-78. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-05-646786>.
- Ma, Jiao, Bin Liu, Dan Yu, Yong Zuo, Rong Cai, Jianmin Yang, et Jinke Cheng. 2019. « SIRT3 Deacetylase Activity Confers Chemoresistance in AML via Regulation of Mitochondrial Oxidative Phosphorylation ». *British Journal of Haematology* 187 (1): 49-64. <https://doi.org/10.1111/bjh.16044>.

- Ma, Xiaoping, Yuzuo Hui, Li Lin, Yu Wu, Xian Zhang, et Peishu Liu. 2015. « Clinical Significance of COX-2, GLUT-1 and VEGF Expressions in Endometrial Cancer Tissues ». *Pakistan Journal of Medical Sciences* 31 (2): 280-84. <https://doi.org/10.12669/pjms.312.6604>.
- Madak-Erdogan, Zeynep, Tze-Howe Charn, Yan Jiang, Edison T Liu, John A Katzenellenbogen, et Benita S Katzenellenbogen. 2013. « Integrative genomics of gene and metabolic regulation by estrogen receptors α and β , and their coregulators ». *Molecular Systems Biology* 9 (1): 676. <https://doi.org/10.1038/msb.2013.28>.
- Martelli, Maria Paola, Ilaria Gionfriddo, Federica Mezzasoma, Francesca Milano, Sara Pierangeli, Floriana Mulas, Roberta Pacini, et al. 2015. « Arsenic Trioxide and All-Trans Retinoic Acid Target NPM1 Mutant Oncoprotein Levels and Induce Apoptosis in NPM1-Mutated AML Cells ». *Blood* 125 (22): 3455-65. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-11-611459>.
- Masuyama, H., C. M. Brownfield, R. St-Arnaud, et P. N. MacDonald. 1997. « Evidence for Ligand-Dependent Intramolecular Folding of the AF-2 Domain in Vitamin D Receptor-Activated Transcription and Coactivator Interaction ». *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)* 11 (10): 1507-17. <https://doi.org/10.1210/mend.11.10.9990>.
- Mathupala, S. P., A. Rempel, et P. L. Pedersen. 1995. « Glucose Catabolism in Cancer Cells. Isolation, Sequence, and Activity of the Promoter for Type II Hexokinase ». *The Journal of Biological Chemistry* 270 (28): 16918-25. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.28.16918>.
- . 2001. « Glucose Catabolism in Cancer Cells: Identification and Characterization of a Marked Activation Response of the Type II Hexokinase Gene to Hypoxic Conditions ». *The Journal of Biological Chemistry* 276 (46): 43407-12. <https://doi.org/10.1074/jbc.M108181200>.
- Matoba, Satoaki, Ju-Gyeong Kang, Willmar D. Patino, Andrew Wragg, Manfred Boehm, Oksana Gavrilova, Paula J. Hurley, Fred Bunz, et Paul M. Hwang. 2006. « P53 Regulates Mitochondrial Respiration ». *Science (New York, N.Y.)* 312 (5780): 1650-53. <https://doi.org/10.1126/science.1126863>.
- Mayer, Lawrence D., Paul Tardi, et Arthur C. Louie. 2019. « CPX-351: A Nanoscale Liposomal Co-Formulation of Daunorubicin and Cytarabine with Unique Biodistribution and Tumor Cell Uptake Properties ». *International Journal of Nanomedicine* 14: 3819-30. <https://doi.org/10.2147/IJN.S139450>.
- McHale, Cliona M., Luoping Zhang, et Martyn T. Smith. 2012. « Current Understanding of the Mechanism of Benzene-Induced Leukemia in Humans: Implications for Risk Assessment ». *Carcinogenesis* 33 (2): 240-52. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgr297>.

- « Mechanism of Pathway: Considerations of Cytogenetic and Molecular Mutation Status for Patients with Acute Myeloid Leukemia: A Deeper Look at the Role of Diagnostic and Ongoing Testing Across the Care Continuum ». 2019, janvier. <http://oncpracticemanagement.com/special-issues/considerations-of-cytogenetic-and-molecular-mutation-status-for-patients-with-acute-myeloid-leukemi/1116-tlg1545>.
- Medeiros, Bruno C. 2018. « Is There a Standard of Care for Relapsed AML? » *Best Practice & Research Clinical Haematology*, Acute Leukemia and Myelodysplasia: Advances and Controversies, 31 (4): 384-86. <https://doi.org/10.1016/j.beha.2018.09.006>.
- Megías-Vericat, Juan Eduardo, Octavio Ballesta-López, Eva Barragán, et Pau Montesinos. 2019. « IDH1-mutated relapsed or refractory AML: current challenges and future prospects ». *Blood and Lymphatic Cancer: Targets and Therapy* 9 (juin): 19-32. <https://doi.org/10.2147/BLCTT.S177913>.
- Memmott, Regan M., Joell J. Gills, Melinda Hollingshead, Margaret C. Powers, Zhiping Chen, Bruce Kemp, Alan Kozikowski, et Phillip A. Dennis. 2008. « Phosphatidylinositol Ether Lipid Analogues Induce AMP-Activated Protein Kinase-Dependent Death in LKB1-Mutant Non Small Cell Lung Cancer Cells ». *Cancer Research* 68 (2): 580-88. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-3091>.
- Mercurio, Valentina, Flora Pirozzi, Edoardo Lazzarini, Giancarlo Marone, Paola Rizzo, Giulio Agnetti, Carlo G. Tocchetti, Alessandra Ghigo, et Pietro Ameri. 2016. « Models of Heart Failure Based on the Cardiotoxicity of Anticancer Drugs ». *Journal of Cardiac Failure* 22 (6): 449-58. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2016.04.008>.
- Miyata, K. S., S. E. McCaw, L. M. Meertens, H. V. Patel, R. A. Rachubinski, et J. P. Capone. 1998. « Receptor-Interacting Protein 140 Interacts with and Inhibits Transactivation by, Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha and Liver-X-Receptor Alpha ». *Molecular and Cellular Endocrinology* 146 (1-2): 69-76. [https://doi.org/10.1016/s0303-7207\(98\)00196-8](https://doi.org/10.1016/s0303-7207(98)00196-8).
- Momenimovahed, Zohre, Azita Tiznobaik, Safoura Taheri, et Hamid Salehiniya. 2019. « Ovarian cancer in the world: epidemiology and risk factors ». *International Journal of Women's Health* 11 (avril): 287-99. <https://doi.org/10.2147/IJWH.S197604>.
- Montesinos, Pau, Juan Bergua, Joana Infante, Jordi Esteve, José Eduardo Guimaraes, Jordi Sierra, et Miguel Ángel Sanz. 2019. « Update on Management and Progress of Novel Therapeutics for R/R AML: An Iberian Expert Panel Consensus ». *Annals of Hematology* 98 (11): 2467-83. <https://doi.org/10.1007/s00277-019-03820-w>.
- Montesinos, Pau, Javier de la Rubia, Guillermo Orti, Jaime Sanz, David Martinez, Ninotchka Mendoza, Miguel Scaff, et al. 2007. « FLAG-IDA Regimen (Fludarabine, Cytarabine, Idarubicin and G-CSF) in the Treatment of Patients with High-Risk Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes. » *Blood* 110 (11): 2866-2866. <https://doi.org/10.1182/blood.V110.11.2866.2866>.

- Moore, Jamie M. R., Sarah J. Galicia, Andrea C. McReynolds, Ngoc-Ha Nguyen, Thomas S. Scanlan, et R. Kiplin Guy. 2004. « Quantitative Proteomics of the Thyroid Hormone Receptor-Coregulator Interactions ». *The Journal of Biological Chemistry* 279 (26): 27584-90. <https://doi.org/10.1074/jbc.M403453200>.
- Moro, L., A. A. Arbin, J. L. Yao, P. A. di Sant'Agnese, E. Marra, et M. Greco. 2009. « Mitochondrial DNA Depletion in Prostate Epithelial Cells Promotes Anoikis Resistance and Invasion through Activation of PI3K/Akt2 ». *Cell Death and Differentiation* 16 (4): 571-83. <https://doi.org/10.1038/cdd.2008.178>.
- Mostaqul Huq, M. D., Pawan Gupta, Nien-Pei Tsai, Roger White, Malcolm G. Parker, et Li-Na Wei. 2006. « Suppression of Receptor Interacting Protein 140 Repressive Activity by Protein Arginine Methylation ». *The EMBO Journal* 25 (21): 5094-5104. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601389>.
- Mu, Qing, Weidong Yu, Shuying Zheng, Hongxia Shi, Mei Li, Jie Sun, Di Wang, et al. 2018. « RIP140/PGC-1 α Axis Involved in Vitamin A-Induced Neural Differentiation by Increasing Mitochondrial Function ». *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology* 46 (sup1): 806-16. <https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1436552>.
- Mueckler, Mike, et Bernard Thorens. 2013. « The SLC2 (GLUT) Family of Membrane Transporters ». *Molecular Aspects of Medicine* 34 (2-3): 121-38. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.07.001>.
- Murray, Peter J. 2017. « Macrophage Polarization ». *Annual Review of Physiology* 79: 541-66. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-022516-034339>.
- Nabhan, Chadi, et Steven T. Rosen. 2014. « Chronic Lymphocytic Leukemia: A Clinical Review ». *JAMA* 312 (21): 2265-76. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.14553>.
- Nag, A. C. 1980. « Study of Non-Muscle Cells of the Adult Mammalian Heart: A Fine Structural Analysis and Distribution ». *Cytobios* 28 (109): 41-61.
- Nagao, Ayako, Minoru Kobayashi, Sho Koyasu, Christalle C. T. Chow, et Hiroshi Harada. 2019. « HIF-1-Dependent Reprogramming of Glucose Metabolic Pathway of Cancer Cells and Its Therapeutic Significance ». *International Journal of Molecular Sciences* 20 (2). <https://doi.org/10.3390/ijms20020238>.
- Nakashima, R. A., P. S. Mangan, M. Colombini, et P. L. Pedersen. 1986. « Hexokinase Receptor Complex in Hepatoma Mitochondria: Evidence from N,N'-Dicyclohexylcarbodiimide-Labeling Studies for the Involvement of the Pore-Forming Protein VDAC ». *Biochemistry* 25 (5): 1015-21. <https://doi.org/10.1021/bi00353a010>.

- Nalepa, Grzegorz, et D. Wade Clapp. 2018. « Fanconi Anaemia and Cancer: An Intricate Relationship ». *Nature Reviews Cancer* 18 (3): 168-85. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.116>.
- Nautiyal, Jaya. 2017. « Transcriptional Coregulator RIP140: An Essential Regulator of Physiology ». *Journal of Molecular Endocrinology* 58 (3): R147-58. <https://doi.org/10.1530/JME-16-0156>.
- Nautiyal, Jaya, Mark Christian, et Malcolm G. Parker. 2013. « Distinct Functions for RIP140 in Development, Inflammation, and Metabolism ». *Trends in Endocrinology & Metabolism* 24 (9): 451-59. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2013.05.001>.
- Nautiyal, Jaya, Jennifer H. Steel, Meritxell Rosell Mane, Olayiwola Oduwole, Ariel Poliandri, Xanthippi Alexi, Nicholas Wood, et al. 2013. « The Transcriptional Co-Factor RIP140 Regulates Mammary Gland Development by Promoting the Generation of Key Mitogenic Signals ». *Development* 140 (5): 1079-89. <https://doi.org/10.1242/dev.085720>.
- Nencioni, Alessio, Irene Caffa, Salvatore Cortellino, et Valter D. Longo. 2018. « Fasting and cancer: molecular mechanisms and clinical application ». *Nature reviews. Cancer* 18 (11): 707-19. <https://doi.org/10.1038/s41568-018-0061-0>.
- Nes, Johannes A. P. van de, Klaus G. Griewank, Kurt-Werner Schmid, et Florian Grabelius. 2015. « Immunocytochemical Analysis of Glucose Transporter Protein-1 (GLUT-1) in Typical, Brain Invasive, Atypical and Anaplastic Meningioma ». *Neuropathology: Official Journal of the Japanese Society of Neuropathology* 35 (1): 24-36. <https://doi.org/10.1111/neup.12148>.
- Ng, Chin-Hin, et Wee-Joo Chng. 2017. « Recent advances in acute promyelocytic leukaemia ». *F1000Research* 6 (juillet). <https://doi.org/10.12688/f1000research.10736.1>.
- Nganthavee, Variya, Woraphun Phutthasakda, Kawita Atipas, Sirikul Tanpong, Teeramet Pungprasert, Dhanach Dhirachaikulpanich, Saran Krithin, et al. 2019. « High Incidence of Invasive Fungal Infection during Acute Myeloid Leukemia Treatment in a Resource-Limited Country: Clinical Risk Factors and Treatment Outcomes ». *Supportive Care in Cancer: Official Journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer* 27 (9): 3613-22. <https://doi.org/10.1007/s00520-019-04720-5>.
- Nikanjam, Mina, Edmund V. Capparelli, Jeffrey E. Lancet, Arthur Louie, et Gary Schiller. 2018. « Persistent Cytarabine and Daunorubicin Exposure after Administration of Novel Liposomal Formulation CPX-351: Population Pharmacokinetic Assessment ». *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 81 (1): 171-78. <https://doi.org/10.1007/s00280-017-3484-5>.

- Nogueira, Veronique, et Nissim Hay. 2013. « Molecular Pathways: Reactive Oxygen Species Homeostasis in Cancer Cells and Implications for Cancer Therapy ». *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 19 (16): 4309-14. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-1424>.
- Odes, Edward J., Patrick S. Randolph-Quinney, Maryna Steyn, Zach Throckmorton, Jacqueline S. Smilg, Bernhard Zipfel, Tanya N. Augustine, et al. 2016. « Earliest Hominin Cancer: 1.7-Million-Year-Old Osteosarcoma from Swartkrans Cave, South Africa ». *South African Journal of Science* 112 (7/8): 5-5. <https://doi.org/10.17159/sajs.2016/20150471>.
- Ohh, M., C. W. Park, M. Ivan, M. A. Hoffman, T. Y. Kim, L. E. Huang, N. Pavletich, V. Chau, et W. G. Kaelin. 2000. « Ubiquitination of Hypoxia-Inducible Factor Requires Direct Binding to the Beta-Domain of the von Hippel-Lindau Protein ». *Nature Cell Biology* 2 (7): 423-27. <https://doi.org/10.1038/35017054>.
- Olsson, I., G. Bergh, M. Ehinger, et U. Gullberg. 1996. « Cell Differentiation in Acute Myeloid Leukemia ». *European Journal of Haematology* 57 (1): 1-16. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.1996.tb00483.x>.
- Østgård, Lene Sofie Granfeldt, Jennifer L. Lund, Jan Maxwell Nørgaard, Mette Nørgaard, Bruno C. Medeiros, Bendt Nielsen, Ove Juul Nielsen, et al. 2018. « Impact of Allogeneic Stem Cell Transplantation in First Complete Remission in Acute Myeloid Leukemia: A National Population-Based Cohort Study ». *Biology of Blood and Marrow Transplantation: Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* 24 (2): 314-23. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2017.10.019>.
- Ozkaya, Ali Burak, Handan Ak, et Sevcan Atay and Hikmet Hakan Aydin. 2015. « Targeting Mitochondrial Citrate Transport in Breast Cancer Cell Lines ». *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. 28 février 2015. <https://www.eurekaselect.com/126972/article>.
- Park, Keun-Gyu, Ae-Kyung Min, Eun Hee Koh, Hyoun Sik Kim, Mi-Ok Kim, Hye-Sun Park, Yong-Deuk Kim, et al. 2008. « Alpha-Lipoic Acid Decreases Hepatic Lipogenesis through Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase (AMPK)-Dependent and AMPK-Independent Pathways ». *Hepatology* 48 (5): 1477-86. <https://doi.org/10.1002/hep.22496>.
- Patra, Krushna C., et Nissim Hay. 2014. « The pentose phosphate pathway and cancer ». *Trends in biochemical sciences* 39 (8): 347-54. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2014.06.005>.
- Perl, Alexander E., Giovanni Martinelli, Jorge E. Cortes, Andreas Neubauer, Ellin Berman, Stefania Paolini, Pau Montesinos, et al. 2019. « Gilteritinib or Chemotherapy for Relapsed or Refractory FLT3-Mutated AML ». *The New England Journal of Medicine* 381 (18): 1728-40. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1902688>.

- Persaud, Shawna D., Wei-Hong Huang, Sung Wook Park, et Li-Na Wei. 2011. « Gene Repressive Activity of RIP140 Through Direct Interaction with CDK8 ». *Molecular Endocrinology* 25 (10): 1689-98. <https://doi.org/10.1210/me.2011-1072>.
- Petros, John A., Amanda K. Baumann, Eduardo Ruiz-Pesini, Mahul B. Amin, Carrie Qi Sun, John Hall, SoDug Lim, et al. 2005. « MtDNA Mutations Increase Tumorigenicity in Prostate Cancer ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (3): 719-24. <https://doi.org/10.1073/pnas.0408894102>.
- Piao, Hongying, Xiaojie Chu, Wentao Lv, et Yan Zhao. 2017. « Involvement of Receptor-Interacting Protein 140 in Estrogen-Mediated Osteoclasts Differentiation, Apoptosis, and Bone Resorption ». *The Journal of Physiological Sciences: JPS* 67 (1): 141-50. <https://doi.org/10.1007/s12576-016-0447-2>.
- Powelka, Aimee M., Asha Seth, Joseph V. Virbasius, Evangelos Kiskinis, Sarah M. Nicoloro, Adilson Guilherme, Xiaoqing Tang, et al. 2006. « Suppression of Oxidative Metabolism and Mitochondrial Biogenesis by the Transcriptional Corepressor RIP140 in Mouse Adipocytes ». *The Journal of Clinical Investigation* 116 (1): 125-36. <https://doi.org/10.1172/JCI26040>.
- Previs, Rebecca A., Robert L. Coleman, Adrian L. Harris, et Anil K. Sood. 2015. « Molecular Pathways: Translational and Therapeutic Implications of the Notch Signaling Pathway in Cancer ». *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 21 (5): 955-61. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-0809>.
- Prior, Ian A., Paul D. Lewis, et Carla Mattos. 2012. « A Comprehensive Survey of Ras Mutations in Cancer ». *Cancer Research* 72 (10): 2457-67. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-2612>.
- Ravi, R., B. Mookerjee, Z. M. Bhujwalla, C. H. Sutter, D. Artemov, Q. Zeng, L. E. Dillehay, A. Madan, G. L. Semenza, et A. Bedi. 2000. « Regulation of Tumor Angiogenesis by P53-Induced Degradation of Hypoxia-Inducible Factor 1alpha ». *Genes & Development* 14 (1): 34-44.
- Rawla, Prashanth, et Adam Barsouk. 2019. « Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention ». *Przegląd Gastroenterologiczny* 14 (1): 26-38. <https://doi.org/10.5114/pg.2018.80001>.
- Razungles, Julie, Vincent Cavaillès, Stéphan Jalaguier, et Catherine Teyssier. 2013a. « L'effet Warburg: De la théorie du cancer aux applications thérapeutiques en cancérologie ». *médecine/sciences* 29 (11): 1026-33. <https://doi.org/10.1051/medsci/20132911020>.
- . 2013b. « [The Warburg effect: from theory to therapeutic applications in cancer] ». *Medicine Sciences: M/S* 29 (11): 1026-33. <https://doi.org/10.1051/medsci/20132911020>.

- Reikvam, Håkon, Randi Hovland, Rakel Brendsdal Forthun, Sigrid Erdal, Bjørn Tore Gjertsen, Hanne Fredly, et Øystein Bruserud. 2017. « Disease-Stabilizing Treatment Based on All-Trans Retinoic Acid and Valproic Acid in Acute Myeloid Leukemia - Identification of Responders by Gene Expression Profiling of Pretreatment Leukemic Cells ». *BMC Cancer* 17 (1): 630. <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3620-y>.
- Rempel, A., S. P. Mathupala, C. A. Griffin, A. L. Hawkins, et P. L. Pedersen. 1996. « Glucose Catabolism in Cancer Cells: Amplification of the Gene Encoding Type II Hexokinase ». *Cancer Research* 56 (11): 2468-71.
- Riscal, Romain, Emilie Schrepfer, Giuseppe Arena, Madi Y. Cissé, Floriant Bellvert, Maud Heuillet, Florian Rambow, et al. 2016. « Chromatin-Bound MDM2 Regulates Serine Metabolism and Redox Homeostasis Independently of P53 ». *Molecular Cell* 62 (6): 890-902. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.04.033>.
- Ritz, B., H. Morgenstern, J. Froines, et B. B. Young. 1999. « Effects of Exposure to External Ionizing Radiation on Cancer Mortality in Nuclear Workers Monitored for Radiation at Rocketdyne/Atomics International ». *American Journal of Industrial Medicine* 35 (1): 21-31. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0274\(199901\)35:1<21::aid-ajim4>3.0.co;2-x](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0274(199901)35:1<21::aid-ajim4>3.0.co;2-x).
- Robey, R. B., et N. Hay. 2006. « Mitochondrial Hexokinases, Novel Mediators of the Antiapoptotic Effects of Growth Factors and Akt ». *Oncogene* 25 (34): 4683-96. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209595>.
- Robey, R. Brooks, et Nissim Hay. 2009. « Is Akt the “Warburg kinase”?—Akt-energy metabolism interactions and oncogenesis ». *Seminars in cancer biology* 19 (1): 25. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2008.11.010>.
- Rodríguez-Enríquez, Sara, Luz Hernández-Esquível, Alvaro Marín-Hernández, Mohammed El Hafidi, Juan Carlos Gallardo-Pérez, Ileana Hernández-Reséndiz, José S. Rodríguez-Zavala, Silvia C. Pacheco-Velázquez, et Rafael Moreno-Sánchez. 2015. « Mitochondrial Free Fatty Acid β -Oxidation Supports Oxidative Phosphorylation and Proliferation in Cancer Cells ». *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 65 (août): 209-21. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2015.06.010>.
- Rosell, Meritxell, Ekaterina Nevedomskaya, Suzan Stelloo, Jaya Nautiyal, Ariel Poliandri, Jennifer H. Steel, Lodewyk F. A. Wessels, Jason S. Carroll, Malcolm G. Parker, et Wilbert Zwart. 2014. « Complex Formation and Function of Estrogen Receptor α in Transcription Requires RIP140 ». *Cancer Research* 74 (19): 5469-79. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-3429>.
- Ruddy, Samantha C., Rosanna Lau, Miguel A. Cabrita, Chelsea McGregor, Bruce C. McKay, Leigh C. Murphy, James S. Wright, Tony Durst, et M. A. Christine Pratt. 2014. « Preferential Estrogen Receptor β Ligands Reduce Bcl-2 Expression in Hormone-Resistant Breast Cancer Cells to Increase Autophagy ». *Molecular Cancer Therapeutics* 13 (7): 1882-93. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-13-1066>.

- Russo, Lucia, et Carey N. Lumeng. 2018. « Properties and Functions of Adipose Tissue Macrophages in Obesity ». *Immunology* 155 (4): 407-17. <https://doi.org/10.1111/imm.13002>.
- Rytinki, Miia M., et Jorma J. Palvimo. 2008. « SUMOylation Modulates the Transcription Repressor Function of RIP140 ». *The Journal of Biological Chemistry* 283 (17): 11586-95. <https://doi.org/10.1074/jbc.M709359200>.
- San José-Enériz, Edurne, Naroa Gimenez-Camino, Xabier Agirre, et Felipe Prosper. 2019. « HDAC Inhibitors in Acute Myeloid Leukemia ». *Cancers* 11 (11). <https://doi.org/10.3390/cancers11111794>.
- Santana-Codina, Naiara, Anjali A. Roeth, Yi Zhang, Annan Yang, Oksana Mashadova, John M. Asara, Xiaoxu Wang, et al. 2018. « Oncogenic KRAS Supports Pancreatic Cancer through Regulation of Nucleotide Synthesis ». *Nature Communications* 9 (1): 4945. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07472-8>.
- Sanyal, Sabyasachi, Jason Matthews, Didier Bouton, Han-Jong Kim, Hueng-Sik Choi, Eckardt Treuter, et Jan-Ake Gustafsson. 2004. « Deoxyribonucleic Acid Response Element-Dependent Regulation of Transcription by Orphan Nuclear Receptor Estrogen Receptor-Related Receptor Gamma ». *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)* 18 (2): 312-25. <https://doi.org/10.1210/me.2003-0165>.
- Sanz, M. A., G. Martín, C. Rayón, J. Esteve, M. González, J. Díaz-Mediavilla, P. Bolufer, et al. 1999. « A Modified AIDA Protocol with Anthracycline-Based Consolidation Results in High Antileukemic Efficacy and Reduced Toxicity in Newly Diagnosed PML/RARalpha-Positive Acute Promyelocytic Leukemia. PETHEMA Group ». *Blood* 94 (9): 3015-21.
- Schmid, Christoph, Michael Schleuning, Rainer Schwerdtfeger, Bernd Hertenstein, Eva Mischak-Weissinger, Donald Bunjes, Stephanie V. Harsdorf, et al. 2006. « Long-Term Survival in Refractory Acute Myeloid Leukemia after Sequential Treatment with Chemotherapy and Reduced-Intensity Conditioning for Allogeneic Stem Cell Transplantation ». *Blood* 108 (3): 1092-99. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-10-4165>.
- Schwartzenberg-Bar-Yoseph, Fabiana, Michal Armoni, et Eddy Karnieli. 2004. « The Tumor Suppressor P53 Down-Regulates Glucose Transporters GLUT1 and GLUT4 Gene Expression ». *Cancer Research* 64 (7): 2627-33. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-03-0846>.
- Sermeus, A, et C Michiels. 2011. « Reciprocal influence of the p53 and the hypoxic pathways ». *Cell Death & Disease* 2 (5): e164. <https://doi.org/10.1038/cddis.2011.48>.

- Serna-Blasco, Roberto, Marta Sanz-Álvarez, Óscar Aguilera, et Jesús García-Foncillas. 2019. « Targeting the RAS-Dependent Chemoresistance: The Warburg Connection ». *Seminars in Cancer Biology*, Some Chinks in Ras Armor: Novel Cancer Therapeutics on the Horizon, 54 (février): 80-90. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2018.01.016>.
- Seth, Asha, Jennifer H. Steel, Donna Nichol, Victoria Pocock, Mande K. Kumaran, Asmaa Fritah, Margaret Mobberley, et al. 2007. « The Transcriptional Corepressor RIP140 Regulates Oxidative Metabolism in Skeletal Muscle ». *Cell Metabolism* 6 (3): 236-45. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.08.004>.
- Sever, Richard, et Christopher K. Glass. 2013. « Signaling by Nuclear Receptors ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 5 (3). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016709>.
- Shafat, Manar S., Bruno Gnanesan, Kristian M. Bowles, et Stuart A. Rushworth. 2017. « The Bone Marrow Microenvironment - Home of the Leukemic Blasts ». *Blood Reviews* 31 (5): 277-86. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2017.03.004>.
- Shallis, Rory M., Rong Wang, Amy Davidoff, Xiaomei Ma, et Amer M. Zeidan. 2019. « Epidemiology of Acute Myeloid Leukemia: Recent Progress and Enduring Challenges ». *Blood Reviews* 36 (juillet): 70-87. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2019.04.005>.
- Sharma, Lokendra Kumar, Hezhi Fang, Jiangtao Liu, Rasika Vartak, Janice Deng, et Yidong Bai. 2011. « Mitochondrial Respiratory Complex I Dysfunction Promotes Tumorigenesis through ROS Alteration and AKT Activation ». *Human Molecular Genetics* 20 (23): 4605-16. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr395>.
- Shukla, Nidhi, Amit Kumar Adhya, et Jaysree Rath. 2017. « Expression of Alpha - Methylacyl - Coenzyme A Racemase (AMACR) in Colorectal Neoplasia ». *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR* 11 (4): EC35-38. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/25303.9727>.
- Sinha, Chandrima, Lea C. Cunningham, et Paul P. Liu. 2015. « Core binding factor AML: New prognostic categories and therapeutic opportunities ». *Seminars in hematology* 52 (3): 215-22. <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2015.04.002>.
- Sixou, Sophie, Katharina Müller, Stéphan Jalaguier, Christina Kuhn, Nadia Harbeck, Doris Mayr, Jutta Engel, Udo Jeschke, Nina Ditsch, et Vincent Cavaillès. 2018. « Importance of RIP140 and LCoR Sub-Cellular Localization for Their Association With Breast Cancer Aggressiveness and Patient Survival ». *Translational Oncology* 11 (5): 1090-96. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2018.06.006>.
- Stacpoole, Peter W., Christopher J. Martyniuk, Margaret O. James, et Nigel A. Calcutt. 2019. « Dichloroacetate-Induced Peripheral Neuropathy ». *International Review of Neurobiology* 145: 211-38. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2019.05.003>.

- Stambolsky, P., L. Weisz, I. Shats, Y. Klein, N. Goldfinger, M. Oren, et V. Rotter. 2006. « Regulation of AIF Expression by P53 ». *Cell Death and Differentiation* 13 (12): 2140-49. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401965>.
- Stanton, Robert C. 2012. « Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase, NADPH, and Cell Survival ». *Iubmb Life* 64 (5): 362-69. <https://doi.org/10.1002/iub.1017>.
- Steensma, David P., Rafael Bejar, Siddhartha Jaiswal, R. Coleman Lindsley, Mikkael A. Sekeres, Robert P. Hasserjian, et Benjamin L. Ebert. 2015. « Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential and Its Distinction from Myelodysplastic Syndromes ». *Blood* 126 (1): 9-16. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-03-631747>.
- Stein, Eytan M., Courtney D. DiNardo, Daniel A. Pollyea, Amir T. Fathi, Gail J. Roboz, Jessica K. Altman, Richard M. Stone, et al. 2017. « Enasidenib in Mutant IDH2 Relapsed or Refractory Acute Myeloid Leukemia ». *Blood* 130 (6): 722-31. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-04-779405>.
- Sternisha, Shawn M., et Brian G. Miller. 2019. « Molecular and Cellular Regulation of Human Glucokinase ». *Archives of biochemistry and biophysics* 663 (mars): 199-213. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2019.01.011>.
- Stone, Richard M., Sumithra J. Mandrekar, Ben L. Sanford, Kristina Laumann, Susan Geyer, Clara D. Bloomfield, Christian Thiede, et al. 2017. « Midostaurin plus Chemotherapy for Acute Myeloid Leukemia with a FLT3 Mutation ». *The New England Journal of Medicine* 377 (5): 454-64. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1614359>.
- Subramaniam, N., E. Treuter, et S. Okret. 1999. « Receptor Interacting Protein RIP140 Inhibits Both Positive and Negative Gene Regulation by Glucocorticoids ». *The Journal of Biological Chemistry* 274 (25): 18121-27. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.25.18121>.
- Sun, Hong, Anyou Zhu, Xiang Zhou, et Fengchao Wang. 2017. « Suppression of Pyruvate Dehydrogenase Kinase-2 Re-Sensitizes Paclitaxel-Resistant Human Lung Cancer Cells to Paclitaxel ». *Oncotarget* 8 (32): 52642-50. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16991>.
- Sutphin, Patrick D., Amato J. Giaccia, et Denise A. Chan. 2007. « Energy Regulation: HIF MXIes It up with the C-MYC Powerhouse ». *Developmental Cell* 12 (6): 845-46. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2007.05.006>.
- Sweeney, Connor, et Paresh Vyas. 2019. « The Graft-Versus-Leukemia Effect in AML ». *Frontiers in Oncology* 9 (novembre). <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01217>.
- Szutowicz, A., J. Kwiatkowski, et S. Angielski. 1979. « Lipogenetic and Glycolytic Enzyme Activities in Carcinoma and Nonmalignant Diseases of the Human Breast ». *British Journal of Cancer* 39 (6): 681-87. <https://doi.org/10.1038/bjc.1979.120>.

- T, Herold, Jurinovic V, Metzeler Kh, Boulesteix Al, Bergmann M, Seiler T, Mulaw M, et al. 2011. « An Eight-Gene Expression Signature for the Prediction of Survival and Time to Treatment in Chronic Lymphocytic Leukemia ». *Leukemia*. Leukemia. octobre 2011. <https://doi.org/10.1038/leu.2011.125>.
- Talbot, Jared, et Lisa Maves. 2016. « Skeletal muscle fiber type: using insights from muscle developmental biology to dissect targets for susceptibility and resistance to muscle disease ». *Wiley interdisciplinary reviews. Developmental biology* 5 (4): 518-34. <https://doi.org/10.1002/wdev.230>.
- Tallman, Martin S., Chadi Nabhan, James H. Feusner, et Jacob M. Rowe. 2002. « Acute Promyelocytic Leukemia: Evolving Therapeutic Strategies ». *Blood* 99 (3): 759-67. <https://doi.org/10.1182/blood.v99.3.759>.
- Tanner, John J., Sarah-Maria Fendt, et Donald F. Becker. 2018. « The Proline Cycle As a Potential Cancer Therapy Target ». *Biochemistry* 57 (25): 3433-44. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.8b00215>.
- Tassara, Michela, Konstanze Döhner, Peter Brossart, Gerhard Held, Katharina Götze, Heinz-A. Horst, Mark Ringhoffer, et al. 2014. « Valproic Acid in Combination with All-Trans Retinoic Acid and Intensive Therapy for Acute Myeloid Leukemia in Older Patients ». *Blood* 123 (26): 4027-36. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-12-546283>.
- Terry, Paul D., David L. Shore, Garth H. Rauscher, et Dale P. Sandler. 2005. « Occupation, Hobbies, and Acute Leukemia in Adults ». *Leukemia Research* 29 (10): 1117-30. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2005.03.002>.
- Teyssier, Catherine, Karine Belguise, Florence Galtier, Vincent Cavailles, et Dany Chalbos. 2003. « Receptor-Interacting Protein 140 Binds c-Jun and Inhibits Estradiol-Induced Activator Protein-1 Activity by Reversing Glucocorticoid Receptor-Interacting Protein 1 Effect ». *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)* 17 (2): 287-99. <https://doi.org/10.1210/me.2002-0324>.
- Thompson, Craig B. 2014. « Wnt Meets Warburg: Another Piece in the Puzzle? ». *The EMBO Journal* 33 (13): 1420-22. <https://doi.org/10.15252/embj.201488785>.
- Tien, An-Chi, Akhila Rajan, et Hugo J. Bellen. 2009. « A Notch updated ». *The Journal of Cell Biology* 184 (5): 621-29. <https://doi.org/10.1083/jcb.200811141>.
- Treuter, E., T. Albrechtsen, L. Johansson, J. Leers, et J. A. Gustafsson. 1998. « A Regulatory Role for RIP140 in Nuclear Receptor Activation ». *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)* 12 (6): 864-81. <https://doi.org/10.1210/mend.12.6.0123>.

- Triki, Mouna, Dorra Ben Ayed-Guerfali, Ines Saguem, Slim Charfi, Lobna Ayedi, Tahia Sellami-Boudawara, Vincent Cavailles, et Raja Mokdad-Gargouri. 2017. « RIP140 and LCoR expression in gastrointestinal cancers ». *Oncotarget* 8 (67): 111161-75. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.22686>.
- Trotta, Andrew P., Jesse D. Gelles, Madhavika N. Serasinghe, Patrick Loi, Jack L. Arbiser, et Jerry E. Chipuk. 2017. « Disruption of Mitochondrial Electron Transport Chain Function Potentiates the Pro-Apoptotic Effects of MAPK Inhibition ». *The Journal of Biological Chemistry* 292 (28): 11727-39. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.786442>.
- Trus, M. R., L. Yang, F. Suarez Saiz, L. Bordeleau, I. Jurisica, et M. D. Minden. 2005. « The Histone Deacetylase Inhibitor Valproic Acid Alters Sensitivity towards All Trans Retinoic Acid in Acute Myeloblastic Leukemia Cells ». *Leukemia* 19 (7): 1161-68. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2403773>.
- Tseng, Ling-Ming, Pen-Hui Yin, Chin-Wen Chi, Chih-Yi Hsu, Chew-Wun Wu, Liang-Ming Lee, Yau-Huei Wei, et Hsin-Chen Lee. 2006. « Mitochondrial DNA Mutations and Mitochondrial DNA Depletion in Breast Cancer ». *Genes, Chromosomes & Cancer* 45 (7): 629-38. <https://doi.org/10.1002/gcc.20326>.
- Veer, MB van't, A. M. Brooijmans, A. W. Langerak, B. Verhaaf, C. S. Goudswaard, W. J. Graveland, K. van Lom, et P. J. Valk. 2006. « The Predictive Value of Lipoprotein Lipase for Survival in Chronic Lymphocytic Leukemia ». *Haematologica* 91 (1): 56-63.
- Verduzco, Daniel, Mark Lloyd, Liping Xu, Arig Ibrahim-Hashim, Yoganand Balagurunathan, Robert A. Gatenby, et Robert J. Gillies. 2015. « Intermittent Hypoxia Selects for Genotypes and Phenotypes That Increase Survival, Invasion, and Therapy Resistance ». *PLOS ONE* 10 (3): e0120958. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120958>.
- Verhagen, Han J. M. P., Marjon A. Smit, Arjo Rutten, Fedor Denkers, Pino J. Poddighe, Pauline A. Merle, Gert J. Ossenkoppele, et Linda Smit. 2016. « Primary Acute Myeloid Leukemia Cells with Overexpression of EVI-1 Are Sensitive to All-Trans Retinoic Acid ». *Blood* 127 (4): 458-63. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-07-653840>.
- Vo, N., C. Fjeld, et R. H. Goodman. 2001. « Acetylation of Nuclear Hormone Receptor-Interacting Protein RIP140 Regulates Binding of the Transcriptional Corepressor CtBP ». *Molecular and Cellular Biology* 21 (18): 6181-88. <https://doi.org/10.1128/mcb.21.18.6181-6188.2001>.
- Walsh, Joseph C., Artem Lebedev, Edward Aten, Kathleen Madsen, Liane Marciano, et Hartmuth C. Kolb. 2014. « The Clinical Importance of Assessing Tumor Hypoxia: Relationship of Tumor Hypoxia to Prognosis and Therapeutic Opportunities ». *Antioxidants & Redox Signaling* 21 (10): 1516-54. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5378>.

- Walter, Roland B. 2018. « Investigational CD33-Targeted Therapeutics for Acute Myeloid Leukemia ». *Expert Opinion on Investigational Drugs* 27 (4): 339-48. <https://doi.org/10.1080/13543784.2018.1452911>.
- Walter, Roland B., Frederick R. Appelbaum, Elihu H. Estey, et Irwin D. Bernstein. 2012. « Acute Myeloid Leukemia Stem Cells and CD33-Targeted Immunotherapy ». *Blood* 119 (26): 6198-6208. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-11-325050>.
- Walter, Roland B., Megan Othus, Gautam Borthakur, Farhad Ravandi, Jorge E. Cortes, Sherry A. Pierce, Frederick R. Appelbaum, Hagop A. Kantarjian, et Elihu H. Estey. 2011. « Prediction of Early Death after Induction Therapy for Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia with Pretreatment Risk Scores: A Novel Paradigm for Treatment Assignment ». *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 29 (33): 4417-23. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.35.7525>.
- Wang, G. L., B. H. Jiang, E. A. Rue, et G. L. Semenza. 1995. « Hypoxia-Inducible Factor 1 Is a Basic-Helix-Loop-Helix-PAS Heterodimer Regulated by Cellular O₂ Tension ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92 (12): 5510-14. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.12.5510>.
- Wang, Haibo, Yuan Zhang, Einav Yehuda-Shnaidman, Alexander V. Medvedev, Naresh Kumar, Kiefer W. Daniel, Jacques Robidoux, Michael P. Czech, David J. Mangelsdorf, et Sheila Collins. 2008. « Liver X Receptor α Is a Transcriptional Repressor of the Uncoupling Protein 1 Gene and the Brown Fat Phenotype ». *Molecular and Cellular Biology* 28 (7): 2187-2200. <https://doi.org/10.1128/MCB.01479-07>.
- Wang, Yu, Yunxia Wang, Liang Shen, Yingxin Pang, Zhen Qiao, et Peishu Liu. 2012. « Prognostic and Therapeutic Implications of Increased ATP Citrate Lyase Expression in Human Epithelial Ovarian Cancer ». *Oncology Reports* 27 (4): 1156-62. <https://doi.org/10.3892/or.2012.1638>.
- Warburg, O., F. Wind, et E. Negelein. 1927. « THE METABOLISM OF TUMORS IN THE BODY ». *The Journal of General Physiology* 8 (6): 519-30. <https://doi.org/10.1085/jgp.8.6.519>.
- Webster, Jonathan A., et Keith W. Pratz. 2018. « Acute myeloid leukemia in the elderly: therapeutic options and choice ». *Leukemia & lymphoma* 59 (2): 274-87. <https://doi.org/10.1080/10428194.2017.1330956>.
- Wei, Andrew H., Stephen A. Strickland, Jing-Zhou Hou, Walter Fiedler, Tara L. Lin, Roland B. Walter, Anoop Enjeti, et al. 2019. « Venetoclax Combined With Low-Dose Cytarabine for Previously Untreated Patients With Acute Myeloid Leukemia: Results From a Phase Ib/II Study ». *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 37 (15): 1277-84. <https://doi.org/10.1200/JCO.18.01600>.

- White, R., G. Leonardsson, I. Rosewell, M. Ann Jacobs, S. Milligan, et M. Parker. 2000. « The Nuclear Receptor Co-Repressor Nrip1 (RIP140) Is Essential for Female Fertility ». *Nature Medicine* 6 (12): 1368-74. <https://doi.org/10.1038/82183>.
- Windahl, S. H., E. Treuter, J. Ford, J. Zilliacus, J. A. Gustafsson, et I. J. McEwan. 1999. « The Nuclear-Receptor Interacting Protein (RIP) 140 Binds to the Human Glucocorticoid Receptor and Modulates Hormone-Dependent Transactivation ». *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 71 (3-4): 93-102. [https://doi.org/10.1016/s0960-0760\(99\)00128-4](https://doi.org/10.1016/s0960-0760(99)00128-4).
- Wise, David R., Ralph J. DeBerardinis, Anthony Mancuso, Nabil Sayed, Xiao-Yong Zhang, Harla K. Pfeiffer, Ilana Nissim, et al. 2008. « Myc Regulates a Transcriptional Program That Stimulates Mitochondrial Glutaminolysis and Leads to Glutamine Addiction ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (48): 18782-87. <https://doi.org/10.1073/pnas.0810199105>.
- Woods, Angela, Stephen R. Johnstone, Kristina Dickerson, Fiona C. Leiper, Lee G. D. Fryer, Dietbert Neumann, Uwe Schlattner, Theo Wallimann, Marian Carlson, et David Carling. 2003. « LKB1 Is the Upstream Kinase in the AMP-Activated Protein Kinase Cascade ». *Current Biology: CB* 13 (22): 2004-8. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2003.10.031>.
- Woolbright, Benjamin L., Dharamainder Choudhary, Andrew Mikhalyuk, Cassandra Trammel, Sambantham Shanmugam, Erika Abbott, Carol C. Pilbeam, et John A. Taylor. 2018. « The Role of Pyruvate Dehydrogenase Kinase-4 (PDK4) in Bladder Cancer and Chemoresistance ». *Molecular Cancer Therapeutics* 17 (9): 2004-12. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-18-0063>.
- Wu, Cheng-Ying, Xudong Feng, et Li-Na Wei. 2014. « Coordinated repressive chromatin-remodeling of Oct4 and Nanog genes in RA-induced differentiation of embryonic stem cells involves RIP140 ». *Nucleic Acids Research* 42 (7): 4306-17. <https://doi.org/10.1093/nar/gku092>.
- Wu, Xinyu, Garrett Daniels, Peng Lee, et Marie E. Monaco. 2014. « Lipid Metabolism in Prostate Cancer ». *American Journal of Clinical and Experimental Urology* 2 (2): 111-20.
- Xia, Kun, Panpan Zhang, Jian Hu, Huan Hou, Mingdi Xiong, Junping Xiong, et Nianlong Yan. 2018. « Synergistic effect of receptor-interacting protein 140 and simvastatin on the inhibition of proliferation and survival of hepatocellular carcinoma cells ». *Oncology Letters* 15 (4): 4344-50. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.7831>.
- Xu, Jinhua, Yinghua Chen, Dezheng Huo, Andrey Khramtsov, Galina Khramtsova, Chunling Zhang, Kathleen H. Goss, et Olufunmilayo I. Olopade. 2016. « β -Catenin Regulates c-Myc and CDKN1A Expression in Breast Cancer Cells ». *Molecular Carcinogenesis* 55 (5): 431-39. <https://doi.org/10.1002/mc.22292>.

- Xu, Wei, Hui Yang, Ying Liu, Ying Yang, Ping Wang, Se-Hee Kim, Shinsuke Ito, et al. 2011. « Oncometabolite 2-Hydroxyglutarate Is a Competitive Inhibitor of α -Ketoglutarate-Dependent Dioxygenases ». *Cancer Cell* 19 (1): 17-30. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2010.12.014>.
- Yanada, Masamitsu, Keitaro Matsuo, Nobuhiko Emi, et Tomoki Naoe. 2005. « Efficacy of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Depends on Cytogenetic Risk for Acute Myeloid Leukemia in First Disease Remission: A Metaanalysis ». *Cancer* 103 (8): 1652-58. <https://doi.org/10.1002/cncr.20945>.
- Yang, Hung-Chi, Yi-Hsuan Wu, Wei-Chen Yen, Hui-Ya Liu, Tsong-Long Hwang, Arnold Stern, et Daniel Tsun-Yee Chiu. 2019. « The Redox Role of G6PD in Cell Growth, Cell Death, and Cancer ». *Cells* 8 (9). <https://doi.org/10.3390/cells8091055>.
- Yang, Kai-Chien, Kai-Wen Chuang, Won-Shin Yen, Ssu-Yu Lin, Hsin-Hsiung Chen, Szu-Wei Chang, Yu-Shan Lin, et al. 2019. « Deficiency of Nuclear Receptor Interaction Protein Leads to Cardiomyopathy by Disrupting Sarcomere Structure and Mitochondrial Respiration ». *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 137: 9-24. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2019.09.009>.
- You, J., Z. Yue, S. Chen, Y. Chen, X. Lu, X. Zhang, P. Shen, et al. 2017. « Receptor-Interacting Protein 140 Represses Sirtuin 3 to Facilitate Hypertrophy, Mitochondrial Dysfunction and Energy Metabolic Dysfunction in Cardiomyocytes ». *Acta Physiologica (Oxford, England)* 220 (1): 58-71. <https://doi.org/10.1111/apha.12800>.
- Yu, Jian, Junliang Li, Shanyi Zhang, Xinke Xu, Meiguang Zheng, Guangyi Jiang, et Fangcheng Li. 2012. « IGF-1 Induces Hypoxia-Inducible Factor 1 α -Mediated GLUT3 Expression through PI3K/Akt/MTOR Dependent Pathways in PC12 Cells ». *Brain Research* 1430 (janvier): 18-24. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.10.046>.
- Yu, Xiao-Hong, Xiaodong Xue, Xun Zhu, et Xia Li. 2018. « Downregulation of RIP140 in triple-negative breast cancer inhibits the growth and proliferation of cancer cells ». *Oncology Letters* 15 (6): 8784-88. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8434>.
- Yun, Jihye, Carlo Rago, Ian Cheong, Ray Pagliarini, Philipp Angenendt, Harith Rajagopalan, Kerstin Schmidt, et al. 2009. « Glucose Deprivation Contributes to the Development of KRAS Pathway Mutations in Tumor Cells ». *Science* 325 (5947): 1555-59. <https://doi.org/10.1126/science.1174229>.
- Zha, Xiaojun, Zhongdong Hu, Shuang Ji, Fuquan Jin, Keguo Jiang, Chunjia Li, Pan Zhao, et al. 2015. « NF κ B Up-Regulation of Glucose Transporter 3 Is Essential for Hyperactive Mammalian Target of Rapamycin-Induced Aerobic Glycolysis and Tumor Growth ». *Cancer Letters* 359 (1): 97-106. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2015.01.001>.

- Zhang, Cen, Meihua Lin, Rui Wu, Xiaowen Wang, Bo Yang, Arnold J. Levine, Wenwei Hu, et Zhaohui Feng. 2011. « Parkin, a P53 Target Gene, Mediates the Role of P53 in Glucose Metabolism and the Warburg Effect ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (39): 16259-64. <https://doi.org/10.1073/pnas.1113884108>.
- Zhang, Dexiang, Yueqi Wang, Yuedi Dai, Jiwen Wang, Tao Suo, Hongtao Pan, Han Liu, Sheng Shen, et Houbao Liu. 2015. « Downregulation of RIP140 in Hepatocellular Carcinoma Promoted the Growth and Migration of the Cancer Cells ». *Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* 36 (3): 2077-85. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2815-y>.
- Zhang, Huafeng, Ping Gao, Ryo Fukuda, Ganesh Kumar, Balaji Krishnamachary, Karen I. Zeller, Chi V. Dang, et Gregg L. Semenza. 2007. « HIF-1 Inhibits Mitochondrial Biogenesis and Cellular Respiration in VHL-Deficient Renal Cell Carcinoma by Repression of C-MYC Activity ». *Cancer Cell* 11 (5): 407-20. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2007.04.001>.
- Zhang, Luankun, Yanfang Chen, Zhongbao Yue, Yanhong He, Jian Zou, Shaorui Chen, Min Liu, et al. 2014. « The P65 Subunit of NF-KB Involves in RIP140-Mediated Inflammatory and Metabolic Dysregulation in Cardiomyocytes ». *Archives of Biochemistry and Biophysics* 554 (juillet): 22-27. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2014.05.005>.
- Zhang, Wen, Shao-Lin Zhang, Xiaohui Hu, et Kin Yip Tam. 2015. « Targeting Tumor Metabolism for Cancer Treatment: Is Pyruvate Dehydrogenase Kinases (PDKs) a Viable Anticancer Target? ». *International Journal of Biological Sciences* 11 (12): 1390-1400. <https://doi.org/10.7150/ijbs.13325>.
- Zhao, Mengjing, Huan Zhao, Luomin Lin, Yi Wang, Menglin Chen, et Baojian Wu. 2020. « Nuclear Receptor Co-Repressor RIP140 Regulates Diurnal Expression of Cytochrome P450 2b10 in Mouse Liver ». *Xenobiotica; the Fate of Foreign Compounds in Biological Systems*, avril, 1-10. <https://doi.org/10.1080/00498254.2020.1751342>.
- Zhou, Fang, Zheng Ge, et Baoan Chen. 2019. « Quizartinib (AC220): A Promising Option for Acute Myeloid Leukemia ». *Drug Design, Development and Therapy* 13: 1117-25. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S198950>.
- Zhou, Ming, Arul M. Chinnaiyan, Celina G. Kleer, Peter C. Lucas, et Mark A. Rubin. 2002. « Alpha-Methylacyl-CoA Racemase: A Novel Tumor Marker over-Expressed in Several Human Cancers and Their Precursor Lesions ». *The American Journal of Surgical Pathology* 26 (7): 926-31. <https://doi.org/10.1097/00000478-200207000-00012>.

Zhou, Yunfei, Lakshmi Reddy Bollu, Federico Tozzi, Xiangcang Ye, Rajat Bhattacharya, Guang Gao, Elizabeth Dupre, et al. 2013. « ATP Citrate Lyase Mediates Resistance of Colorectal Cancer Cells to SN38 ». *Molecular Cancer Therapeutics* 12 (12): 2782-91. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-13-0098>.

Zschiedrich, Inka, Ulrike Hardeland, Anja Krones-Herzig, Mauricio Berriel Diaz, Alexandros Vegiopoulos, Johannes Muggenburg, Dirk Sombroek, et al. 2008. « Coactivator Function of RIP140 for NFkappaB/RelA-Dependent Cytokine Gene Expression ». *Blood* 112 (2): 264-76. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-11-121699>.

Etude du rôle du corégulateur transcriptionnel RIP140 dans le métabolisme glucidique et la différenciation des cellules cancéreuses

La reprogrammation métabolique est une caractéristique des cellules cancéreuses qui sont capables, entre autres, de passer d'un métabolisme aérobie (phosphorylation oxydative) à un métabolisme anaérobie (glycolyse) en fonction de leurs besoins. Ceci leur permet de survivre dans des environnements pauvres en nutriments et de résister à certains traitements anti-cancéreux. En effet, les rechutes fréquentes des leucémies aiguës myéloïdes (LAM) peuvent être dues par une reprogrammation métabolique favorisant la phosphorylation oxydative. Expliquer les mécanismes responsables de la reprogrammation métabolique des cellules cancéreuses pourrait conduire au développement de nouvelles thérapies contre le cancer. Mon projet s'intéresse au rôle du corégulateur transcriptionnel RIP140 dans la flexibilité métabolique et la différenciation des cellules cancéreuses. RIP140 (Receptor Interacting Protein of 140 Kda) est un corégulateur transcriptionnel qui participe à la régulation de l'expression de gènes cibles de nombreux facteurs de transcription (récepteurs nucléaires, facteurs AP-1, SP1, NF-KB et E2F1, etc.). Grâce à son large interactome, RIP140 est impliqué dans la régulation de nombreux processus physiologiques et physiopathologiques comme le métabolisme ou le cancer respectivement. Nous nous sommes donc intéressés au rôle potentiel de RIP140 dans le contrôle du métabolisme dans un contexte cancéreux. Nous avons démontré que la perte d'expression de RIP140 dans des fibroblastes embryonnaires murins transformés (MEF RIPKO) induit une augmentation de la prolifération cellulaire, de la croissance tumorale ainsi qu'une augmentation de la glycolyse. De plus, l'avantage prolifératif des MEF RIPKO est abrogé en absence de glucose ou en présence d'inhibiteurs de la glycolyse *in vitro* et *in vivo* dans des expériences de xénogreffes. Enfin, l'expression des gènes de la glycolyse GLUT3 et G6PD est augmentée dans les MEF RIPKO et ses gènes sont nécessaires à la prolifération des cellules RIPKO. Nous avons confirmé l'ensemble de ces résultats dans différentes lignées cancéreuses mammaires, montrant un effet général de RIP140 sur le métabolisme glucidique des cellules cancéreuses. Des expériences d'immunoprécipitation de la chromatine montrent la présence de RIP140 au promoteur de *GLUT3*. Nous avons décrypté le mécanisme moléculaire responsable des effets de RIP140 qui implique le gène suppresseur de tumeur p53 et le facteur HIF-2 α (Hypoxia Inducible Factor 2 α). Nos données établissent pour la première fois RIP140 comme un modulateur critique de l'interférence entre les facteurs HIF et p53 dans le contrôle du métabolisme du glucose dans les cellules cancéreuses mammaires. En parallèle, je me suis intéressé au rôle de RIP140 dans la chimiorésistance des leucémies aiguës myéloïdes (LAM). Nous montrons qu'à l'inverse des tumeurs solides, une forte expression de RIP140 est associée à un mauvais pronostic dans les LAM. La modulation de l'expression de RIP140 grâce à l'utilisation de shRNA dans des lignées de LAM induit une modification de la prolifération par induction de l'apoptose. Des données de RNAseq établies dans une lignée d'AML dont l'expression de RIP140 a été inhibée par rapport au contrôle ont montrées que RIP140 est impliqué dans la régulation de l'apoptose, du cycle cellulaire, de la phosphorylation oxydative et du métabolisme de l'acide rétinolique. Nous nous sommes donc intéressés à la sensibilité des cellules de LAM à l'*all trans retinoic acid* (ATRA), une molécule induisant la différenciation, en fonction de l'expression de RIP140. Nous avons démontré que l'inhibition de l'expression de RIP140 potentialise les effets de l'ATRA tant au niveau prolifératif qu'au niveau des marqueurs de différenciation. A terme, ce facteur pourrait être proposé comme marqueur prédictif de la réponse aux agents différenciant pour cette pathologie.

Deciphering a new role for the transcriptional coregulator RIP140 in the regulation of glucose metabolism and differentiation of cancer cells.

Metabolic reprogramming is a hallmark of cancer cells that are capable, among other things, of going from an aerobic metabolism (oxidative phosphorylation) to an anaerobic metabolism (glycolysis) according to their needs. This allows them to survive in nutrient-poor environments and to resist to certain anti-cancer treatments. Explaining the mechanisms responsible for the metabolic reprogramming of cancer cells could lead to the development of new cancer therapies. My thesis project aims to decipher the role of the transcriptional coregulator RIP140 in cancer cell metabolic flexibility and chemoresistance. RIP140 (Receptor Interacting Protein of 140 Kda) is a transcriptional coregulator that interact with various transcription factors (nuclear receptor, factors such as AP-1, SP1, NF-KB et E2F1, etc.) in order to regulate gene expression. Thanks to its large interactome, it is implicated in the regulation of various physiological and pathophysiological processes such as metabolism or cancer, respectively. In this context we were interested in the potential role of RIP140 control in cancer metabolism. We demonstrate that the loss of RIP140 expression in transformed mouse embryonic fibroblasts (MEF RIPKO) increase cell proliferation, tumor growth and glycolysis. Moreover, this proliferative advantage is abrogated by glucose deprivation or glycolysis inhibition with pharmacological agent *in vitro* and *in vivo* in xenografted mice. We also show that glycolysis gene such as *GLUT3* or *G6PD* are upregulated in RIPKO MEF and that cell proliferation is dependent of their expression. We confirmed those results in cancer cell lines showing a general effect of RIP140 on cancer cells metabolism. Chromatin immunoprecipitation experiment show that RIP140 is present at *GLUT3* gene promotor. Our data establish for the first time RIP140 as a critical modulator of the transcriptional interplay between HIF2 α (Hypoxia Inducible Factor 2 α) and p53 in the control of glucose metabolism in cancer cells. In parallel, I was interested in the role of RIP140 in the chemoresistance of acute myeloid leukemia (AML) whose frequent relapses can be due to a metabolic reprogramming enhancing oxidative phosphorylation metabolism. We show that, in contrast to solid tumors, high expression of RIP140 is associated with a poor prognosis in AML. Modulation of RIP140 expression in AML cell lines using shRNA induces a decrease of proliferation *via* apoptosis control. RNAseq data established on OCI-AML2 where RIP140 expression was reduced show that RIP140 is implicated in the regulation of apoptosis, cell cycle, oxidative phosphorylation and retinoic acid metabolism. The next step was to test AML cells sensitivity to all trans retinoic acid (ATRA), a differentiating agent, when RIP140 expression was depressed. We show that RIP140 inhibition potentiates ATRA effects on AML cells. The overall results will determine the involvement of RIP140 in AML chemoresistance. At the end, this factor could be proposed as a predictive marker of response to treatments for this pathology.