



HAL
open science

L'impact des voies de mécanotransduction (BMP, YAP/TAZ) dans la chimiorésistance de la Leucémie Myéloïde Aiguë

Léa Barral

► **To cite this version:**

Léa Barral. L'impact des voies de mécanotransduction (BMP, YAP/TAZ) dans la chimiorésistance de la Leucémie Myéloïde Aiguë. Cancer. Université Claude Bernard - Lyon I, 2023. Français. NNT : 2023LYO10066 . tel-04740056

HAL Id: tel-04740056

<https://theses.hal.science/tel-04740056v1>

Submitted on 16 Oct 2024

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.



THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

Ecole Doctorale N° 340
Biologie Moléculaire Intégrative et Cellulaire (ED BMIC)

Discipline : Biologie moléculaire et cellulaire

Soutenue publiquement le 03/05/2023, par :
Léa BARRAL

L'impact des voies de mécanotransduction (BMP, YAP/TAZ) dans la chimiorésistance de la Leucémie Myéloïde Aiguë

Devant le jury composé de :

Pr RIEU Jean Paul, Professeur des Universités, UCBL, Lyon - *Président*

Dr PICART Catherine, Professeure des Universités, CEA, Grenoble - *Rapporteuse*

Dr TARTARE-DECKERT Sophie, Directrice de recherche INSERM, C3M, Nice - *Rapporteuse*

Dr CHEOK Meyling, Chargée de recherche INSERM, Université de Lille, IRCL, Lille -
Examinatrice

Dr PASSARO Diana, Chargée de recherche INSERM, Institut Cochin, Paris - *Examinatrice*

Dr LEFORT Sylvain, Chargé de recherche INSERM, CRCL, Lyon - *Directeur de thèse*

Remerciements :

Les remerciements seront rajoutés sur la version finale de ce manuscrit.

Résumé et mots-clé :

L'impact des voies de mécanotransduction (BMP, YAP/TAZ) dans la chimiorésistance de la Leucémie Aiguë Myéloïde (LAM).

La persistance de cellules leucémiques chimiorésistantes dans la niche médullaire cause un taux de rechute élevé dans la LAM. Modifiée durant la LAM (remodelage de la matrice extracellulaire, hausse de la pression), cette niche protège du traitement les cellules leucémiques adhérentes. La voie BMP (Bone Morphogenetic Proteins), régulatrice de l'hématopoïèse, est dérégulée dans la LAM (excès de BMP4). Elle interagit avec d'autres facteurs de mécanotransduction dont YAP/TAZ, oncogènes, et les intégrines, impliquées dans la résistance. Etudiant leur impact dans la chimiorésistance de la LAM, nous avons caractérisé et modulé les voies BMP et YAP/TAZ dans des lignées cellulaires sensibles ou résistantes au traitement. Pour comprendre l'impact de l'environnement physique sur la résistance, nous en avons reproduit certaines propriétés mécaniques (rigidité, confinement, système 3D de moelle osseuse), utilisant aussi des cellules primaires résistantes.

L'analyse de jeux de données montre la surexpression de BMPR1B et d'éléments de la voie YAP/TAZ chez des patients après rechute. Présentant ces mêmes caractéristiques, nos lignées résistantes sont aussi plus adhérentes et leurs marqueurs d'adhésion sont augmentés comparées aux cellules sensibles. Leur BMPR1B répond aux stimuli physiques, et à BMP4 par l'augmentation d'*id1*, connu dans la chimiorésistance. Cibler la voie YAP/TAZ réduit le nombre de cellules primaires résistantes dans le système 3D, et module la voie BMP, suggérant un dialogue moléculaire.

Ainsi, BMP et YAP/TAZ sont impliqués dans la chimiorésistance et modulés par l'environnement physique, suggérant de nouvelles cibles pour améliorer la survie des patients LAM.

#Leucémie Myéloïde Aiguë #Chimiorésistance #Mécanotransduction #BMP #TAZ/TEAD

Abstract and keywords :

Impact of mechanotransduction pathways (BMP, YAP/TAZ) in Acute Myeloid Leukemia (AML) chemoresistance.

Persistence of leukemic resistant cells in the bone marrow niche is responsible of high mortality rate in AML. The niche is modulated throughout AML (extracellular matrix remodelling, increased pressure), and protects adherent cells from chemotherapy. The BMP (Bone Morphogenetic Proteins) pathway regulates hematopoiesis and is dysregulated in AML with an excess of BMP4. It also interacts with other mechanotransduction pathways like YAP/TAZ, known oncogenes, or the integrins, implicated with AML chemoresistance. To study their impact in AML chemoresistance, we characterized and modulated BMP and YAP/TAZ in AML sensitive or resistant cell lines to treatment. To understand the impact of the physical environment, we reproduced some of its mechanical properties (stiffness, confinement, medullar 3D system), also using primary resistant cells.

Analysis of publicly available datasets showed the overexpression of BMPR1B and some of YAP/TAZ elements in patients at relapse. Our resistant cell lines showed the same characteristics and adhered better while expressing more adhesion markers than the sensitive cells. Their BMPR1B respond to mechanical stimuli and to BMP4, increasing *id1* expression, also linked with resistance. Moreover, targeting YAP/TAZ reduced number of primary resistant cells in the 3D system, and modulated BMP pathway, which suggests a molecular crosstalk.

Leukemias have been described as YAP/TAZ^{off} cancers, but we now show that BMP and TAZ/TEADs pathways are overexpressed after chemoresistance and that they are modulated by their environmental context. Future therapeutic avenues could thus involve targeting TAZ/TEAD in the context of AML refractory or relapse patients.

#Acute Myeloid Leukemia #Chemoresistance #Mechanotransduction #BMP #TAZ/TEAD

Laboratoire :

Département Initiation du cancer et identité de la cellule tumorale

BMP, Ecosystème, Cellules Souches & Dynamique du Cancer

Equipe Véronique Maguer-Satta, Cheney D, 4ème étage

Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon

CNRS/UMR 5286- INSERM U1052

28 Rue Laennec, 69008 Lyon

France

Participation scientifique :

Lors de ma thèse, j'ai pu présenter mes travaux lors de différents congrès.

Sous forme de Poster scientifique :

- Au Cancéropôle Lyon Auvergne Rhône Alpes (CLARA) (online) du 29/03 au 02/04/2021,
- Au Club Hématopoïèse et Oncogenèse (CHO) à Giens du 29/09 au 02/10/2021,
- Au Stem Cells, Development and Cancer sur Lyon les 17 et 18/05/2022,
- A l'European School of Haematology (ESH) à Londres du 3 au 5/02/2023.

Sous forme de présentation orale :

- Lors du Groupe de Recherche Micronit (online) du 15/12 au 17/12/2021.
- Lors du Workshop Mechanobiology and Physics of life à Lyon le 27/06/2022.

J'ai aussi pu présenter mes résultats au grand public lors d'une rencontre entre bénévoles et chercheurs organisée par la Ligue contre le Cancer qui me finance.

Table des matières :

Remerciements :	3
Résumé et mots-clé :	4
Abstract and keywords :	5
Laboratoire :	6
Participation scientifique :	6
Table des matières :	7
Liste des abréviations :	11
Table des figures :	14
INTRODUCTION	15
Chapitre 1 -Forces biomécaniques :	16
La cellule, entité mécanique à part entière :	16
Actine :	17
Microtubule (MT) :	19
Filament intermédiaire (FI) :	21
Tension sur le noyau :	22
Membrane plasmique (MP) :	22
Mécano-réciprocité entre la cellule et son environnement :	22
Accessibilité aux ligands :	24
Les différentes forces mécaniques :	24
Forces de cisaillement :	25
Tensions cellulaires :	25
Forces de compression :	25
Mécano-senseurs :	26
Canaux ioniques :	26
Piezo :	26
Transient Receptor Potential (TRP) :	27
Intégrines et effecteurs :	27
Signalisation après une adhésion focale :	30
Chapitre 2 - YAP/TAZ, une voie de mécanotransduction :	30
Signalisation et régulation de la voie :	30
Voie canonique :	30
Effecteurs YAP/TAZ :	33

TEADs :.....	35
Interaction de YAP/TAZ avec d'autres voies :	35
Rôle de la voie YAP/TAZ :	37
Rôle dans le cancer :.....	38
Chapitre 3 - Système hématopoïétique	40
Hématopoïèse et éléments dérivés du sang.....	40
Moelle osseuse, niche médullaire et régulation des CSH :.....	43
Régulation cellulaire :.....	44
Ostéoblastes :.....	44
CSM Nestin+ :	45
Cellules réticulées associées au CXCL12/CAR cells:	45
Adipocytes :.....	46
Cellules endothéliales (CE) :	46
Régulation nerveuse :.....	47
Régulation par l'environnement physique :.....	48
Hypoxie :.....	48
Molécules d'adhésion	48
Rigidité :.....	48
MEC :	49
Dérégulation de la moelle :.....	50
Vieillessement :	50
Hématopoïèse clonale (HC) :.....	51
Chapitre 4 - Les Leucémies Aigües Myéloïdes :	52
Définition :.....	52
Classifications :	53
Etiologie :.....	55
Profils mutationnels :	55
Mutations de classe I :.....	56
Mutations de type II :	56
Mutations de classes III :.....	57
Autres mutations importantes :.....	57
Cellules-Souches Leucémiques :.....	58
Thérapies :.....	59

Traitement par chimiothérapies :	59
Phase d'induction :	59
Phase de consolidation :	60
Thérapies ciblées :	60
Chimiorésistance à l'Ara-C :	61
Micro-environnement dans la LAM :	62
Changements mécaniques :	62
Régulation cellulaire :	63
Bone Morphogenetic Proteins (BMP) :	65
Généralités de fonctionnement de la voie :	65
Mécanobiologie :	67
BMP et système hématopoïétique :	68
Conditions physiologiques :	68
Exemple de dérégulation avec les leucémies :	69
OBJECTIFS DES TRAVAUX DE RECHERCHE.....	71
Contexte de la recherche :	72
Objectifs de la recherche :	72
La caractérisation des cellules résistantes :	72
Les dialogues entre les voies et leurs conséquences fonctionnelles :	73
RESULTATS.....	75
Introduction:.....	76
Materiel & Methods:.....	77
Cell lines:	77
Treatments:	78
RT-qPCR:	78
Western-Blot:	78
FACS:.....	78
Apoptosis assay:	78
Immuno-fluorescence staining:	78
Adhesion assay:.....	79
Confinement assay:.....	79
Statistical methods:.....	79
Primers table:	79

Results:	81
Optimisation – extra results:.....	92
Supplementary figures:	93
DISCUSSION	97
POINTS CLE :	98
CONCLUSIONS & DISCUSSIONS :.....	99
L'impact des rigidités intrinsèques et extrinsèques :.....	99
Le rôle de la rigidité intrinsèque et des intégrines dans l'adhésion :	99
Rôle de la rigidité extrinsèque :.....	101
BMPR1B, senseur de la cellule :	102
BMP et leur régulation par la mécanique :	102
L'importance du BMP4 :.....	105
TAZ/TEAD, acteur du remodelage du cytosquelette et mort cellulaire :.....	107
Rôle de TAZ/TEAD dans la survie :	107
Régulation entre TAZ/TEAD et le cytosquelette :	108
TAZ/TEAD et BMP4 :.....	109
Deux voies en parallèle ? :.....	110
Conclusions :.....	111
Références :.....	112

Liste des abréviations :

AFM : Atomic Force Microscopy

AML : Acute Myeloid Leukemia

Ara-C : Aracytidine/Cytarabine

ASXL1 : Additional Sex Combs Like 1

AMOT : Angiomotine

BM : Bone Marrow

BMP : Bone Mophogenetic Proteins

BMPR : Bone Mophogenetic Proteins Receptor

CAR-cell : CXC-chemokine ligand 12 (CXCL12)-abundant reticular cells

CBF : Core Binding Factor

CE : Cellules Endothéliales

CEBP α : CCAAT/enhancer-binding protein alpha

CSC : Cellules Souches Cancéreuses

CSH : Cellules Souches Hématopoïétiques

CSL : Cellules Souches Leucémiques

CSM : Cellule Stromale Mésoenchymateuse

CXCL12 : CXC-chemokine ligand 12/Stromal Derived Factor

DNMT3A : DNA methyl-transferase3A

ECM : ExtraCellular Matrix

EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor

EPO : Erythropoietin

FAK : Focal Adhesion Kinase

FI : Filament Intermédiaire

Fn : Fibronectine

FLT3 : Fms-like tyrosine kinase 3

GAG : glycosaminoglycane

GM-CSF : Granulocyte Macrophage Cell Stimulating Factor

G-CSF : Granulocyte Cell Stimulating Factor

HC : Hématopoïèse Clonale
HIF-1 : Hypoxia Inductible Factor-1
HS : Héparane Sulfate
ID : Inhibitor of Differentiation
IDH 1/2 : Isocitrate DeHydrogenase1/2
IL : Interleukin
ILK : Integrin Linked Kinase
ITK : Inhibiteur de Tyrosine Kinase
LATS1/2 : Large Tumor Suppressor Kinase 1/2
LAM : Leucémie Aiguë Myéloïde
LINC : Linker of Nucleoskeleton and Cytoskeleton
LOX : Lysis Oxydase
LM : Lamine
LMC : Leucémie Myéloïde Chronique
M-CSF : Macrophage Cell Stimulating Factor
MEC : Matrice ExtraCellulaire
MLL : Mixed Lineage Leukemia
MP : Membrane Plasmique
MM : Myélome Multiple
MMP : Matrix MetalloProtease
MRP : Multidrug Resistant Protein
MST1/2 : Macrophage Stimulated Protein 1/2
MT : MicroTubule
NF2 : Neurofibromin 2/Merlin
NK cell : Natural Killer
NBM : Normal Bone Marrow
NPM1 : Nucleophosmin
OB : Ostéoblastes
ORAI1 : Calcium release-activated calcium channel protein 1

RUNX : Runt Related Transcription Factor

SBE : Smad Binding Element

SCF : Stem-Cell Factor/c-kit

SCFR : Stem-Cell Factor Receptor

SF3B1 : Splicing factor 3B subunit 1

Smad : Small Mothers Against Decapentaplegic

SMD: Syndrome MyéloDysplasique

SMP : Syndrome MyéloProlifératif

SRFS2 : Splicing factor, arginine/serine-rich 2

TAZ : Taffazin

TEAD : TEA domain transcription factors

TET2 : Tet methylcytosine dioxygenase 2

TGF β : Transforming Growth Factor- β

TP53 : Tumor protein P53

TPO : Thrompoeitin

Transporteur ABC :

TRP : Transient Receptor Potential

U2AF1 : U2 small nuclear RNA auxiliary factor 1

VCAM1 : Vascular Cell Adhesion Molecule 1

VEGFA : Vascular Endothelial Growth Factor 1

VGGL : Vestigial Like Family Member

VLA-4 : Very Late Antigen-4/ intégrine α 4 β 1

VP : Verteprofin

YAP : Yes Associated Protein

ZRSR2 : Zinc Finger CCCH-Type

Table des figures :

Figure 1 : Composition du cytosquelette.

Figure 2 : Assemblage de l'actine.

Figure 3 : Assemblage des microtubules.

Figure 4 : Assemblage des filaments intermédiaires.

Figure 5 : Modification de la MEC lors de la progression tumorale.

Figure 6 : Les différentes forces mécaniques biologiques.

Figure 7 : Ouverture de Piezo1 par la tension cellulaire.

Figure 8 : Activation des intégrines par signaux outside-in et inside-out.

Figure 9 : Composition d'une adhésion focale.

Figure 10 : La voie YAP/TAZ.

Figure 11 : Stimuli mécaniques activant YAP/TAZ.

Figure 12 : Structure des protéines YAP/TAZ et leurs domaines.

Figure 13 : Voies interagissant avec YAP/TAZ.

Figure 14 : Hématopoïèse pyramidale.

Figure 15 : Modèle revisité de l'hématopoïèse.

Figure 16 : Composition cellulaire des niches médullaires.

Figure 17 : Leucémie Aiguë Myéloïde.

Figure 18 : Classification ELN 2022.

Figure 19 : Etiologie des LAM.

Figure 20 : Modèles des Cellules Souches Cancéreuses

Figure 21 : Exemples de changements du micro-environnement médullaire dans la LAM.

Figure 22 : Fonctionnement et régulation de la voie des BMP.

Figure 23 : Structure des Smads 1/5/8.

Figure 24 : : Modèle proposé pour la régulation de la survie des cellules résistantes dans la LAM.

INTRODUCTION

Chapitre 1 -Forces biomécaniques :

Les cellules sont des constituants primordiaux d'un tissu et d'un organisme. Elles sont donc en étroite relation avec d'autres cellules, ou bien des protéines de la Matrice Extracellulaire (MEC), substrat maintenant les cellules entre-elles. Que ce soit par la sécrétion de facteurs solubles, par des contacts directs de cellule à cellule, ou par contacts avec cette MEC, les comportements cellulaires varient et s'équilibrent, entretenant l'homéostasie tissulaire. Sensibles à différents stimuli mécaniques (tension, compression, cisaillement...), les cellules sont capables de faire preuve de mécanotransduction, c'est-à-dire qu'elles ont la capacité de sentir un message mécanique extérieur, le transformer en signal biologique pour le transduire et entraîner une réponse cellulaire. Pour ce faire, soulignons que la cellule par elle-même est mécanique, qu'elle voit sa rigidité intrinsèque changer afin de réagir à différents stimuli, ce qui entraînera par la suite une cascade de signalisation.

La cellule, entité mécanique à part entière :

La cellule humaine est par elle-même mécanique. Composée d'une membrane plasmique et d'un cytosquelette composé d'actine, de microtubules et de filaments intermédiaires, elle sera plus ou moins rigide, malléable ou déformable dépendamment de ces propriétés (**Figure 1**). Cette rigidité intrinsèque régulera ensuite d'autres comportements cellulaires, telles que l'adhésion, la migration ou la division cellulaire, et donc son interaction globale avec l'environnement. De manière intéressante, lors de cancers, l'environnement est connu pour se rigidifier par des dépôts de collagène, ce qui participe à la cancérogenèse, comme dans le sein (Stowers et al. 2016; Provenzano et al. 2008) ou la leucémie aiguë myéloïde (LAM) (Kuter et al. 2007). Les cellules réagiront différemment en fonction de cette rigidité, avec une propension pour migrer sur substrat rigide plus que sur substrat mou (C. Liu et al. 2021). Néanmoins, les cellules tumorales par elles-mêmes sont, contre-intuitivement, plus souples, moins rigides, comparées à des cellules saines (Q. S. Li et al. 2008; Hou et al. 2009). Un substrat plus rigide pour des cellules plus déformables, cela leur permettrait d'importantes capacités de migration et de tumorigenèse (Lv et al. 2021). Ainsi, l'étude de cette rigidité intrinsèque est importante, permettant de nous renseigner sur les propriétés cellulaires de la cellule d'intérêt, qu'elle soit saine ou cancéreuse.

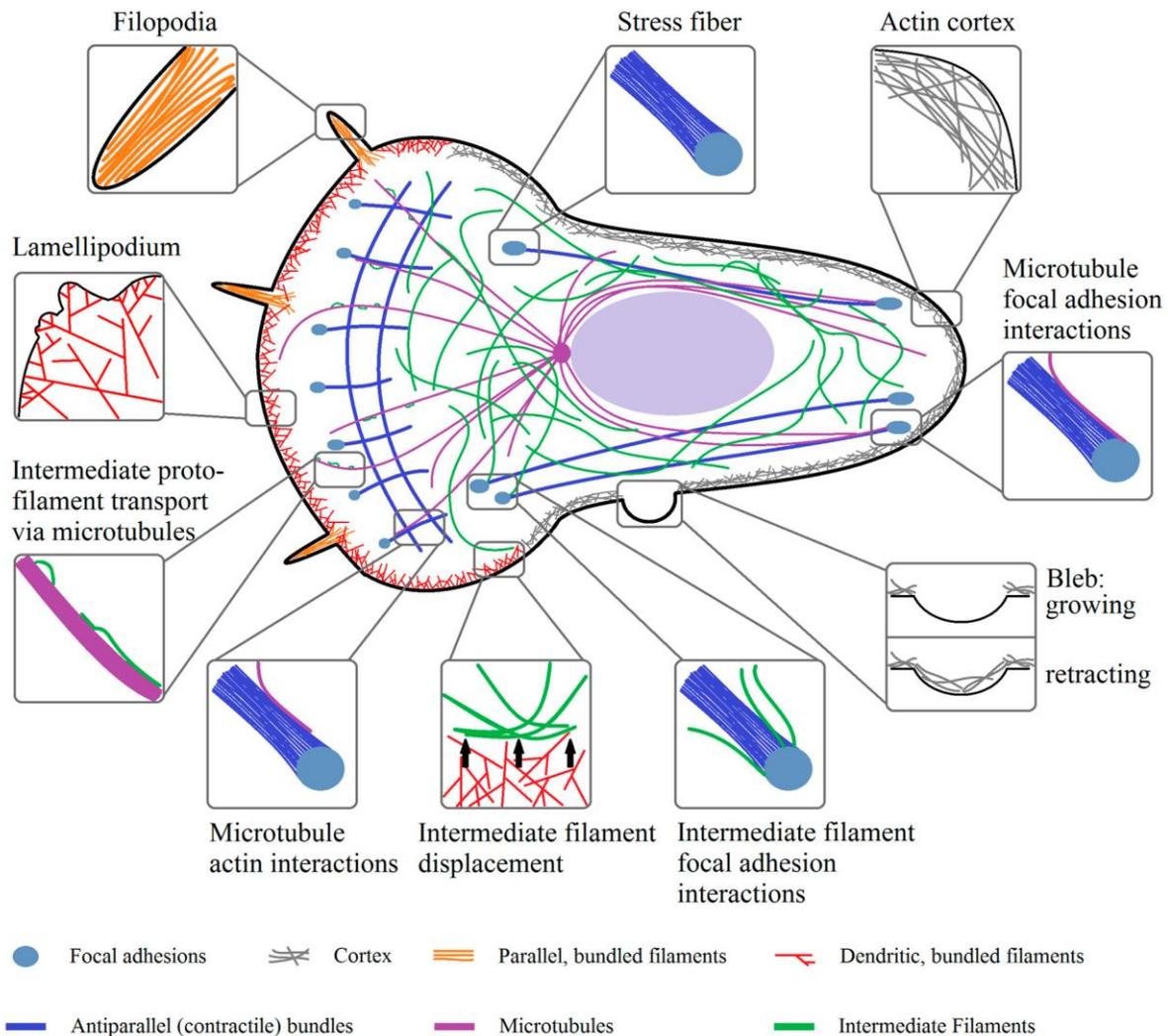


Figure 1 : Composition du cytosquelette par Hohmann et Dehghani (2019). Le cytosquelette est composé d'un réseau d'actine, de microtubules et de filaments intermédiaires. Il permet la structure cellulaire, sa migration et son adhésion.

Actine :

L'actine est un monomère de quatre sous-unités, qui sous cette forme est appelée actine globulaire ou *G-Actin*. Elle est composée de deux crevasses sur lesquelles se fixe la majorité des protéines interagissant avec l'actine. Plus important, c'est dans l'une de ces cavités que vient se loger l'ATP. Primordial pour la nucléation des filaments d'actine, cet ATP est hydrolysé pour permettre l'incorporation de l'actine globulaire au sein du filament d'actine (ou *F-Actin*). Ce filament est polarisé, avec un pôle positif et négatif, et la formation de celui-ci est très dynamique. Les monomères d'actine se rejoignent au pôle positif où a lieu l'hydrolyse de l'ATP tandis que les monomères reliés à l'ADP finissent par se dissocier du filament au pôle négatif. C'est par cette dynamique que s'opère le turn-over des filaments (Pollard 2016; Dominguez et Holmes 2011) (**Figure 2**).

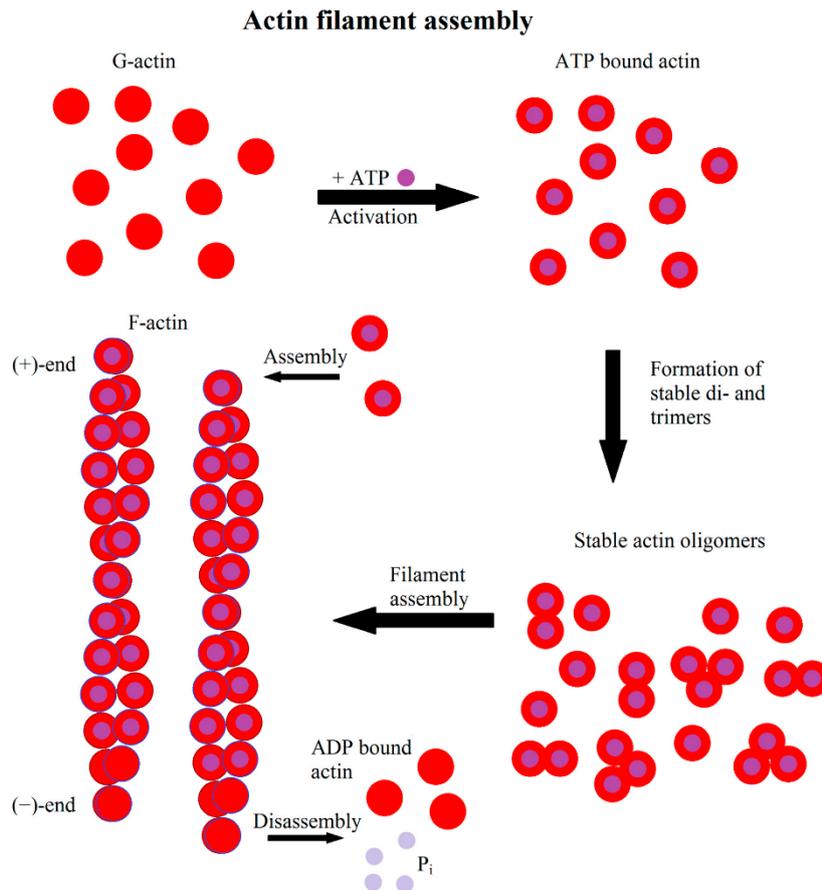


Figure 2 : Assemblage des filaments d'actine par Hohmann et Dehghani (2019).

La plus grande concentration d'actine se retrouve dans le cortex, sous la forme de fibres de stress, et près de la membrane plasmique, avec laquelle il interagit. Au travers de ce cortex, la cellule changera sa tension interne mais aussi sa forme, et grâce à la contraction des filaments d'actine, régulera la migration des cellules. En effet, la formation de protrusions permettant la migration (lamellipode, filopode) est régulée par la densité des filaments d'actine de manière locale (Bisaria et al. 2020). L'actine se lie à la membrane par l'intermédiaire de protéines de liaison à l'actine, dont les protéines ERM (ezrin, radixin, moesin) qui servent de lien entre ces deux structures, et promeuvent la création de ces protrusions.

Ces protéines (ezrin, radixine, moesin) une fois phosphorylées, permettent la liaison entre les protéines transmembranaires et le cytosquelette. Physiologiquement, elles sont impliquées dans l'organisation du cortex cellulaire, de la polarisation et la différenciation cellulaire (Fehon, McClatchey, et Bretscher 2010). L'ezrin est la protéine la plus étudiée et sa dérégulation est retrouvée dans différents cancers, dont la LAM, pour médier la survie et la prolifération (Barik et al. 2022). Les protéines ERM interagissent avec la myosine dont elles peuvent réguler l'activité (Xiaowen Liu et al. 2015; Olsson et al. 1999).

Les myosines sont importantes dans la régulation de la contractibilité des fibres d'actine avec qui elles s'associent. Grâce à cela, elles participent à la migration. Ces protéines motrices sont

composées de deux chaînes enroulées l'une sur l'autre (Spudich et al. 1995). A une extrémité, se retrouvent deux têtes, se liant avec l'actine et permettant leur déplacement (Spudich et al. 1995). A l'autre extrémité, la myosine possède une queue permettant le transport de cargo cellulaire ou bien l'interaction avec d'autres sous-unités de myosines (Spudich et al. 1995). Cette interaction actine-myosine permet la contractilité de l'actine, et ainsi la migration et la transmission de la tension cellulaire.

Les filaments d'actine, étant dynamiques, sont aussi des plateformes pour d'autres protéines, en particulier, pour l'adhésion. Dans ce cas-ci, les filaments d'actine se regroupent de façon très localisée pour former des adhésions focales. Grâce à ces adhésions focales, cytosquelette et intégrines sont reliées ensemble, par le biais de protéines de liaison à l'actine (taline, vinculine, α actinine, complexe IPP...). Les intégrines sont l'un des récepteurs majeurs pouvant se lier à la matrice extracellulaire, et permettent l'adhésion en interagissant avec l'actine et ses protéines associées (Ciobanasu, Faivre, et Le Clainche 2013). Ce complexe intégrines-adhésion focale est au cœur de la régulation cellulaire en lien avec l'environnement, que ce soit pour adhérer, proliférer ou migrer.

La structure de l'actine peut avoir différentes formes : la formine créera des faisceaux, alors que le complexe Arp2/3 et la cortactine formeront des branches. Ces dernières sont les structures centrales des protrusions cellulaires comme les lamellipodes (Molinie et Gautreau 2018), et participent à la migration. Les protéines qui permettent la formation et le maintien de cette structure (complexe Arp2/3, WAVES...) sont souvent surexprimées dans les cancers, et aident à la formation d'invadopodes, promouvant la dissémination des cellules cancéreuses (Molinie et Gautreau 2018). La formine, elle, aide à la polymérisation de l'actine en faisceaux et participe à la transmission de la tension intracellulaire (Le et al. 2020).

Finalement, l'actine régule la forme, la migration et l'adhésion des cellules, et participe activement à la rigidité intrinsèque de la cellule. Que ce soit en remodelant le cytosquelette en réponse aux différents stimuli physiques et en modifiant localement cette rigidité mais surtout par son organisation elle-même. Mesurant la rigidité de la cellule par Atomic Force Microscopy (AFM), il a été démontré que la déstabilisation de l'actine par traitement chimique à la Cytochalasine D ou Latrunculine B, entraînait une perte de rigidité cellulaire (Pogoda et al. 2012; Wakatsuki 2000), et ce aussi dans différents modèles cancéreux ou sains (Pogoda et al. 2012; Grady, Composto, et Eckmann 2016; Kihara et al. 2021).

Les dérégulations dans la réorganisation de l'actine vont donc pouvoir modifier la capacité de la cellule à se déformer, mais aussi à se mouvoir.

Microtubule (MT) :

Une autre protéine importante du cytosquelette est la tubuline. Les protofilaments de tubuline sont composés d'hétérodimères d' α et β tubuline. 13 protofilaments forment un microtubule (MT), tube de 25nm de diamètre, structure qui constitue une partie du cytosquelette cellulaire. De la même manière que les filaments d'actine, les MT s'assemblent et se désassemblent de manière dynamique, via l'hydrolyse du GTP (**Figure 3**). Ils sont à

l'origine du fuseau mitotique permettant la séparation des chromosomes lors de la mitose, mais aussi forment des protrusions comme les cils ou les flagelles utiles à la mobilité de certains types cellulaires. De plus, parcourant le cytoplasme, ils sont la plateforme d'accroche pour diverses protéines motrices comme la dynéine ou kinésine, participant au transport de cargo d'une organelle à l'autre.

Le rôle des MT dans la rigidité cellulaire intrinsèque est controversé et semble dépendre des modèles d'étude. Dans les cardiomyocytes, il a été décrit que la disruption des MT décroissait la rigidité dans les cardiomyocytes, et qu'à l'inverse, leur stabilisation l'augmentait (Swiatlowska et al. 2020), soulignant le rôle architectural des MT.

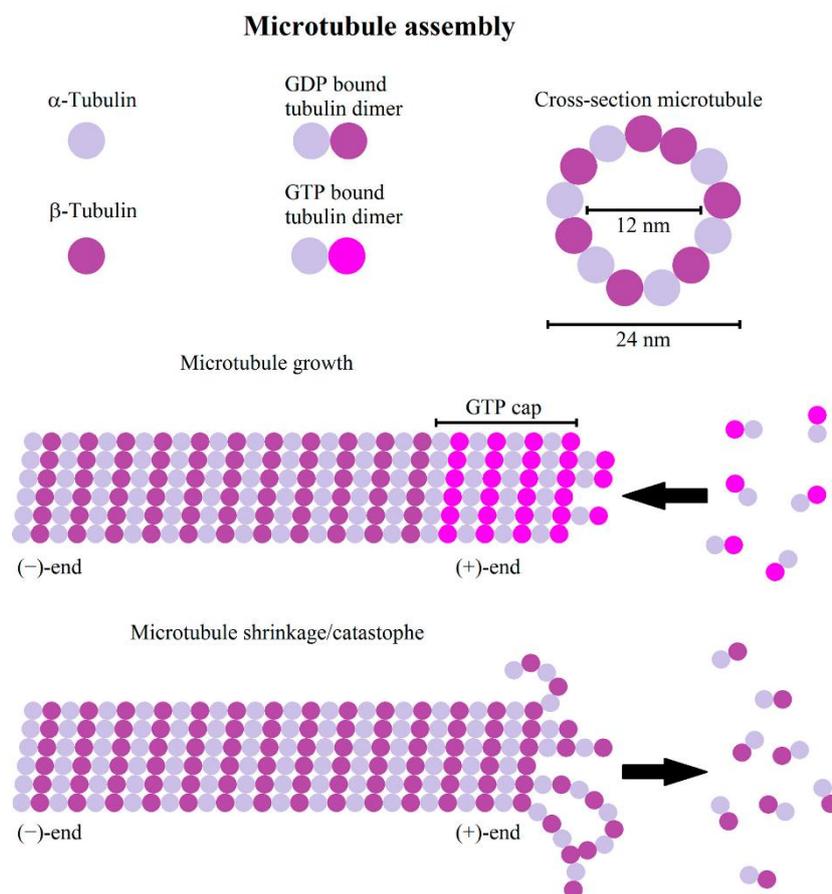


Figure 3 : Assemblage des microtubules par Hohmann et Dehghani (2019).

Filament intermédiaire (FI) :

Les filaments intermédiaires, eux, sont composés de six différentes classes. Certains sont spécifiques à un type cellulaire particulier alors que d'autres sont plus répandus dans différents tissus. Par exemple, on retrouvera la vimentine dans de nombreuses cellules (fibroblastes, leucocytes...) alors que les protéines de neurofilaments seront particulières aux neurones. Bien que la majorité tapisse le cytoplasme, certains FI sont spécifiques au noyau, comme les lamines. Proches de l'enveloppe nucléaire, les lamines sont impliquées dans de nombreuses activités de régulation de la chromatine et de l'expression génique (Dechat et al. 2010). Les FI sont tous composés d'une tige centrale composée d'hélices α et des domaines non-hélices α à leur pied et à leur tête, qui participent à leur assemblage (G. M. Cooper 2000). Plus stables que les deux autres types de filaments composant le cytosquelette, c'est par la phosphorylation qu'ils restent dynamiques et régulent leur désassemblage, notamment lors de la division cellulaire (G. M. Cooper 2000) (**Figure 4**). Les FI sont partenaires des desmosomes ou héli-desmosomes qui permettent respectivement les interactions cellules-cellules ou cellule-matrice, participant ainsi à la structuration et l'interaction de la cellule avec son environnement. Ils participent ainsi à la rigidité de la cellule : l'absence de vimentine dans un fibroblaste décroît la rigidité périnucléaire de la cellule, mais n'en change pas la contractilité (Lombardi et al. 2011; Patteson et al. 2019).

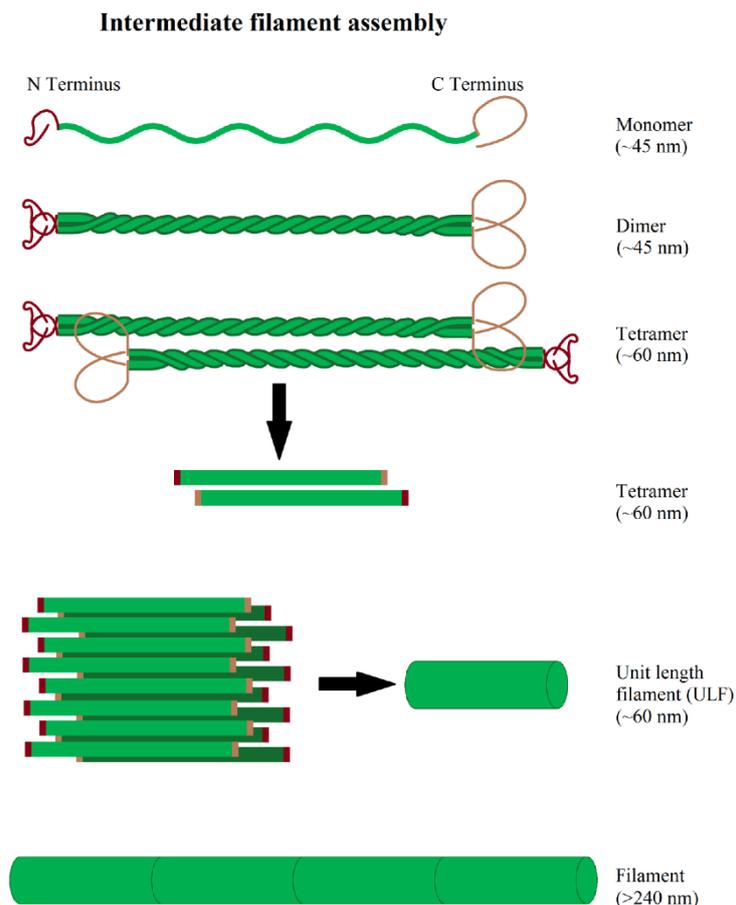


Figure 4 : Assemblage des microtubules par Hohmann et Dehghani (2019).

Tension sur le noyau :

La tension cellulaire globale peut elle-même impacter la tension nucléaire. La force d'actomyosine est transmise par les fibres de stress et par le LINC complex (Linkers of the Nucleoskeleton and Cytoskeleton) jusqu'aux lamines (Lombardi et al. 2011). Ceci régule l'ouverture des pores nucléaires, mais aussi de la chromatine elle-même. La disruption de la lamine A dans des Fibroblastes Embryonnaires Murins (MEF) entraîne une perte de contractibilité du réseau actine-myosine due à la réorganisation des fibres de stress (van Loosdregt et al. 2017), ce qui suggère une réduction de migration et de fonctionnalité de la cellule.

Membrane plasmique (MP) :

Le cytosquelette n'est pas le seul à transmettre la mécanique extérieure ou à moduler la rigidité intrinsèque. Composée d'une bicouche lipidique polarisée avec différents lipides (cholestérol et phospholipides), la membrane plasmique permet d'interagir avec son environnement, ce grâce à la présence de récepteurs ou de glycoprotéines qui y sont intégrés. Le cholestérol est en grande partie responsable de la rigidité de la membrane plasmique : il lui permet de s'assouplir. En effet, lors de lésions athérosclérotiques, les cellules endothéliales intègrent des oxLDL (oxydated Low Density Lipids) présents en nombre dans le sang. Remplaçant le cholestérol membranaire, ils provoquent la disruption des groupements lipidiques et ainsi augmente la rigidité membranaire (Shentu et al. 2010), causant par la suite un dysfonctionnement de l'endothélium. Dans ce contexte, les macrophages circulants subissent aussi l'intégration des oxLDL et le gain de rigidité de la membrane désorganise le cytosquelette d'actine, ce qui perturbe leur migration (Rezende et al. 2022).

Ainsi, les différents composants de la membrane et du cytosquelette non seulement structurent la cellule, mais aussi régulent sa rigidité intrinsèque et donc des propriétés comme la migration ou la division. Cette rigidité intrinsèque répond aussi à celle du substrat au travers de la mécano-réciprocité cellulaire.

Mécano-réciprocité entre la cellule et son environnement :

La cellule évolue dans un environnement complexe avec la capacité d'en sentir les changements : composition, rigidité ou topologie de la MEC ou des cellules de support. De ce fait, elle fera preuve de mécano-réciprocité. La cellule sera amenée à modifier le substrat ou bien à moduler sa propre tension interne par la modification de son cytosquelette. En effet, si la cellule adhère à un substrat rigide alors la tension externe sera forte. Pour contrebalancer ce phénomène, un remodelage de l'actine s'effectue en réponse, par l'augmentation de la tension intracellulaire (Gupta et al. 2015) modifiant aussi le comportement de la cellule. De plus, celle-ci peut remodeler la MEC elle-même via des enzymes telles que les MMP (Matrix MetalloProtéases) ou la LOX (Lysyl Oxydase). La LOX permet de stabiliser la MEC en maintenant collagène et élastine ensemble, pour réguler la prolifération et la réponse aux chémo-attractants (Lucero et Kagan 2006). A l'inverse, les MMP peuvent dégrader la matrice, tel que le collagène, et ainsi réguler le remodelage des tissus ou participer à la migration

cellulaire (Löffek, Schilling, et Franzke 2011). C'est principalement dans ce but-ci que les cellules cancéreuses tendent à sur-exprimer les MMP. Elles facilitent leur migration et dissémination, mais aussi libèrent des cytokines inactives encastées dans la MEC (Jabłońska-Trypuć, Matejczyk, et Rosochacki 2016). Cette dernière se modifie au cours du temps, et en particulier lors de pathologies comme le cancer, où elle se rigidifie (Q. Guo et al. 2022), et change l'orientation de ses fibres et leur topologie (Vasudevan et al. 2022). Lors de cancer, l'environnement subit d'autres modifications, comme la réticulation et la compression du milieu, l'augmentation de la rigidité et la réduction de l'élasticité, ce qui modulera la réponse cellulaire (Vasudevan et al. 2022) (**Figure 5**).

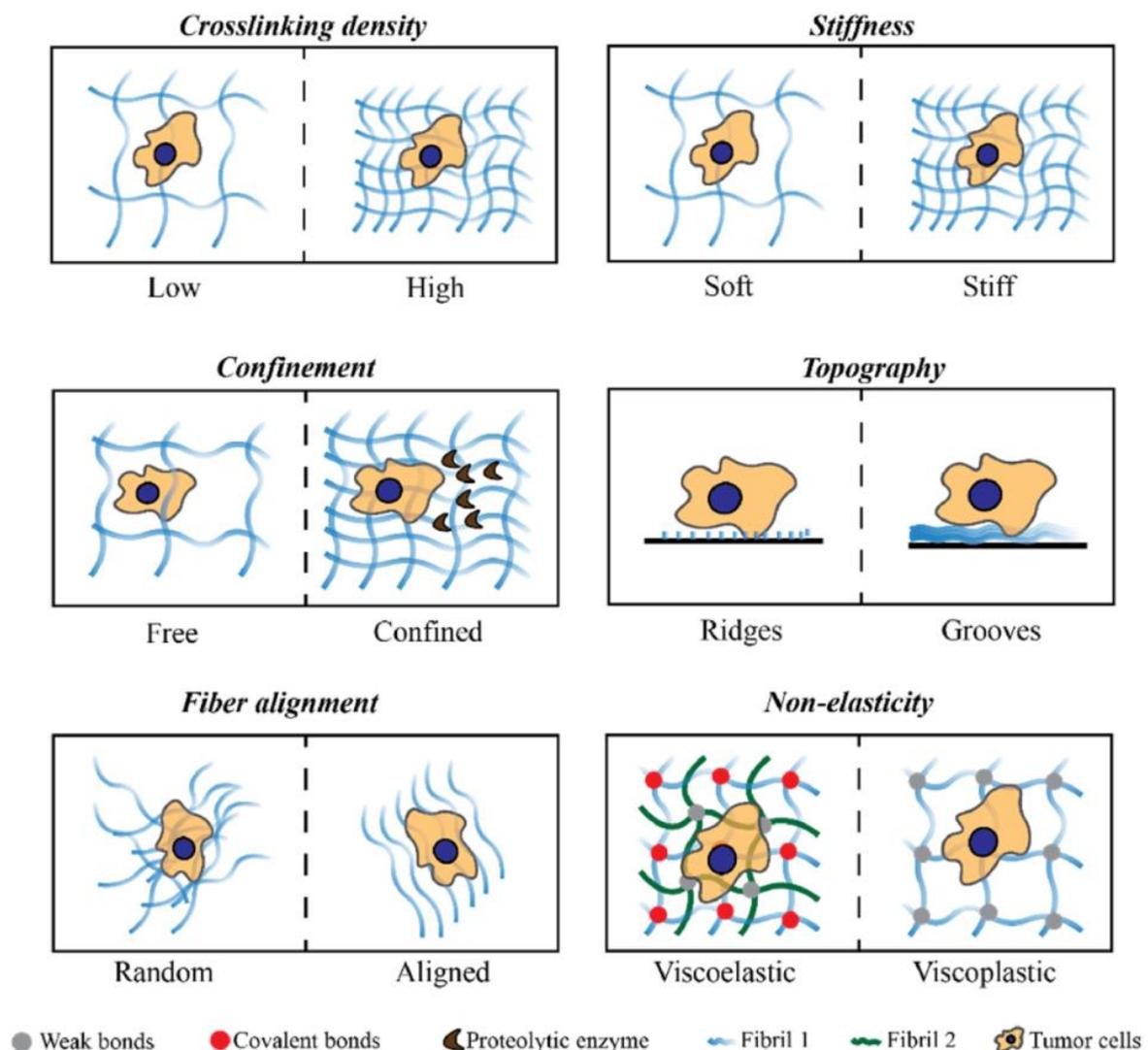


Figure 5 : Modification de la MEC lors de la progression tumorale par Vaseduvan et al. (2022).

Accessibilité aux ligands :

Certains ligands solubles peuvent se retrouver intégrés dans la matrice. Le TGF β en est un exemple, par son interaction avec la fibrilline-1 dans sa forme latente (Nistala et al. 2010; Chaudhry et al. 2007). Les BMP sont aussi connues pour interagir avec plusieurs protéines de la MEC (De Laporte et al. 2013; Ohkawara et al. 2002), et ainsi contrôler le destin cellulaire (Fisher 2006) ou l'activité de la signalisation BMP (Kanzaki et al. 2011). Les BMP et d'autres ligands comme le CXCL12 peuvent aussi se lier aux glycosaminoglycanes (GAGs), dont font partie l'Héparane Sulfate (HS), présents dans la MEC (Sefkow-Werner et al. 2020; Thakar et al. 2017). La présentation du BMP2 sur HS ou non, en combinaison ou non avec le peptide cRGD pour activer les intégrines, contrôle la différenciation ostéoblastique (Sefkow-Werner et al. 2020). Le CXCL12 régule l'étirement et la migration des myoblastes dépendamment de sa présentation, lié au HS ou non (Thakar et al. 2017). La MEC contrôle donc l'accessibilité et la présentation des ligands, modifiant aussi leur internalisation. Une présentation des ligands par la MEC sera donc dépendante de la réticulation de cette matrice et maintiendra aussi un effet plus important dans le temps (Gilde et al. 2016, Sefkow-Werner et al. 2020).

Modifiant sa propre tension interne ou induisant son propre remodelage de la MEC, la mécanique intrinsèque de la cellule réagira aux forces mécaniques extrinsèques.

Les différentes forces mécaniques :

Les plus fréquentes sont la tension, la force de cisaillement ou le confinement/compression (Figure 6).

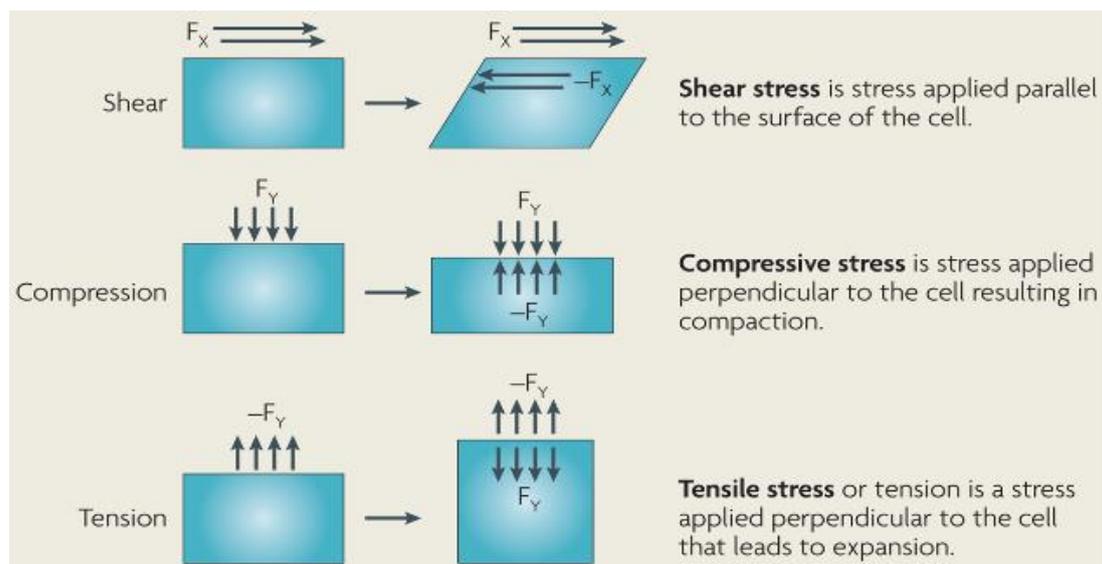


Figure 6 : Les différentes forces mécaniques biologiques par Butcher, Alliston, et Weaver (2009). Forces de cisaillement, forces de compression ou tensions

Forces de cisaillement :

Les forces de cisaillement induisent une force parallèle à la membrane plasmique, et sont souvent dues à un flot de liquide. C'est pourquoi, les cellules endothéliales au sein des vaisseaux sanguins sont les premières à subir ces forces, ce qui régule leur développement et leurs fonctions (Ballermann et al. 1998). Ces forces se retrouvent aussi dans la moelle osseuse, compartiment semi-solide, où elles impactent les cellules hématologiques et stromales qui la compose (Gurkan et Akkus 2008). Dans la moelle osseuse, on retrouve des cellules souches mésenchymateuses (CSM), naturellement capables de se différencier dans plusieurs types cellulaires (chondrocytes, ostéoblastes, adipocytes), et aussi en cellules endothéliales (Oswald et al. 2004), notamment via des forces de cisaillement (H. Wang et al. 2005).

Tensions cellulaires :

Les tensions cellulaires sont désignées comme des tensions perpendiculaires à la membrane, provoquant son allongement. Elles sont provoquées par l'adhésion cellulaire sur leur MEC, et peuvent être impactées par la rigidité du substrat, qui accentuera ou non ces tensions cellulaires (Gupta et al. 2015). Ceci provoque des changements fonctionnels chez la cellule, notamment lors de la différenciation. Dans le cas des cellules souches mésenchymateuses, leur culture sur différentes rigidités entraîne leur différenciation dans différents types cellulaires, du neurone à l'ostéoblaste en passant par le myocyte (Engler et al. 2006). C'est aussi le cas pour les cellules hématopoïétiques, la rigidité et la composition de la matrice altèrent la prolifération et la différenciation des cellules souches hématopoïétiques (CSH) (Choi et Harley 2017). Ces capacités sont dérégulées lorsque l'on inhibe le réseau d'actomyosine ou les intégrines (Choi et Harley 2017), confirmant que la tension intracellulaire en est l'origine. De manière intéressante, les cellules-souches ne sont pas les seules concernées, la différenciation des mégacaryocytes en plaquettes dépend aussi de la rigidité de l'environnement (Aguilar et al. 2016).

Forces de compression :

Les forces de compression sont exercées perpendiculairement à la membrane et viennent compacter les cellules, lors d'une hypertrophie, ou de la prolifération cellulaire ou de la migration au travers d'un pore. Toujours dans la moelle osseuse, il existe un équilibre entre la dégradation de l'os par les ostéoclastes et le renouvellement de celui-ci par les ostéoblastes. Pour répondre aux contraintes mécaniques que subit l'os, les ostéoblastes sont au centre de l'équation. Shen et al. (2017) démontrent que la force de compression sur des ostéoblastes murins impacte leur différenciation. Ils mettent en évidence que ce n'est pas tant la contrainte de compression qui importe mais la magnitude de la force qui fera varier la différenciation cellulaire (Shen et al. 2017). En amont de cela, les CSM murins sont capables de se différencier en chondrocytes grâce à un stress de compression qui entraîne la production endogène de TGF β 1 et l'activation de sa voie de signalisation (Juan Li et al. 2012), confirmant le besoin de stress mécanique pour la différenciation de certains types cellulaires.

Les propriétés de mécanotransduction de la cellule commencent donc ici, par les changements dans son propre cytosquelette où actine et filaments intermédiaires sont connectés pour contrôler la tension nucléaire et par la suite la transcription génique et les différentes réponses cellulaires.

En amont de ces changements se trouvent les mécanorécepteurs, à la surface de la cellule, qui vont percevoir ces contraintes physiques.

Mécano-senseurs :

Afin de sentir son environnement mécanique, la cellule est dotée de différents récepteurs à cet égard.

Canaux ioniques :

Certains canaux ioniques peuvent être activés par l'étirement de la membrane plasmique ce qui provoque leur ouverture (**Figure 7**). Ces senseurs mécaniques sont très conservés dans le domaine vivant, et ce même chez les plantes et les bactéries. Leur existence a été démontré la première fois par Corey et Hudspeth en 1983 qui trouvaient que l'activation de courants dans les cellules auditives de la grenouille taureau était trop rapide pour résulter d'une transmission par messagers secondaires. La mise en évidence de ce type de canaux, répondant à des stimuli mécaniques comme la tension membranaire, explique une variété de fonctions comme l'audition, la proprioception ou la nociception. En laissant entrer certains types d'ions, ils transduisent ce signal mécanique et induisent une réponse cellulaire.

Piezo :

Piezo1 et 2, canaux cationiques non-sélectifs, ont été décrits comme des récepteurs associés à la mécanique qu'en 2010. Répondant à la tension membranaire, ils s'activent et se désactivent en quelques microsecondes (**Figure 7**). Son activation est considérée, en majeure partie, due à la tension des lipides jouxtant le canal, ce qui provoque son ouverture (Syeda et al. 2016). Avec son rôle de mécanorécepteur, Piezo est important pour différentes fonctions cellulaires dont l'orientation des cellules endothéliales chez la souris en réponse aux forces de cisaillement du flot sanguin (Ranade et al. 2014; Jing Li et al. 2014), ou la survie des érythrocytes chez le poisson-zèbre, où son absence provoque une anémie (Faucherre et al. 2014). Par son rôle important comme mécanorécepteur, il est aussi fréquemment dérégulé lors de certains cancers (F. Zhao et al. 2022). Dans le cancer du sein, Piezo promeut la migration en dérégulant la contractibilité et l'adhésion des cellules (Y. Yu et al. 2021). De plus, il a été récemment trouvé sur la surface des cellules leucémiques (Vasileva et al. 2021).

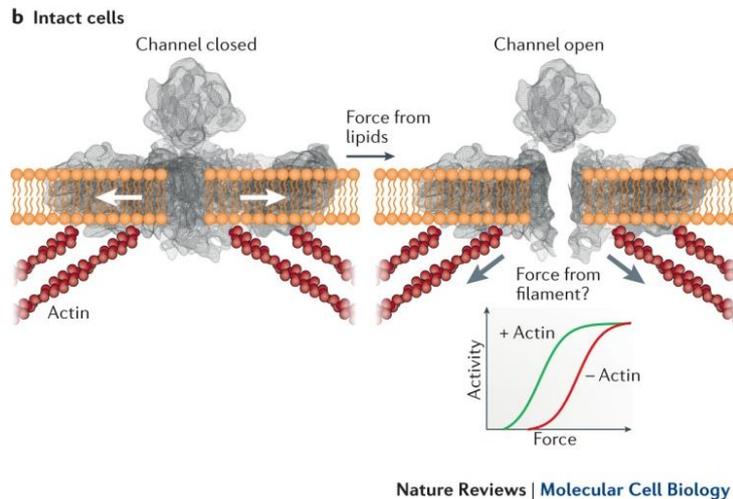


Figure 7 : Ouverture de Piezo1 par la tension cellulaire par Murthy, Dubin, et Patapoutian (2017). Le canal est fermé à l'état basal. La tension sur la membrane plasmique, jointe avec le tiraillement de l'actine permet son ouverture mécanique.

Transient Receptor Potential (TRP) :

Les récepteurs TRP sont une grande famille de récepteurs divisés en 6 sous-classes chez l'humain (TRPC, TRPV, TRPM, TRPA, TRPP, TRPML). Ils répondent à une variété de stimuli comme la température, l'inflammation ou l'exocytose, et médient l'entrée de cations (Ca^{2+} , Mg^{2+}) dans la cellule. Ils régulent quantité de fonctions sensorielles, et sont aussi activés par l'étirement de la membrane. Dans les cellules leucémiques, on retrouve surtout TRPV1, TRPV2 et TRPM2. Alors que le rôle des TRPV dans la LAM est toujours incertain (Maggi et al. 2021), l'inhibition de TRPM2 augmente l'apoptose des cellules leucémiques en réponse au traitement, promouvant une meilleure réponse (S. Chen et al. 2020).

Grâce à ces récepteurs, la cellule peut donc ressentir son environnement. De plus, ces canaux peuvent aussi interagir avec les mécanorécepteurs les plus connus que sont les intégrines (Forzisi et Sesti 2022).

Intégrines et effecteurs :

Les intégrines restent les mécanorécepteurs les plus connus. Composées de deux chaînes, α et β , elles permettent l'adhésion des cellules à différentes MEC. Chez les mammifères, il existe 18 sous-unités α et 8 sous-unités β , pouvant former jusqu'à 24 différentes paires d'intégrines (Humphries, Byron, et Humphries 2006). Elles ont toutes un domaine transmembranaire se finissant par une queue cytoplasmique qui permettra la transduction d'un signal (Campbell et Humphries 2011). Chaque paire d'intégrines possède une affinité particulière pour un type de protéines de la MEC, ou de molécules d'adhésion associées à la membrane. Par exemple, $\alpha 5 \beta 1$ sera principalement activée par la fibronectine alors que l'intégrine $\alpha 1 \beta 1$ se liera de préférence à du collagène (Humphries, Byron, et Humphries 2006).

Il existe deux conformations chez les intégrines, une dite fermée où l'intégrine est inactive et l'autre dite ouverte, lorsqu'elle s'active et se lie avec son ligand (**Figure 8**).

De manière intéressante la signalisation des intégrines est dite bidirectionnelle, avec un signal d'activation qui peut aussi bien être d'*inside-out* que d'*outside-in* (Kechagia, Ivaska, et Roca-Cusachs 2019). Dans ce dernier cas, l'intégrine se lie à la matrice et elle est ouverte par la force de traction. Cela transmet un signal sur la nature et la tension de son substrat, recrute les protéines en lien avec l'actine et les adhésions focales, et régule la migration, la survie ou la croissance de la cellule. Dans le premier cas, le recrutement des protéines de l'adhésion focale (Paxilline, Rac) par la Kindlin, co-récepteur des intégrines, modifiera la tension du cytosquelette via les fibres d'actine (Böttcher et al. 2017). Ceci mènera à l'ouverture de l'intégrine pour adhérer, comme lors de la mobilisation des cellules vers un site d'inflammation. Cette activation *inside-out* est généralement accompagnée par d'autres signaux indiquant à la cellule de changer l'affinité et la conformation de son intégrine.

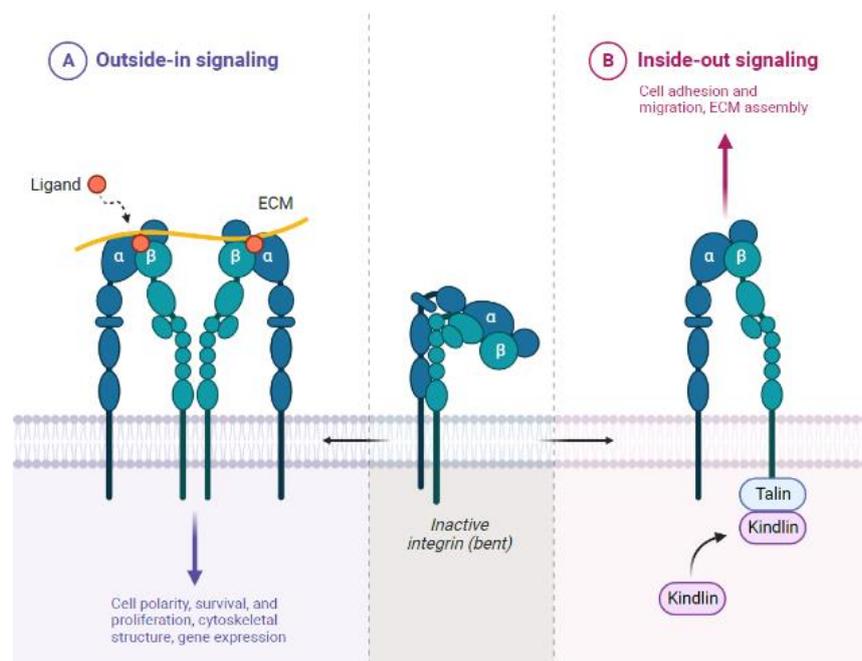


Figure 8 : Activation des intégrines par signaux outside-in et inside-out, inspirée par Kechagia et al. (2019) et créée par Biorender template. Signaux intra- ou extracellulaires provoquent le changement de conformation des intégrines et leur activation.

Les queues cytoplasmiques des intégrines ne contiennent pas de sites de phosphorylation et la signalisation en aval de ce signal d'adhésion est transmise par les protéines adaptatrices qui servent d'intermédiaires entre les intégrines, les kinases et le cytosquelette d'actine. L'interaction intégrines-matrice produit généralement ces adhésions focales (**Figure 9**), ancrant la cellule à son substrat. Cela permet l'activation et la concentration de plusieurs intégrines, de même que le recrutement de protéines adaptatrices, telles que la taline, la vinculine ou la paxilline présentes sur les fibres de stress d'actine. Ce complexe relie donc la MEC avec le cytosquelette au travers des intégrines. Par la suite, la signalisation des intégrines sera activée, notamment via les kinases dont FAK (Focal Adhesion Kinase), ILK (Integrin Linked Kinase) ou encore Src (**Figure 9**).

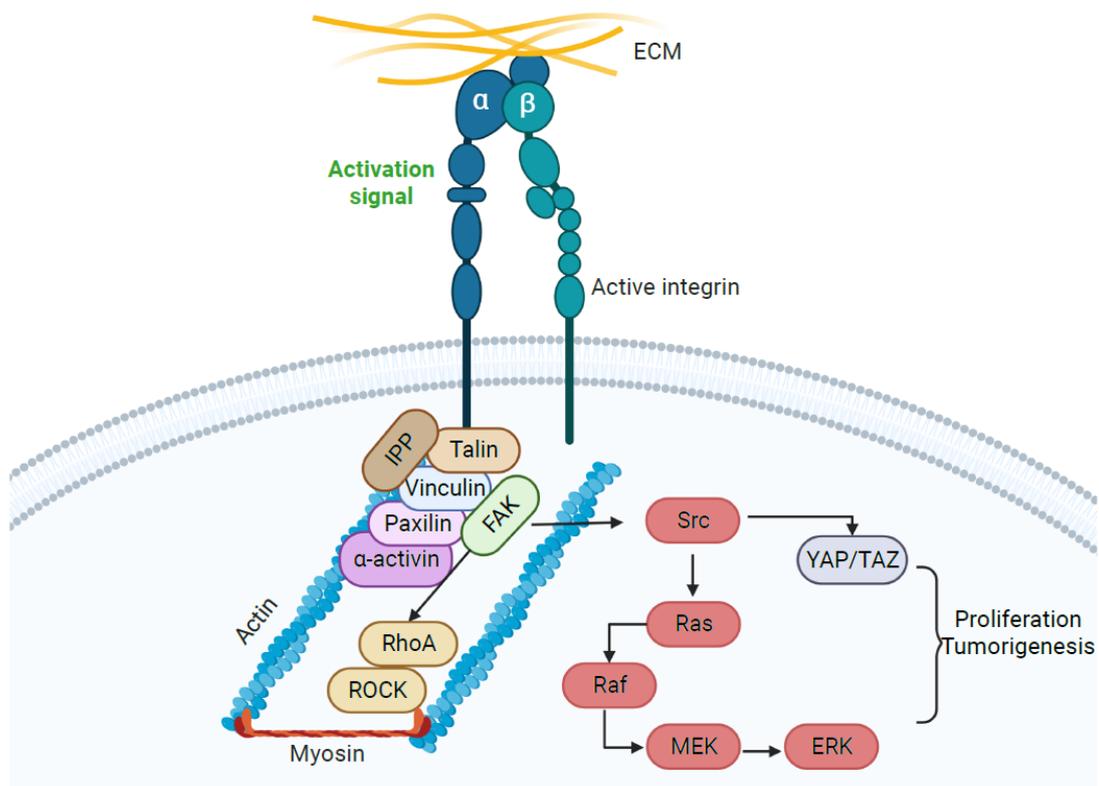


Figure 9 : La composition d'une adhésion focale. Les adhésions focales se forment par l'attachement d'une intégrine à sa matrice, recrutant des protéines d'adaptation à l'actine (Taline, Paxilline, Vinculine, ...). Elles permettent le lien entre intégrine et actomyosine, de même que l'activation de différentes voies tels que Src/Ras/MEK.

Signalisation après une adhésion focale :

Le recrutement de kinases telles que FAK et ILK permet l'activation de différentes voies de signalisation (**Figure 9**). ILK se lie directement avec les queues des intégrines et forme le complexe IPP en se liant aussi avec la Parvine et PINCH-1. Ce complexe est une plateforme pour l'activation de différentes voies de signalisations dont AKT/PKB, promouvant la prolifération et la survie cellulaire (Legate et al. 2006). FAK interagit elle aussi avec de nombreuses signalisations. Cette kinase est en amont de l'activation de RhoA, d'ERK ou de Src (Mishra et Manavathi 2021). RhoA fait partie des RhoGTPases et peut activer ROCK, et cette signalisation permet de réorganiser le cytosquelette d'actomyosine (Amano et al. 1996) et donc la migration cellulaire. Dans les cancers, les RhoGTPases peuvent être dérégulées, entraînant notamment la suractivation de la voie Rac/Ras, en amont des MAPK, régulatrices de prolifération et survie cellulaire. RhoA en particulier est impliquée dans la division cellulaire et surexprimée dans différents cancers, dont les leucémies (Crosas-Molist et al. 2022). L'interaction FAK/Src active aussi différentes voies, notamment les MAPK dont ERK et YAP/TAZ, promouvant la tumorigenèse et prolifération des cellules (Mishra et Manavathi 2021).

Chapitre 2 - YAP/TAZ, une voie de mécanotransduction :

Après avoir senti le signal physique, les cellules sont capables de le transduire par des voies de mécanotransduction. La voie Hippo-YAP/TAZ est l'une des voies de mécanotransduction la plus connue. Elle est impliquée dans nombre de régulations physiologiques (développement, homéostasie du tissu), ou pathophysiologiques (dont les cancers). Conservée chez de nombreux organismes, la voie Hippo a été décrite chez la Drosophile lors de la recherche de mutants contrôlant la taille des organes et l'homéostasie des tissus.

Signalisation et régulation de la voie :

Voie canonique :

Les paralogues et effecteurs YAP1 (Yes-associated-protein1) et TAZ (Taffazin) sont des co-régulateurs transcriptionnels. De manière canonique, ils se lient aux TEADs (TEA domain transcription factors), protéines de liaison à l'ADN, pour la transcription de gènes-cible (Vassilev et al. 2001; Stein et al. 2015) comme *ctgf* ou *cyr61*. Ils sont aussi connus pour se lier à d'autres facteurs de transcription, comme Runx2 (Zaidi et al. 2004), Smad1 (Alarcón et al. 2009; Aragón et al. 2011), Smad2/3, membres de la famille des BMP, et ainsi dialoguer avec différentes voies. De manière intéressante, les protéines YAP/TAZ ne possèdent pas de domaines NLS et leur entrée dans le noyau est donc finement régulée.

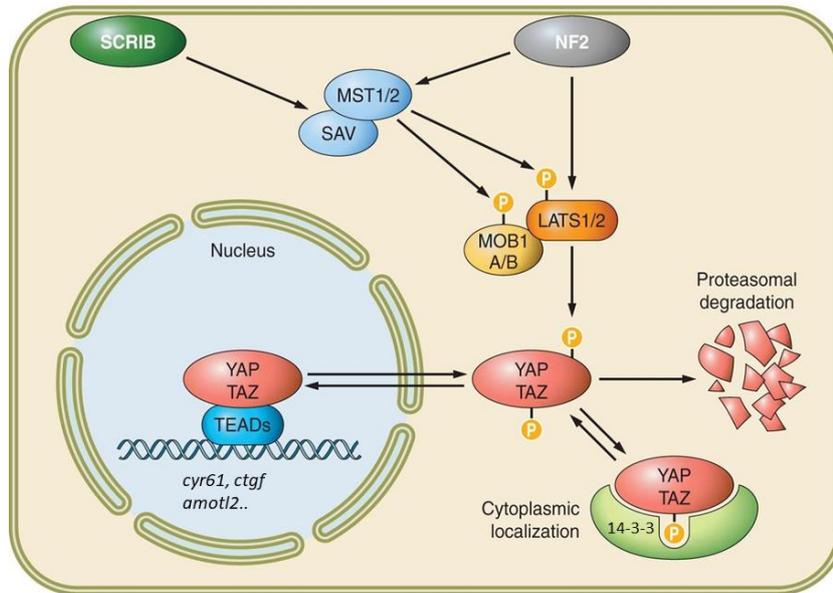


Figure 10 : La voie YAP/TAZ canonique, adaptée de Piccolo et al. (2014)

Les protéines YAP/TAZ répondent à des signaux mécaniques, et cela vaut aussi indirectement pour ses régulateurs négatifs que sont les protéines de la voie Hippo (**Figure 10**). La polarisation de la membrane cellulaire dans les cellules épithéliales régule la présence et l'activation des protéines Hippo (Nie et al. 2019; Cordenonsi et al. 2011). Constituées de plusieurs kinases, les MST1/2 ou bien NF2 en amont de la chaîne viennent phosphoryler LATS1/2. Celle-ci phosphoryle YAP/TAZ sur la Ser127 ce qui provoque soit leur rétention dans le cytoplasme par la protéine 14-3-3, soit leur exclusion du noyau et/ou leur envoi vers le protéasome pour dégradation par β -TRCP (Lei et al. 2008; Bin Zhao et al. 2007; Kanai et al. 2000; C.-Y. Liu et al. 2010).

La voie Hippo-YAP/TAZ est donc finement régulée par la structure et l'environnement de la cellule. YAP/TAZ sont activées lors de différents stimuli (Panciera et al. 2017) comme l'étirement d'une cellule sur une surface importante (Dupont et al. 2011), l'ancrage cellulaire sur une matrice rigide (Dupont et al. 2011; Caliarì et al. 2016), l'impact des forces de cisaillement dues à un flot (B. Li et al. 2019; O.-H. Kim et al. 2022) ou la faible densité cellulaire (Das et al. 2016; Neining et al. 2021) (**Figure 11**).

Le facteur commun de ces différents stimuli concerne la tension du cytosquelette, ou du moins l'organisation du cytosquelette d'actine. En effet, plusieurs études démontrent le rôle primordial des fibres de stress pour l'activation de YAP/TAZ (Dupont et al. 2011; Aragona et al. 2013).

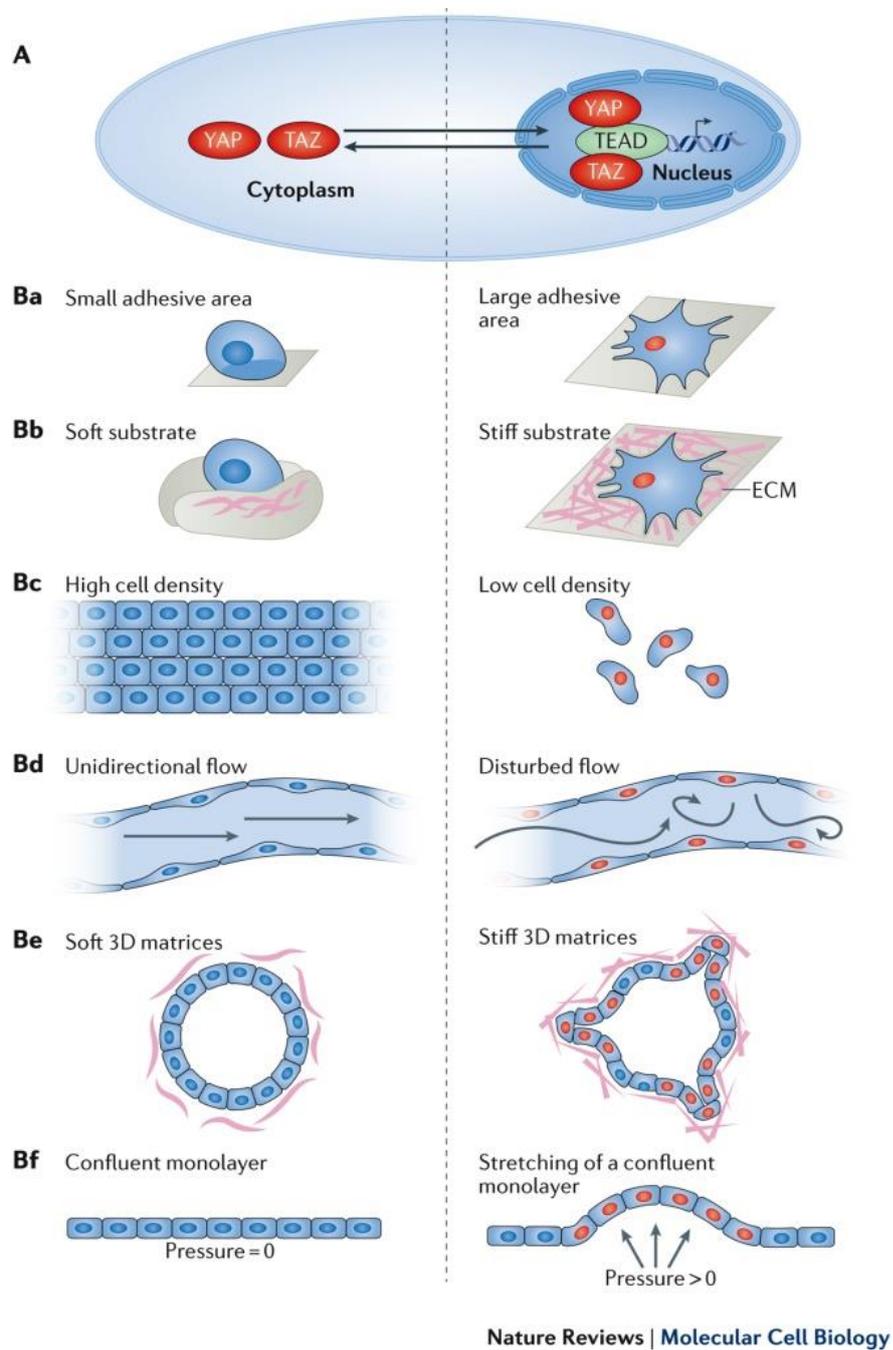


Figure 11 : Stimuli mécaniques activant YAP/TAZ par Panciera et al. (2017). Le transfert de YAP/TAZ au noyau est régulé par la tension cellulaire donc par son environnement mécanique. A gauche, les signaux inhibant YAP/TAZ restant cytoplasmique, à droite, ceux l'activant et promouvant leur transfert nucléaire.

De plus, la tension de ces fibres, étant transmise jusqu'au noyau par l'activation des LINC (Linker of Nucleoskeleton and Cytoskeleton), facilite l'entrée de YAP/TAZ dans le noyau (Driscoll et al. 2015; Wu et al. 2022). Cette tension est généralement créée par l'adhésion des cellules à une matrice et donc par l'engagement des intégrines et de la voie en aval de cette activité. En effet, il a été démontré que l'engagement des intégrines, en particulier l'intégrine $\beta 1$, entraîne l'activation de l'axe FAK-Src (N.-G. Kim et Gumbiner 2015; Elbediwy et al. 2016; Sabra et al. 2017), ce qui inhibe les protéines de la voie Hippo, régulatrices négatives de YAP/TAZ. Ainsi, les adhésions focales ont aussi leur importance dans cette régulation. Et en effet, une étude *in silico* a étudié l'importance de la localisation de protéines FAK et RhoA : le transfert nucléaire de YAP/TAZ semble dépendre de la localisation de FAK à la membrane (Eroumé et al. 2021).

Le transport nucléocytoplasmique de YAP/TAZ reste très dynamique et le cytosquelette est toujours d'importance. Ege et al. (2018) utilisent une technique élégante de FRAP et de photobleaching pour regarder la translocation d'un YAP1-EYFP dans les fibroblastes humains. L'inhibition de la contractilité des fibres de stress, par la blebbistatine, ou l'inhibition de l'activation de Src entraînent bien la rétention cytoplasmique de YAP1, confirmant le rôle de l'actine et de Src dans la localisation de YAP/TAZ (Ege et al. 2018). Une fois entré dans le noyau, YAP y reste un temps, se liant aux TEADs, avant d'être exportée. Et même pour cette exportation, le cytosquelette d'actine et Src reste capital, leur inhibition accélérant l'export nucléaire de YAP1 (Ege et al. 2018). Ceci conclut de l'importance de la tension de la cellule, de sa forme, et des protéines associées au maintien des fibres de stress dans la régulation de YAP/TAZ dans une cellule adhérente.

Les protéines YAP/TAZ elles-mêmes sont capables de moduler les fibres d'actine et les adhésions focales, les limitant dans l'espace pour entraîner une meilleure migration cellulaire (Mason et al. 2019), démontrant une régulation bidirectionnelle entre le cytosquelette et la voie YAP/TAZ.

Effecteurs YAP/TAZ :

Les protéines YAP et TAZ sont des paralogues, présentant 46% d'homologie entre eux (**Figure 12**). Ils ont des domaines communs tels que les sites de liaison à TEAD et à 14-3-3, une super hélice, un domaine transactivateur (TAD) en C-Terminal, et un site de liaison pour protéines ayant un domaine PDZ.

Cependant, YAP possède un site de phosphorylation par Src et deux domaines WW alors que TAZ n'en présente qu'un, ce domaine permettant la liaison de protéines possédant des motifs PY (LATS, β -caténine, RUNX1/2...). Cette différence dans le nombre de domaines favorise la liaison avec différents facteurs de transcription. Aussi, YAP a deux sites de phosphodégrons contre un pour TAZ, ce qui permet à TAZ d'être dynamiquement plus régulé que son paralogue (C.-Y. Liu et al. 2010; W. Huang et al. 2012) et donc plus instable.

TEADs :

Au nombre de quatre chez les Mammifère, les TEADs possèdent un domaine TEA pour leur liaison à l'ADN, un site de palmitoylation, qui une fois auto-activé permet la stabilité de la protéine (Chan et al. 2016; Noland et al. 2016), et un domaine YBD pour leur liaison avec YAP/TAZ. Ces domaines ne sont pas identiques entre les quatre TEADs, suggérant des affinités différentes pour YAP et TAZ (S.-C. Hsu et al. 2022). La présence de TEADs dans le noyau est nécessaire pour que YAP/TAZ puissent elles aussi s'y rendre (K. C. Lin et al. 2017). TEADs peuvent avoir des rôles indépendants de la voie YAP/TAZ, pour TEAD4 en particulier. Il peut se lier à VGLL4 et être un antagoniste de la voie YAP/TAZ dans le cancer du poumon (Wenjing Zhang et al. 2014), ou à PGC-1 pour activer la respiration mitochondriale (Kumar et al. 2018). Sa localisation dans la cellule est dépendante de différents facteurs comme la phosphorylation de p38 sous stress osmotique qui bloque son transfert cytonucléaire (K. C. Lin et al. 2017). Aussi, TEAD4 répond à BMP4 par sa translocation dans le noyau pour activer GATA3 (Home et al. 2012). De manière intéressante, la transcription de BMP4 peut elle-même être sous le contrôle des TEADs (Lai et Yang 2013).

Ainsi, la voie YAP/TAZ est régulée moléculairement par les kinases de Hippo, mais aussi par des facteurs mécaniques, et interagit avec nombres d'autres voies de signalisation dont Wnt et BMP.

Interaction de YAP/TAZ avec d'autres voies :

La voie YAP/TAZ interagit avec de nombreuses voies différentes (**Figure 13**).

YAP/TAZ n'interagissent pas seulement avec les voies reliées à l'adhésion comprenant intégrines, FAK, Src et RhoA. Rac, GTPase promouvant la survie et acteur de l'organisation du cytosquelette, peut être activée par l'intégrine $\beta 1$ et par la suite, activer YAP/TAZ (Sabra et al. 2017). Les RhoGTPases dans leur ensemble, modulant les fibres d'actine, régulent ainsi YAP/TAZ. Elles permettent de séquestrer AMOT (Angiomotine), un inhibiteur de la voie YAP/TAZ, et ainsi conserver l'activation de cette dernière. Les RhoGTPases inhibent aussi directement (Jang 2020) ou indirectement les LATS en jouant sur le cytosquelette d'actine.

YAP/TAZ sont aussi activées par les récepteurs EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor), en amont des protéines Ras/Rac/MEK. Ras, régulièrement muté dans les cellules cancéreuses, promeut donc l'activité de la voie, notamment via la stabilisation de YAP1 (Lee et al. 2017). Un des mécanisme proposé est l'inhibition de SOCS5/6, capable d'entraîner la dégradation de YAP/TAZ, par Ras (Wenjing Zhang et al. 2014).

YAP apparaît aussi comme un régulateur important de la voie Wnt. Faisant partie du complexe de dégradation de la β -caténine, il contrôle donc son recrutement au protéasome en l'absence de ligand Wnt (Azzolin et al. 2014). Mais aussi, il est capable d'activer une signalisation non canonique de Wnt et d'entraîner la sécrétion d'inhibiteurs de Wnt/ β -caténine afin d'induire l'ostéogenèse et la migration cellulaire dans des CSM murines (Park et al. 2015).

La voie PI3K est aussi associée avec YAP/TAZ et les cancers. PI3K/PDK1/Akt est une voie connue pour être dérégulée dans différents cancers, notamment du sein, pour la survie des cellules tumorales et la résistance aux traitements (Carden et al. 2012). Zhao et al. (2018) démontrent que PI3K active YAP/TAZ dans le cancer du sein pour faciliter l'initiation tumorale. La localisation de PDK1 dans le cytoplasme serait plus importante que son activité kinase, pouvant éventuellement servir de plateforme pour les protéines inhibitrices LATS et MST (Y. Zhao et al. 2018). A l'inverse, YAP/TAZ elles-mêmes peuvent inhiber la transcription de PTEN, inhibiteur de PI3K dans un contexte diabétique ce qui entraîne la suractivation de la voie PI3K/PDK1 et ainsi l'inhibition des LATS/MST, créant une boucle positive entre les deux voies (Qian et al. 2021).

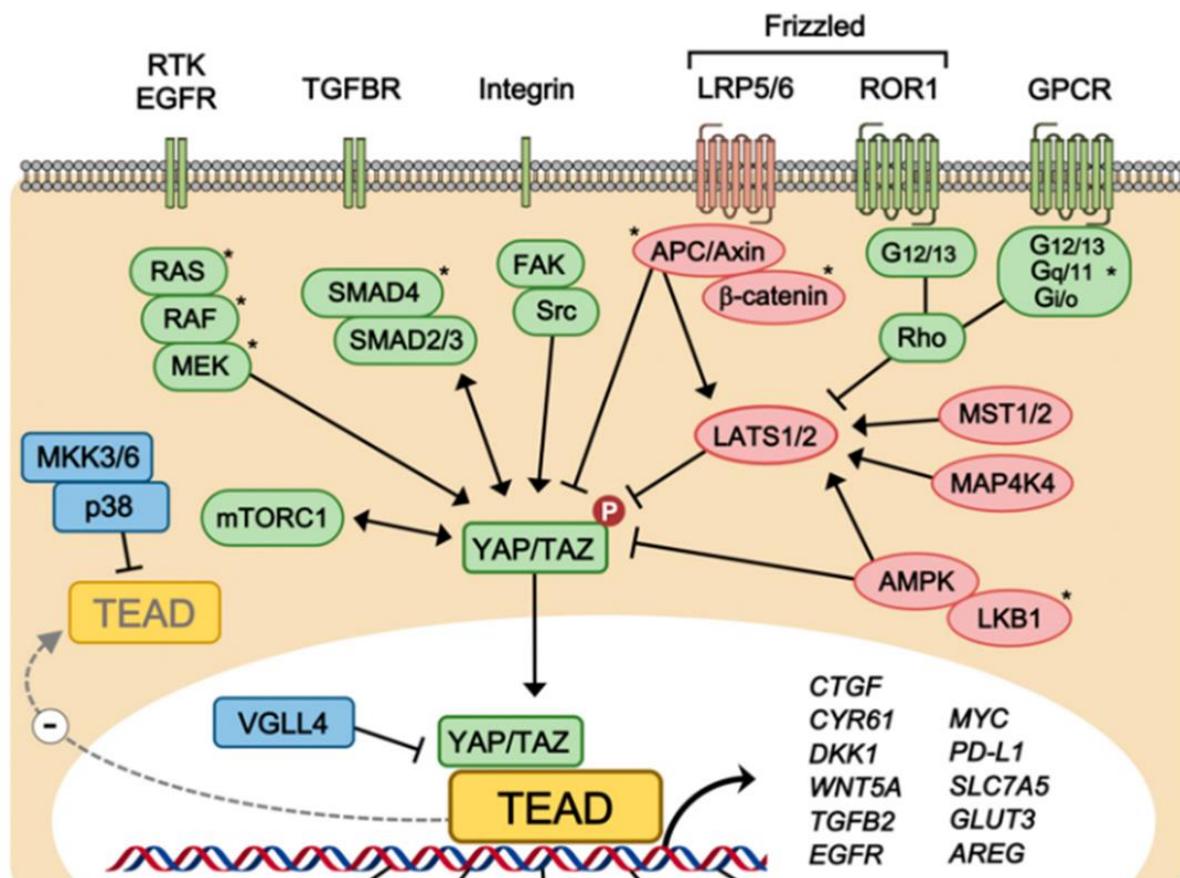


Figure 13 : Voies interagissant avec YAP/TAZ par Huh et al. (2019).

D'autres kinases interagissent aussi avec YAP/TAZ, dont les MAPK. Concernant p38, nous avons déjà vu qu'il empêchait le transfert de TEADs dans le noyau lors de stress osmotique et prévenait ainsi l'activation de la voie YAP/TAZ (K. C. Lin et al. 2017). A l'inverse, p38 permet l'accumulation d'actine, ce qui entraîne l'activation par le transfert de YAP dans le noyau (D. Huang et al. 2016). ERK aussi est un modulateur de la voie YAP/TAZ. Il permet sa stabilisation

en inhibant la transcription des gènes Hippo (You et al. 2015). Il est aussi activé par stress mécanique en même temps que YAP pour promouvoir la prolifération cellulaire (K. Yang et al. 2016).

Dans la superfamille du TGF β , on retrouve ledit TGF β et aussi les BMP (Bone Morphogenetic Proteins). Les deux axes de la famille peuvent aussi interagir avec YAP/TAZ. Alors que la voie canonique du TGF β s'effectue par la phosphorylation des Smads 2/3, celles des BMP se fait par la phosphorylation des Smad 1/5/8, en leur C-terminale. YAP/TAZ sont connues pour réguler la voie TGF β , un domaine d'interaction directe entre Smad2/3 et TAZ a déjà été démontré (Piccolo, Dupont, et Cordenonsi 2014). Aussi, il a été observé que la voie YAP/TAZ promeut celle du TGF β par l'inhibition d'AP-1 et de Smad7 (Qin et al. 2018). Cet effet est retrouvé en réponse à différentes rigidités, avec une meilleure activation de TGF β et de YAP/TAZ dans les cellules sur substrat rigide (Szeto et al. 2016). Concernant la voie BMP, YAP lui peut être recrutée sur un autre site de phosphorylation situé notamment sur Smad1 (Alarcón et al. 2009). Par cette action, YAP stabilise les Smad1/5/8 et la transcription de leurs gènes-cible (Alarcón et al. 2009) dont *id1*. A l'inverse, lors de la différenciation neuronale, BMP2, ligand de la voie BMP, entraîne l'interaction de YAP avec Smad1 (Yao et al. 2014). Via cette interaction, le complexe est conservé dans le cytoplasme, l'inactivation de la signalisation YAP promeut ici la différenciation (Yao et al. 2014).

YAP/TAZ peuvent donc interagir avec d'autres voies de signalisation afin de réguler l'expression génique, dépendamment de stimuli mécaniques.

Rôle de la voie YAP/TAZ :

Quels sont donc ses objectifs et pourquoi cette voie est-elle importante pour la cellule ? Découverte pour son action dans le contrôle de la taille des organes (J. Huang et al. 2005) chez la Drosophile, elle a également d'autres rôles. YAP/TAZ contrôle l'embryogenèse où l'on retrouve des forces mécaniques différentes selon les différentes étapes de développement, ce qui régulera l'entrée nucléaire de YAP/TAZ (Maître et al. 2016; Dattani et al. 2022; Mizutani et al. 2022).

Elle peut ainsi réguler la reprogrammation cellulaire (Panciera et al. 2017), la prolifération (F.-X. Yu, Zhao, et Guan 2015; Koo et al. 2020) et la différenciation. Son rôle dans la différenciation des Cellules Souches Mésoenchymateuses (CSM) est aussi dépendant de la rigidité du substrat. Comme vu précédemment, les CSM sont capables de s'engager dans différentes lignées en fonction du substrat sur lesquelles on les cultive (Engler et al. 2006), ce qui suggère l'importance de l'étalement cellulaire dans cette décision. En effet, la répression YAP est nécessaire pour la différenciation cartilagineuse des CSM (Karystinou et al. 2015), son activité étant régulé par Src (Nie et al. 2019). La différenciation des CSM en adipocytes est médiée elle aussi par la répression de YAP par LATS2 (An et al. 2013), de même que par l'étalement de la cellule due à la rigidité et la dimensionalité du substrat (Oliver-De La Cruz et al. 2019). Cependant, son activité, régulée par le substrat rigide, est nécessaire pour contrôler ces différentes trajectoires de différenciation dans les CSM (Dupont et al. 2011; Wu et al. 2022).

De façon surprenante, YAP/TAZ ne sont pas uniquement actives au moment du stimulus. Elles sont aussi les représentantes d'une mémoire mécanique. Yang et al. (2014) utilisent un hydrogel photodégradable, permettant de passer d'une rigidité de 10kPa à 2kPa par un procédé d'illumination. Grâce à cela, ils démontrent que des CSM cultivées une journée sur substrat dur (10kPa), non seulement montrent un transfert nucléaire de YAP/TAZ, mais celles-ci restent nucléaires pendant trois jours même après transfert des cellules sur un substrat mou (2kPa) (C. Yang et al. 2014). Ceci marque une latence et une conservation du message mécanique dans la cellule, qui pourrait être utile lors de migration ou de cancers.

Dans le système hématopoïétique, les cellules naviguent dans un compartiment semi-solide et peuvent adhérer à des niches de rigidité différente (détaillé dans le chapitre 3). Le rôle de YAP/TAZ dans des cellules, souvent considérées en suspension, commence donc à être étudié. Donato et al. (2018) démontrent dans un modèle murin que le rôle de YAP/TAZ dans l'hématopoïèse adulte ne serait pas nécessaire. Ils ne trouvent en effet pas de différence dans la capacité des cellules souches à se différencier ou à s'autorenouveler, entre souris contrôle ou délétées pour YAP/TAZ, se limitant à l'étude dans les cellules souches (Donato et al. 2018). Or, des papiers récents montrent tout de même l'implication de la voie dans la différenciation des cellules hématopoïétiques plus avancées. TAZ mais non YAP entraîne la différenciation en Th₁₇ mais bloque celle en T_{reg}, deux sous-populations des lymphocytes T (Geng et al. 2017). A l'inverse, YAP est plus important que TAZ dans la différenciation des mégacaryocytes (Lorthongpanich et al. 2020). Et même, les Cellules Souches Hématopoïétiques (CSH) seraient protégées du vieillissement grâce à l'expression de TAZ, stimulant PU.1, facteur de transcription régulant la différenciation des différentes lignées hématopoïétiques (K. M. Kim et al. 2022).

Rôle dans le cancer :

Au vu de son importance dans la prolifération, l'homéostasie du tissu et la différenciation cellulaire, la dérégulation de YAP/TAZ est retrouvée dans de nombreux cancers. La densification des tissus et la nouvelle organisation des cellules dans la tumeur change l'environnement plus souple et organisé du tissu sain dans lequel la cellule à l'habitude d'évoluer. Modulées par ces stimuli, les protéines YAP/TAZ connues comme oncogènes, promeuvent la survie des cellules cancéreuses, et leur résistance à différents traitements, étant relié à des cancers de mauvais pronostic (Z. Sun et al. 2015), ce dans de nombreux modèles.

En effet, YAP/TAZ sont présentes dans de nombreux cancers comme le sein, le mélanome, le pancréas ou le foie. Elles permettent la prolifération des cellules, notamment dans le mélanome en s'associant avec AP-1 (Koo et al. 2020). Mais aussi, elles promeuvent la résistance à l'anoïkis, aussi bien dans le mélanome où l'inhibition de YAP entraîne une augmentation de la mort cellulaire (Bei Zhao et al. 2021), que dans le cancer de la prostate, où la voie YAP/TAZ reste active même après détachement cellulaire, dû à une dérégulation des LATS1/2 (Bin Zhao et al. 2012). De plus, YAP/TAZ promeut aussi la migration métastatique

(L. Zhang et al. 2015; Bartucci et al. 2015), et l'acquisition de capacités souches dans des cellules tumorales (Cordenonsi et al. 2011; Castellan et al. 2021).

La voie YAP/TAZ est aussi impliquée dans la résistance aux traitements. Elle participe à la résistance contre les inhibiteurs de BRAF ou NRAS dans le mélanome et dans le cancer du poumon non à petites cellules (L. Lin et al. 2015). Dans le cas du mélanome, l'actine des cellules résistantes aux inhibiteurs de BRAF est remodelée, ce qui entraîne le transfert nucléaire de YAP (M. H. Kim et al. 2016). Ce transfert est aussi dû à la rigidité du substrat de la MEC et l'activité de YAP dans les cellules résistantes, augmentant la sécrétion des protéines matricielles (Girard et al. 2020). En plus, la MEC médiera l'organisation de ses protéines et la contractibilité des cellules, participant ainsi à leur résistance (Girard et al. 2020). Cela démontre l'importance de YAP dans la résistance au traitement mais aussi le dialogue entre la cellule et son environnement physique, dont l'accumulation de MEC permet la protection des cellules au traitement.

Une étude sur un large profil de tumeurs a permis de discriminer des cancers dits YAP^{on} contre des cancers dits YAP^{off} (Pearson et al. 2021). Dans cette étude, la majorité des cancers solides et adhérents (mélanome, cancer du sein ou colorectal...) étaient considérés YAP^{on}, définissant des tumeurs ayant un taux important de YAP. Dans ce cas-ci, YAP montrait des caractéristiques pro-tumorales, en s'associant préférentiellement aux TEADs et à AP-1 pour entraîner l'expression de gènes prolifératifs. Dans le cas des cancers YAP^{off}, concernant des cancers dits semi-adhérents ou liquides (gliomes de bas grade, cancer du poumon à petites cellules, leucémies...), YAP était silencé. Cependant, en réexprimant la protéine YAP dans ce type de cancers, elle s'associait avec facteurs de transcription bHLH pour permettre l'expression de protéines de la MEC et des gènes permettant l'adhésion, entraînant l'arrêt de prolifération cellulaire (Pearson et al. 2021). Pearson et al. (2021) mettent aussi en avant la possibilité d'un switch entre un cancer YAP^{on} devenant YAP^{off} pour permettre la résistance thérapeutique. Cette régulation différentielle de YAP dans différents types de cancer améliore la compréhension de leur fonctionnement et donc le développement de nouveaux traitements.

C'est pourquoi, lorsque l'on se concentre sur le compartiment hématopoïétique, il semblerait que la voie YAP/TAZ ait des effets différents comparé aux cancers solides. Dans les Myélome Multiples (MM), l'hypothèse décrite ci-dessus semble se valider. L'activation de YAP mène à la mort cellulaire (Maruyama et al. 2018), de même, la réexpression de TAZ resensibilise les MM à leur traitement, en inhibant *myc* (Grieve et al. 2019). Un autre exemple montre que la réactivation de YAP entraîne l'apoptose induit par des dommages de l'ADN en interagissant avec p73, que ce soit dans le MM ou dans différentes leucémies (Cottini et al. 2014). A l'inverse, dans la leucémie pro-myélocytaire aigüe, YAP/TAZ promeut la survie, comme son inhibition à la Verteprofine (VP) provoque l'apoptose (M. Chen et al. 2017). Cependant, Donato et al (2018) nuancent ces résultats. Utilisant des modèles murins pour la Leucémie Aiguë Myéloïde, avec un génotype présentant l'oncogène MLL-AF9 avec ou sans mutant NRAS, ils comparent leur modèle contrôle avec ceux délétés pour YAP/TAZ. Ils ne retrouvent pas de différences d'initiation leucémique entre les deux conditions, concluant que dans ce cas de

leucémie-ci, YAP/TAZ n'était nécessaire ni dans son établissement, ni comme suppresseur de tumeurs (Donato et al. 2018).

C'est pourquoi, on peut en effet s'interroger sur le rôle de YAP/TAZ dans les maladies hématologiques. Alors que le rôle de YAP/TAZ n'est plus à démontrer dans les cancers solides, il semblerait plus controversé dans les cancers semi-adhérents, ou YAP^{off}. De plus, les études décrites ci-dessus étudient les leucémies lors de stade « diagnostic ». Que se passe-t-il donc lors de chimiorésistance dans les cancers liquides ?

Chapitre 3 - Système hématopoïétique

Hématopoïèse et éléments dérivés du sang

L'hématopoïèse est le processus d'obtention des différents éléments matures du sang. Elle permet la production de billion de cellules sanguines par jour dans la moelle osseuse. Ce renouvellement quotidien des cellules est possible grâce aux cellules souches hématopoïétiques (CSH). Ces CSH sont retrouvées au sein de la moelle osseuse où elles se divisent de manière asymétrique, permettant leur autorenewement ou bien leur différenciation. Par ce biais, elles donnent naissance à un progéniteur commun multipotent, qui engendrera lui-même deux progéniteurs, soit un progéniteur commun lymphoïde ou un progéniteur commun myéloïde. Le premier donnera naissance aux cellules matures lymphoïdes : les lymphocytes B, producteurs d'anticorps, les lymphocytes T, qui détruisent les cellules étrangères par contact direct, et les cellules NK (Natural Killers) ayant des propriétés cytotoxiques permettant la régulation du tissu (élimination de cellules cancéreuses ou infectées par un virus). Le progéniteur commun myéloïde est donc à la tête des cellules matures myéloïdes. On retrouvera les érythrocytes, transportant l'oxygène dans le sang, les plaquettes, permettant la coagulation sanguine et les cellules de l'immunité innée, neutrophiles, basophiles, éosinophiles et monocytes, en première ligne contre une infection ou inflammation (**Figure 14**).

Plusieurs facteurs solubles tels que des facteurs de l'inflammation (IL-3, -6, -11, -12), ou de croissance comme le GM-CSF (Granulocyte Macrophage Cell Stimulating Factor) et G-CSF (Granulocyte Cell Stimulating Factor), ckit/SCF (Stem Cell Factor) ou TPO (thrompoëitin) régulent ce processus de différenciation (Ogawa 1993; Metcalf 1998). Certains de ces facteurs ont des actions plus larges, et sont impliqués dans les différenciations spécialisées dans certaines lignées sanguines en aval. Par exemple, le G-CSF stimule le développement des progéniteurs multipotents (F.-C. Yang et al. 1998), la différenciation des neutrophiles (Lotem et Sachs 2002) et dans le recrutement et la mobilisation des cellules-souches (Link 2000). Il sert aujourd'hui de traitement pour la récupération des CSH dans le sang périphérique. Comme facteurs de croissance plus spécialisés, on retrouvera aussi : l'EPO (Erythropoïétin) pour la différenciation érythrocytaire, la TPO pour la différenciation plaquettaire, le M-CSF (Macrophage Cell Stimulating Factor) pour celle des macrophages, le GM-CSF à celle des granulocytes/macrophages et cellules dendritiques (Lotem et Sachs 2002).

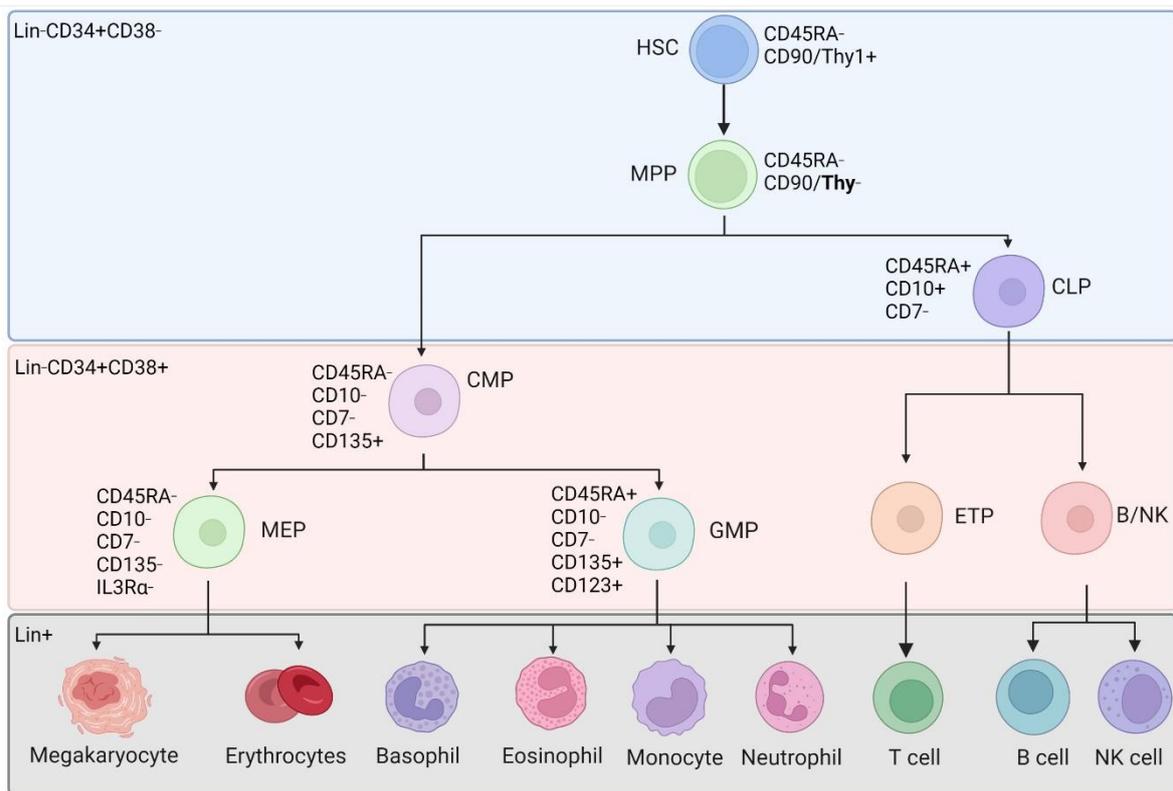


Figure 14 : Hématopoïèse pyramidale adapté de Alessandro Rizzo, Abcam et Sudo et al. (2013) et Doulatov et al. 52012) : Hématopoïèse et les marqueurs associés aux différents types cellulaires chez l'humain.

HSC : hematopoietic stem cell ; MPP : Multipotent Progenitor; CLP: Common Lymphoid Progenitor; CMP: Common Myeloid Progenitor; GMP: Granulocyte-Monocyte Progenitor; MEP: Megakaryocyte-Erythroid Progenitor; ETP: Early T-cell Progenitor.

Comme toutes cellules, les différentes composantes de la hiérarchie hématopoïétique peuvent se distinguer par des marqueurs de surface (**Figure 14**). Chez l'humain, un marqueur commun à une majorité de cellules sanguines, exceptés dans les érythrocytes et les plaquettes, est le CD45. Les CSH immatures sont canoniquement caractérisées comme étant Lin- (lineage) CD34+ CD38-. Ce terme de « Lineage » regroupe un ensemble de marqueurs retrouvés à la surface des cellules hématopoïétiques matures et différenciées. Par exemple, il peut comprendre CD14 chez les monocytes, CD16 chez les cellules NK, CD20 chez les lymphocytes B... Si les cellules n'expriment aucun de ces marqueurs, elles sont donc considérées comme indifférenciées et Lin-. En plus de ce quatuor, Lin- CD45+ CD34+ CD38-, les CSH vont exprimer des récepteurs de ligand important à leur régulation tels que le CD117, récepteur du SCF (Yin et al. 1997) ou bien le CD123, récepteur de l'IL-3 (Sato et al. 1993). Elles sont aussi positives pour CD90/Thy1 (Baum et al. 1992) et ALDH (Storms et al. 1999), elles seront négatives pour le CD45RA. Des études démontrent cependant que certaines CSH peuvent être CD34- (Anjos-Afonso et al. 2013) c'est pourquoi, les marqueurs moléculaires ne

suffisent pas toujours à définir le type cellulaire. Les cellules supposées souches sont aussi validées au niveau fonctionnel : *in vitro*, c'est surtout la capacité d'autorenouveaulement qui sera évaluée via des expériences de CFC (Cell-Forming Cells assay) ou de LT-CIC (Long-Term Culture Initiating Cells). La première permet l'identification et la quantification des cellules progénitrices tandis que la deuxième souligne la présence de cellules souches. Une autre méthode de validation des caractères souches d'une cellule hématopoïétique est la transplantation dans des souris immunodéprimées pour évaluer leur capacité à recréer tout l'arbre hématopoïétique. Il existe deux sous-types de CSH, les « long-term » et « short-term ». Les CSH long-term seront plus quiescentes alors que les short-term ont un taux de prolifération plus important. Un panel de marqueurs dits SLAM (signaling lymphocyte activation molecule) permet de discriminer CSH et progéniteurs chez la souris, avec les CSH les plus immatures qui expriment CD150+ CD244+ CD48- (Kiel et al. 2005).

Par la suite, la CSH devient un progéniteur commun multipotent humain exprimant CD34+ CD38- CD90-, puis CD34+ CD38+ CD90- CD45RA+ lors de son engagement lymphoïde ou CD34+ CD38+ CD90- CD45RA- dans son engagement myéloïde. Les cellules différenciées, elles acquièrent leurs marqueurs Lin spécifiques, preuve de leur engagement finale dans leur lignée (Figure 14).

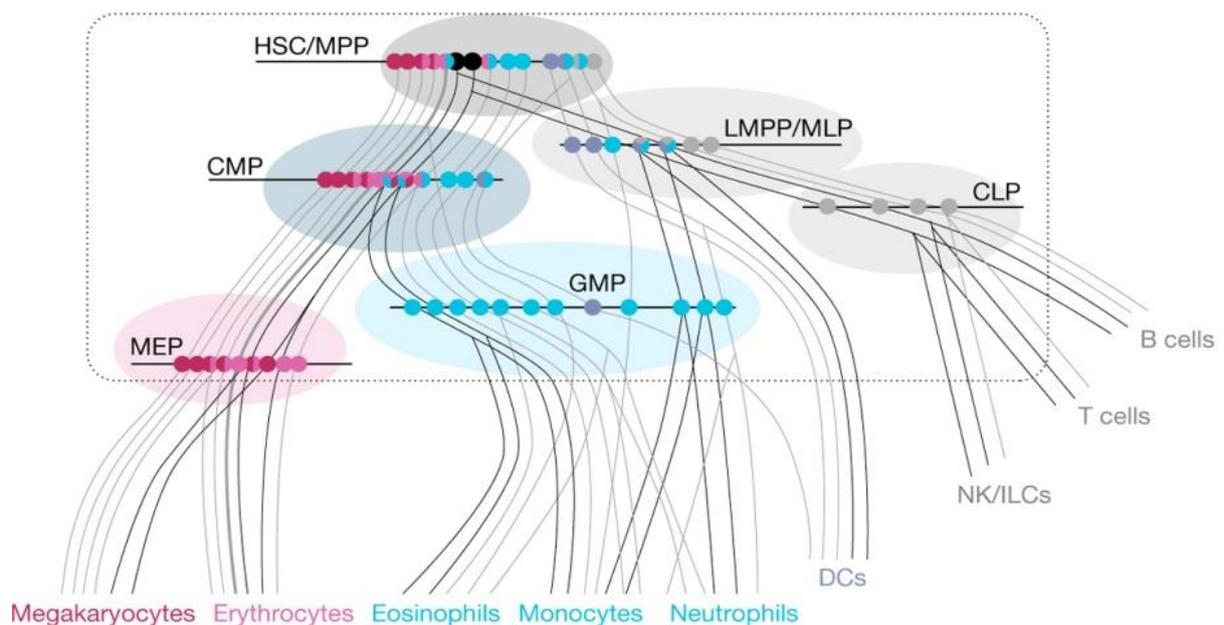


Figure 15 : Modèle révisé de l'hématopoïèse par Laurenti et al. (2018). Le pool des CSH se retrouve dans les grandes aires grisées. Les cellules sont classées dans les différentes catégories selon l'expression de leurs marqueurs de surface. Le nombre de couleurs désignent la potentialité de différenciation de la cellule : les noires sont multipotentes, puis une ou plusieurs couleurs, la cellule sera uni-, bi-, voire tri-linéaire. La couleur désigne vers quelle lignée cellulaire la cellule ira se différencier.

Ce concept de hiérarchie pyramidale de l'hématopoïèse a depuis été revisité. Bien que la caractérisation par marqueurs de surface reste la même, des études démontrent un continuum entre les CSH et les progéniteurs. CSH et progéniteurs peuvent être très hétérogènes (Laurenti et Göttgens 2018) (**Figure 15**). Certaines CSH restent multipotentes pour permettre leur autorenouveauement mais leurs cellules-filles sont limitées dans le choix de leur lignée de différenciation : chez la souris, certaines seront engagées vers la lignée myéloïde ou lymphoïde (Dykstra et al. 2007; Muller-Sieburg et al. 2004), voire mégacaryocytaire (Carrelha et al. 2018). Velten et al. (2017) proposent un modèle de CLOUD-HSPC (Continuum of LOw-primed UnDifferentiated-Hematopoietic Stem and Progenitor Cells) : la différenciation ne passerait pas par la succession discrète de différents progéniteurs stables, les changements d'état seraient plus dynamiques et fluides. En effet, des progéniteurs avec biais de différenciation uni-, bi- ou trilineaire sont retrouvés, tôt dans la différenciation (Laurenti et Göttgens 2018).

L'hématopoïèse est donc finement régulée, notamment, par la présence de récepteur-ligand qui permet la formation du système sanguin et immunitaire. En plus, elles sont aussi régulées par le contexte environnemental.

L'hématopoïèse se fait dans la moelle osseuse, à l'intérieur même de nos os, compartiment clos et non-extensible, dans lequel se retrouve une niche complexe impliquant différents types cellulaires, mais aussi des protéines de la MEC et présentant une rigidité différentielle.

Moelle osseuse, niche médullaire et régulation des CSH :

En 1978, Ray Schoelfield proposait l'hypothèse de la présence de niches médullaires dans la moelle osseuse (Schofield 1978), que l'on retrouve chez l'adulte, à l'intérieur des os longs et plats. Ces niches seraient l'endroit idéal pour préserver les capacités de régénération des CSH. Cette notion de niche a été décrite dans d'autres modèles que le système hématopoïétique comme dans les cryptes intestinales et les follicules pileux (Rompolas, Mesa, et Greco 2013). Dans ces différentes configurations, le constat est le même, la localisation des cellules souches dans ses différentes niches régule leurs fonctions (Rompolas, Mesa, et Greco 2013).

Originellement, deux niches différentes ont été décrites, notamment chez la souris : l'une près de l'os, appelée niche ostéoblastique ou endostéale, et l'autre aux alentours des vaisseaux sanguins, la niche périvasculaire (**Figure 16**). La première niche permet à un pool de CSH de rester quiescentes, protégées du stress génotoxique, jusqu'à leur mobilisation après un stress hématologique qui les pousseront à entrer en division asymétrique. Dans la seconde, on retrouvera aussi des CSH, maintenues en quiescence mais plus rapidement mobilisées pour leur différenciation et prolifération en progéniteurs ou cellules différenciées, qui, elles, migreront dans les vaisseaux et le sang périphérique. La localisation des cellules au sein des niches régulera donc leurs propriétés et les CSH peuvent naviguer entre ces deux niches. Dans l'ensemble de ces niches vont se répartir d'autres types cellulaires qui seront à même de

contrôler et réguler les propriétés des cellules souches. On retrouvera donc des cellules telles que des ostéoclastes, des cellules nerveuses de Schwann, des cellules endothéliales et des cellules souches mésenchymateuses qui pourront se différencier principalement en adipocytes ou ostéoblastes. Un autre facteur d'importance qui change d'une niche à l'autre est la rigidité de l'environnement : on parle d'une rigidité allant de 0,3kPa à 30-40kPa dépendamment de la niche, plus rigide au plus près de l'os comparé à la souplesse des vaisseaux sanguins, notamment chez le porc (Jansen et al. 2015).

Une grande partie des études concernant la localisation et la structure des niches proviennent du modèle murin où les outils techniques et génétiques sont disponibles et les questions éthiques moindres comparé à l'humain.

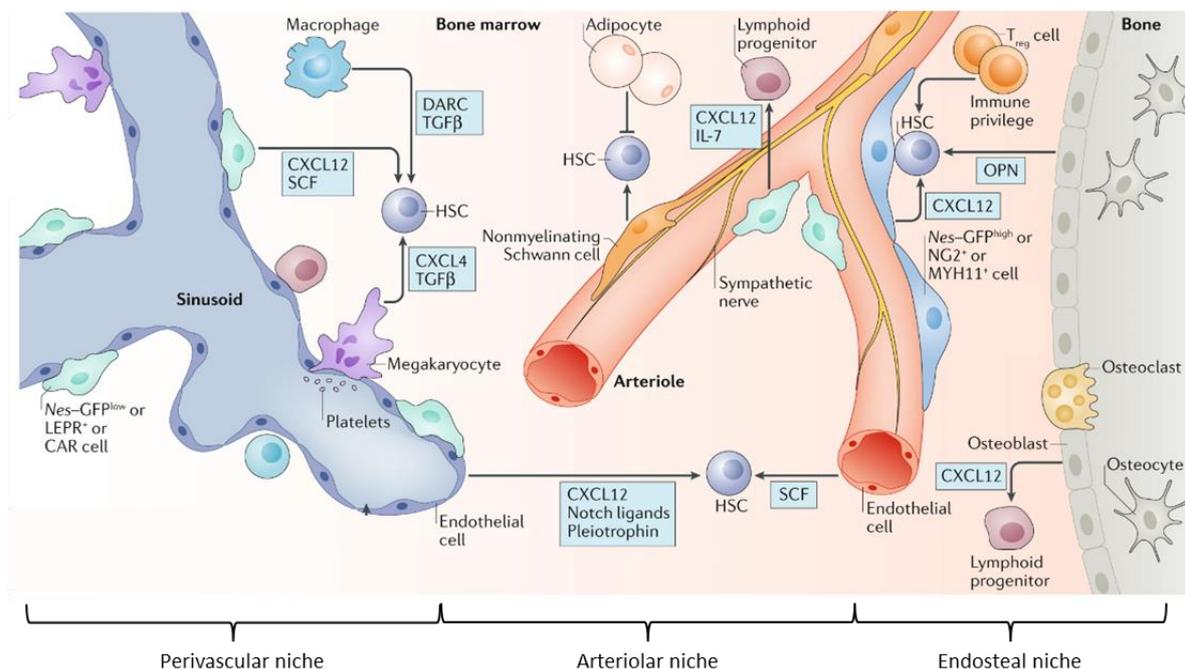


Figure 16 : Composition cellulaire des niches médullaires adaptée de Pinho et al. (2019).

Nes-GFP^{high/low} : periarteriolar nestin GFP^{high/low} cells, CAR-cell : CXC-chemokine ligand 12 (CXCL12)-abundant reticular cells, HSC : Hematopoetic Stem Cell, Treg : regulatory T cells, DARC : duffy antigen receptor for chemokines, IL-7 : interleukin-7, OPN : osteopontin, SCF : stem cell factor, TGFβ, transforming growth factor-β.

Régulation cellulaire :

Ostéoblastes :

Dans la niche ostéoblastique, ostéoblastes et ostéoclastes bataillent lors du renouvellement du tissu osseux. Les premiers sont dérivés de la différenciation des cellules-souches mésenchymateuses (CSM) et se différencient eux-mêmes en ostéocytes pour former de l'os. Les seconds, sont dérivés de la lignée hématopoïétique résultant de la fusion de macrophages du tissu osseux et ont pour rôle la résorption de l'os. Les ostéoblastes (OB) participent à la

maintenance des CSH. Chez la souris, la perte des ostéoblastes dans la niche entraîne la diminution du nombre de CSH de même que de l'hématopoïèse (Visnjic et al. 2004). En effet, les OB humains sont capables de sécréter différents facteurs permettant l'expansion des CSH (Taichman, Reilly, et Emerson 1999). De plus, les OB murins sécrètent du CXCL12, qui dans cette niche, promeut la différenciation des progéniteurs lymphoïdes (Ding et Morrison 2013; Y.-M. S. Hsu et al. 2012). La voie BMP (Bone Morphogenetic Proteins) joue aussi un rôle dans l'interaction OB-CSH. L'inactivation du récepteur BMPR1A sur les OB murins augmente leur nombre et celui des CSHs, indiquant que la voie BMP peut réguler la taille de la niche ostéoblastique (J. Zhang et al. 2003). Les OB sécrètent aussi d'autres facteurs impactant les CSH : l'ostéopontine, aussi retrouvée dans la MEC, régule négativement l'expansion du pool de CSH (Stier et al. 2005), alors que la thrombopoïétine (Yoshihara et al. 2007) et l'angiopoïétine (Arai et al. 2004), entraînent l'adhésion des CSH aux OB et leur mise en quiescence pour les protéger de l'apoptose (**Figure 16**).

CSM Nestin+ :

Il semblerait néanmoins que les rôles des OB soient en partie partagés par la présence en faible quantité de CSM dites Nestin+ ou high, accolées aux artérioles parcourant la niche ostéoblastique (**Figure 16**). En effet, Méndez-Ferrer et al. (2010) ont mis en évidence des propriétés précédemment associées aux ostéoblastes. Observées colocalisées avec les CSH dans la moelle de la souris, les CSM Nestin+ sécrèteraient directement nombre de facteurs permettant la maintenance et le recrutement des CSH dans la moelle osseuse : CXCL12 (appelé aussi Stromal Derived Factor 1), SCF, VCAM1 (Vascular Cell Adhesion Molecule 1), osteopontine, angiotensine... Ce sous-type de CSM est majoritairement quiescent et donc protégé lors de l'administration de drogues comme le 5FU (Kunisaki et al. 2013), mais leur perte entraîne une relocalisation des CSH et poussent à leur prolifération (Kunisaki et al. 2013).

La niche ostéoblastique, composée des OB et des CSM Nestin+, assure donc le maintien et la protection des CSH dans un état quiescent grâce au CXCL12, l'ostéopontine, le TGF β et l'angiopontine.

Cellules réticulées associées au CXCL12/CAR cells:

Il existe une autre population de CSM importantes : les CSM dites Nestin- ou dim, ou encore CAR cells (CXCL12 abundant reticular cells) (Pinho et Frenette 2019). Plus présentes dans la niche périvasculaire murines, ces CSM sont localisées sur les sinusoides (**Figure 16**) et sont capables de se différencier en ostéoblastes ou en adipocytes (Omatsu et al. 2010). Ces cellules régulent le nombre de CSH dans la moelle en maintenant les CSH indifférenciées, mais aussi les progéniteurs érythrocytes et lymphoïdes, grâce à leur production de CXCL12 et SCF (Omatsu et al. 2010). Les CSH dans cette niche sont plus activées et plus à même d'être mobilisées pour leur différenciation. Cette régulation par des CSM CXCL12 high a été reportée récemment chez l'humain (Aoki et al. 2021).

Adipocytes :

Produit de la différenciation des CSH, le rôle des adipocytes est encore incertain. Leur présence s'intensifie pourtant avec l'âge (Pinho et Frenette 2019), dérégulant l'hématopoïèse. Ils sont considérés comme un régulateur négatif de l'hématopoïèse. Naveiras et al. (2009) montrent que chez un modèle murin « fatless », incapable de former des adipocytes, la greffe des CSH dans les souris était accélérée. Ils démontrent la même chose en utilisant un inhibiteur de PPAR γ , facteur de transcription primordial dans la différenciation adipocytaire (Naveiras et al. 2009). Zhu et al. (2013) les rejoignent sur cette conclusion, utilisant le même inhibiteur dans un autre contexte, celui de la chimiothérapie. Généralement, celle-ci promeut la production d'adipocytes. Dans ce cas-ci, bloquer la différenciation adipocytaire optimise la récupération des CSH après chimiothérapie (Zhu et al. 2013).

Cependant, les adipocytes joueraient aussi un rôle positif. Après une irradiation, le système hématopoïétique est endommagé, et il lui faut se reconstituer. C'est dans ce contexte que B. O. Zhou et al. (2017) ont regardé le rôle des adipocytes, dans les os longs murins. Premièrement, ils observent que les adipocytes sécrètent du SCF. Puis, inhibant une par une les autres sources de SCF (cellules endothéliales, CAR cells), ils démontrent que le SCF produit par les progéniteurs adipocytaires est plus impliqué que celui des autres sources dans la régénération du système hématopoïétique.

La régulation positive ou négative des CSH par les adipocytes pourrait provenir du site de la moelle osseuse (Zhou et al. 2018). Dans les os longs, cette régulation serait positive : les adipocytes promouvant la maintenance des CSH par la sécrétion de SCF (B. O. Zhou et al. 2017). Dans les vertèbres coccygiennes plus riches en adipocytes, elle serait négative (Naveiras et al. 2009) : ils inhiberaient la vascularisation, qui par la suite, perturberait la régénération hématopoïétique (B. O. Zhou et al. 2017).

Cellules endothéliales (CE) :

Les cellules endothéliales tapissent les différents vaisseaux, qu'ils soient artériolaires, sinusoidaux ou artères centrales, et sont source de cytokines ou de protéines de la MEC qui vont impacter les cellules de la niche. Chez la souris, ces vaisseaux peuvent aussi être classifiés en deux compartiments : les vaisseaux dits L (low level of endothelial markers) représentant majoritairement les sinusoides, et les vaisseaux dits H (high level of endothelial markers : CD31+/endomucin+). Les vaisseaux H, localisées dans l'endostéum, connectent les artérioles entre-elles et sont entourées de progéniteurs ostéoblastiques (Kusumbe et al. 2016). Ils sont capables de sécréter du SCF (Kusumbe et al. 2016; Comazzetto et al. 2019) afin de réguler la maintenance des CSH dans leur niche.

Les CE artériolaires sont responsables de la protection des CSH (Doan et al. 2013), elles accélèrent la reconstitution du système hématopoïétique après irradiation (Chute et al. 2007), notamment par la sécrétion d'EGF (Doan et al. 2013). De plus, les CE sécrètent aussi du CXCL12, permettant le maintien des CSH (Ding et Morrison 2013; Ding et al. 2012). Elles produisent aussi Notch, régulant leur autorenouveaulement (Ramasamy et al. 2014), et à

l'inverse, produisent des interleukines (IL-7, IL-33) régulant l'expansion des progéniteurs et la régulation des progéniteurs lymphocytaires (J. Chen et al. 2020).

Un important dialogue existe entre CE et ostéogenèse, notamment par la différenciation des ostéoblastes. En effet, les CE sont force d'angiogenèse au travers de leur propre signalisation par Notch (Ramasamy 2017). L'altération de la voie Notch réduit donc la croissance des vaisseaux mais aussi l'ostéogenèse et entraîne un défaut de l'os (Ramasamy 2017). Les CE régulent la différenciation ostéoblastique, en sécrétant du BMP-2 (Kaigler et al. 2005) mais aussi HIF-1 (Hypoxia Inductible Factor 1) (J. Chen et al. 2020). Cela impactera indirectement le maintien des CSH dans la niche.

Les CE régulent donc les CSH et leurs progéniteurs, mais aussi d'autres types cellulaires tels que les ostéoblastes. En addition de cela, plusieurs rapports démontrent que la perméabilité des vaisseaux joue un rôle important. La structure même des deux types de vaisseaux, artérioles ou sinusoides impacte l'hématopoïèse. Les artérioles sont moins perméables, soutenant le maintien des CSH grâce à un contact limité avec les ROS (Reactive Oxygen Species). Les sinusoides à l'inverse permettent le passage des cellules différenciées dans le sang périphérique et sont donc plus perméables. Cela entraîne une forte concentration de ROS, augmentant le trafic des CSH et leur propension à se différencier (Itkin et al. 2016).

Régulation nerveuse :

En plus des cellules stromales et endothéliales, la moelle osseuse est innervée, principalement par des fibres sympathiques et des fibres sensorielles (Mach et al. 2002). Alors que l'étude de l'impact des fibres sensorielles est encore à ses débuts, certains éléments soulignent celui des fibres sympathiques (Pinho et Frenette 2019). Elles permettraient une régulation circadienne de la sécrétion de G-CSF (Méndez-Ferrer et al. 2008). Celui-ci agirait sur les neurones adrénergiques, entraînant la suppression des OB et par la suite une synthèse réduite de CXCL12 (Katayama et al. 2006). Le CXCL12 est un facteur important pour le maintien des CSH dans leur niche (Méndez-Ferrer et al. 2010; Omatsu et al. 2010). Son inhibition par le G-CSF mobilise donc les CSH hors de la moelle (Katayama et al. 2006). Les cellules gliales entourant les neurones ont aussi leur rôle à jouer. Les cellules non-myélinisées de Schwann viennent activer le TGF β latent de la moelle osseuse (Yamazaki et al. 2011). Sécrété par les macrophages présents dans la moelle (M. Zhao et al. 2014; Jiang et al. 2018), le TGF β régule également la quiescence des CSH (Jiang et al. 2018). Cependant, la voie TGF β n'est que peu activée dans les CSH de la moelle osseuse (Yamazaki et al. 2011). L'explication apportée serait que les cellules gliales permettent d'activer le TGF β sécrété dans la MEC et réguleraient spatialement la quiescence des CSH (Yamazaki et al. 2011).

D'autres facteurs physiques participent à la régulation des CSH dans leur niche.

Régulation par l'environnement physique :

Hypoxie :

Originellement, la niche ostéoblastique est moins perfusée que sa consœur périvasculaire, malgré la présence d'artérioles. Il existe alors un gradient d'hypoxie dans la moelle. De manière intéressante, certaines propriétés des CSH démontrent leur évolution dans un milieu hypoxique : elles expriment HIF-1, habituellement dégradé lors d'un niveau d'oxygène supérieur à 5%, ou incorporent Pimo (pimonidazole) marqueur important de l'hypoxie. La surexpression de HIF-1 promeut la greffe et le recrutement des CSH (Speth et al. 2014), celles répondantes au CXCL12 exprimés par les cellules endothéliales en milieu hypoxique (Ceradini et al. 2004). Cependant, une étude de Nombela-Arrieta et al. (2013) chez la souris démontrent que les CSH présenteraient des propriétés liées à l'hypoxie. Or, leur étude par imagerie montre que les CSH sont localisées à côté des artérioles, et que des cellules Pimo+ et Pimo- partagent la même localisation et même milieu. Ceci suggère que la localisation n'est pas le facteur déterminant dans l'expression de ces propriétés hypoxiques, mais plutôt leur profil métabolique (Nombela-Arrieta et al. 2013).

Molécules d'adhésion

Par leur fonction même, les cellules hématopoïétiques, considérées et cultivées en suspension, sont de fait, étroitement en relation avec leur environnement, et expriment donc les récepteurs appropriés. Si l'on considère un leucocyte recruté sur un site d'inflammation : lors de sa mobilisation, il migrera le long de la paroi du vaisseau sanguin, jusqu'à s'extravaser pour rejoindre le tissu inflammé (Chae et al. 2018). L'expression différentielle de ces protéines d'adhésion changera donc l'infiltration immunitaire et le recrutement des leucocytes (Chae et al. 2018). Pour ces propriétés, les sélectines sont cruciales pour permettre ce roulement sur l'endothélium ; elles s'associent et se dissocient avec leur ligand, présent sur d'autres types cellulaires, de façon très rapide (Kulkarni et Kale 2020). D'autres récepteurs sont exprimés comme Notch, reliant les CSH aux ostéoblastes, la N-Cadhérine et l'éphrine qui permettraient l'interaction avec les CSM (Kulkarni et Kale 2020). Pour son interaction avec la MEC, les CSH expriment CD44 se liant particulièrement au hyaluronan. Et évidemment, on retrouvera nombre d'intégrines (Kulkarni et Kale 2020; Gruszka et al. 2019) à la surface des CSH qui permettront non seulement de sentir la rigidité du substrat et mais aussi de médier l'adhésion, en particulier les paires $\alpha4\beta1$, $\alpha5\beta1$ et $\alphaL\beta2$ (Kulkarni et Kale 2020).

Rigidité :

La moelle osseuse est donc composée de différentes niches, et celles-ci n'ont pas la même rigidité.

Il est communément admis que la moelle osseuse constitue une matrice allant de 0.3kPa à 30kPa, selon la composition de celle-ci. Jansen et al. (2015) observent des rigidités différentes au sein de la moelle osseuse de porcs, suggérant que le tissu présente une hétérogénéité d'élasticité et de viscosité. Choi et al. (2017) démontrent que les cellules souches sont sensibles à cette rigidité. La composition de la matrice autant que sa rigidité entraînent des

préférences de différenciation des CSH. Utilisant des cellules souches murines, ils les ont cultivés sur des substrats de différentes rigidités (3,7kPa, 44kPa, et sur du verre de l'ordre du GPa) et tapissés de matrices variées (collagène, fibronectine, laminine). Ils observent que le collagène pousse à la différenciation érythrocytaires ou macrocytaire, surtout sur substrats rigides (Choi et Harley 2017). La fibronectine augmente le nombre de colonies macrocytaires sur tous types de rigidités et le nombre de colonies mégacaryocytaires, augmentées avec la rigidité. La laminine favorise uniquement la différenciation érythrocytaire, encore une fois, augmentée avec la rigidité. Choi et al. (2017) démontrent donc l'importance de composantes de l'environnement telles que la rigidité ou la composition de la matrice lors de la différenciation hématopoïétique.

Ces deux constituants font partie de la même pièce, sachant que l'organisation des protéines de la MEC permet de moduler la rigidité de celle-ci. La répartition des différentes protéines de la MEC au travers des différentes niches est, elle, dépendante en partie des cellules qui les sécrètent.

Cette rigidité provient non seulement de la rigidité intrinsèque des cellules composants les niches, mais aussi des protéines de la MEC produites par elles, ou présentes dans les niches.

MEC :

De très nombreuses protéines de la MEC sont présentes dans la moelle osseuse, régulant diverses propriétés comme l'adhésion, la prolifération, la différenciation, la quiescence, le vieillissement et le retour (« homing ») des cellules dans la niche (Lee-Thedieck, Schertl, et Klein 2022). On retrouve différentes classes de protéines, des glycoprotéines comme les laminines, la fibronectine ou les tenascines, les collagènes dont le collagène I et III, et les protéoglycanes dont le syndecan et le perlecan et le hyaluronan.

Les laminines sont réparties au niveau des membranes basales, et sont sécrétées par les cellules endothéliales, c'est pourquoi on retrouvera une majorité de laminines dans la niche périvasculaire (Lee-Thedieck, Schertl, et Klein 2022). Elles sont formées par trois chaînes α , β , γ qui s'assemblent pour former au moins 16 différents isoformes. Les laminines (LM) contenant de l' $\alpha 4$ ou $\alpha 5$, se situent au niveau de la membrane basale des vaisseaux (Sorokin et al. 1997; Susek et al. 2018) et soutiennent l'adhérence des cellules hématopoïétiques (Gu et al. 1999). LM-4 permet la prolifération des cellules souches et des progéniteurs hématopoïétiques, de même que leur capacité de homing dans la moelle osseuse après transplantation (Susek et al. 2018). Cai et al. (2022) montrent aussi l'importance des laminines contenant de l' $\alpha 4$. Sa délétion dans le modèle murin réduit les capacités de régénération du système hématopoïétique, inhibant la différenciation et maturation des progéniteurs myéloïdes. En absence de LM-4, ils observent aussi un effet pro-leucémique, avec l'augmentation de la prolifération des cellules leucémiques et de leur chimiorésistance (Cai et al. 2022). Godavarthy et al. (2021) utilisant des cellules primaires humaines démontrent que leur prolifération et leur migration est réduite lorsque l'expression du récepteur à la laminine

$\alpha 5$ est inhibé. Les laminines contrôlent donc la prolifération et la migration dans la moelle osseuse.

La fibronectine est un autre facteur important. Composante principale de la MEC, elle permet aussi l'interaction avec d'autres protéines de la MEC, comme les protéoglycanes, l'héparane ou les collagènes, permettant la création de larges unités de matrice (Lee-Thedieck, Schertl, et Klein 2022). Elle peut être sécrétée à la fois par les mégacaryocytes (Malara et al. 2014) ou bien les CSM directement (Wagner et al. 2005). Elle est connue pour réguler la différenciation en érythrocytes, même s'il semblerait que moduler la rigidité change cette préférence (Choi et Harley 2017). De plus, sa présence dans l'ensemble de la niche, semble lui permettre une variété de régulation cellulaire et c'est pourquoi il est difficile de discerner précisément ses rôles (Wirth et al. 2020). Cependant, ses récepteurs et elle-même ont été impliqués positivement dans la migration, la rétention des cellules souches et dans la différenciation. A l'inverse, il semblerait que l'interaction des intégrines ou du CD44 avec la fibronectine réduise la prolifération des CSH (Wirth et al. 2020).

Dans la famille des collagènes, les collagènes I et VI sont les plus sécrétés par les CSM et adipocytes (Marinkovic et al. 2020), régulant la différenciation des CSM. Le collagène I est aussi sécrété par les OB, tapissant la niche ostéoblastique (Blair et al. 2017), mais aussi certains vaisseaux (Ben Shoham et al. 2016). La déposition du collagène sur les vaisseaux précède celle de la niche, suggérant que les cellules endothéliales régulent indirectement la structure de la moelle osseuse (Ben Shoham et al. 2016). Le collagène I inhibe la formation des plaquettes et des ostéoclastes (Lee-Thedieck, Schertl, et Klein 2022). Il promeut moins l'adhésion des cellules hématopoïétiques contrairement au collagène VI *in vitro* (Klein et al. 1995), à l'exception des progéniteurs érythroïdes et myéloïdes (Koenigsmann et al. 1992).

Dérégulation de la moelle :

La régulation de l'hématopoïèse est donc finement régulée autant par des facteurs solubles, que des facteurs physiques à la fois cellulaires ou extra-cellulaires. Ces propriétés sont impactées par le vieillissement, et leurs dérégulations peuvent aussi être à l'origine de cancers, dont les leucémies (Lazzari et Butler 2018; de Haan et Lazare 2018).

Vieillesse :

Pour commencer, avec l'âge, les CSH ont des capacités d'autorenouveau et de reconstruction limitées (Lazzari et Butler 2018). Non seulement à cause de la fatigue du système hématopoïétique global, mais aussi par un biais de différenciation, amenant les CSH à s'engager préférentiellement dans la lignée myéloïde, délaissant le compartiment lymphoïde (Pang et al. 2011). Ces changements peuvent venir de la cellule elle-même. Il a été observé que la transcription de certains gènes, en particulier liés à la réparation et la réplication de l'ADN, de même que du maintien de l'intégrité et du remodelage de la chromatine était diminuée (Chambers et al. 2007). A l'inverse, ceux promouvant la

prolifération des CSH, ou associés au stress cellulaire (Flach et al. 2014), et à l'inflammation étaient augmentés (Chambers et al. 2007).

En outre, l'entièreté de la moelle osseuse vieillit et le reste des cellules qui la compose avec elle, impactant la régulation extrinsèque des CSH. Le taux d'ostéopontine se réduit, perturbant la polarité et potentiel de greffes des CSH murines (Guidi et al. 2017). Un manque d'innervation dans la moelle osseuse entraîne un vieillissement prématuré des CSH (Maryanovich et al. 2018), et à l'inverse, la co-culture de cellules endothéliales murines « jeunes » permet la réjuvenation de « vieilles » CSH murines (Poulos et al. 2017). Le vieillissement des cellules endothéliales entraîne une réduction de la sécrétion de Notch, HIF-1, et de SCF, ce qui non seulement réduira le nombre de vaisseaux de type H, mais aussi une perte du maintien des CSH (Kusumbe et al. 2016). Les CSM sont aussi dérégulées, se différenciant principalement en adipocytes, et la perte des ostéoblastes impactera le maintien et la quiescence des CSH de la niche (Moerman et al. 2004).

Hématopoïèse clonale (HC) :

Ces altérations du micro-environnement permettent le développement d'hématopoïèse clonale. Malgré toutes les protections possibles par le micro-environnement, les CSH et progéniteurs peuvent finir par acquérir des mutations, dues au vieillissement ou à l'exposition de mutagènes environnementaux, au stress cellulaire ou autres. L'hématopoïèse clonale est donc la transmission de ce patrimoine génétique muté par les cellules immatures qui continuent de proliférer et de se différencier. L'expansion d'un clone contenant des mutations somatiques peut être la porte d'entrée pour multiples pathologies, dont les cancers sanguins, ou cardiovasculaires. En effet, les CSH acquièrent malgré tout, des mutations au cours du temps, certaines seront éliminées, d'autres sélectionnées, sur un temps long. C'est pourquoi, on observe une majorité de HC chez l'individu âgé (≈ 70 ans) (Challen et Goodell 2020). Le plus souvent, les mutations acquises augmentent les capacités de prolifération et d'autorenouveaulement, ou bien créent un effet synergique avec l'acquisition de deuxièmes voire de troisièmes mutations. Les domaines les plus touchés sont les régulateurs épigénétiques, les facteurs d'épissage et les gènes de réponses aux dommages de l'ADN (Challen et Goodell 2020). Par exemple, DNMT3A est le gène le plus fréquemment retrouvé muté dans l'HC, il encode une méthyltransférase responsable de la méthylation de l'ADN pendant le développement et l'engagement des cellules souches (Challen et Goodell 2020). Les mutations *dnmt3a*, fortement présentes chez les patients leucémiques, et peuvent être associées avec des mutations touchant *FLT3*, aussi bien dans les leucémies lymphoïdes que myéloïdes. Dans ce dernier cas, elles sont considérées comme facteur de mauvais pronostique (Blau et al. 2016).

De manière intéressante, la sélection d'un clone ne serait pas seulement reliée à sa fitness dans la moelle, l'environnement lui-même aurait son importance (J. N. Cooper et Young 2017). Alors que les mutations sur *DNMT3* sont principalement retrouvées dans l'HC, on retrouve principalement des mutations sur *TP53* ou *TET2* dans les hémopathies malignes non-myéloïdes (J. N. Cooper et Young 2017). Cela suggère que même si *DNMT3* est initiateur de

l'HC, il n'est pas conservé lors de l'expansion des clones dans le développement des hémopathies. En effet, exclu de la sélection par l'environnement, il ne serait donc pas nécessaire dans l'adaptation du clone à cette niche. Cet impact de l'environnement dans l'hétérogénéité clonale est aussi présente lors de syndrome myélodysplasique ou de LAM secondaire à un traitement chimiothérapique (Wong et al. 2015; Gillis et al. 2017). Avec l'âge, l'acquisition d'une mutation hétérozygote sur TP53 est fréquente. Cependant, l'expansion du clone TP53+/- est possible chez un patient âgé, traité par chimiothérapie pour un cancer solide, provoquant le développement de syndromes myélodysplasiques ou de LAM secondaires (Wong et al. 2015). Cela suggère que la chimiothérapie est importante dans la sélection de ce clone tout comme l'environnement en général. L'âge ou bien l'auto-immunité peuvent aussi être des facteurs de sélection environnementaux (J. N. Cooper et Young 2017).

Ainsi, nous avons pu entrevoir la régulation fine de l'hématopoïèse au sein de la moelle osseuse, par différents facteurs, et ceux-ci sont impactés par le vieillissement, pouvant provoquer par la suite pathologies et autres cancers dont les leucémies.

Chapitre 4 - Les Leucémies Aigües Myéloïdes :

Définition :

La Leucémie Aiguë Myéloïde (LAM) est la leucémie la plus fréquente chez l'adulte. Plus de 20 000 nouvelles personnes ont développé une LAM en 2022 aux Etats-Unis. En France, en 2018, la prévalence était de 3 428 cas pour un taux d'incidence de 3,1 pour 100 000 chez l'homme et 2,3 pour 100 000 chez la femme. Les patients ont un âge médian de 72 ans et leur survie moyenne à 5 ans est estimée à 30%. Dépendante de l'âge du patient, la survie à 5 ans passe de 69% pour les sujets de 30 ans à 6% pour ceux de 80 ans (SPF 2021).

La LAM est une hémopathie maligne, due à un blocage de différenciation entraînant la prolifération anormale de blastes myéloïdes immatures dans la moelle osseuse et le sang périphérique (**Figure 17**). Elle entraîne ainsi des symptômes due à ce défaut d'hématopoïèse tels que de la fièvre, des troubles de la coagulation (ecchymoses, saignements), de l'essoufflement, de la fatigue. Le diagnostic commence par une prise de sang dans laquelle sont comptés le nombre et le type de leucocytes présents, avant de valider par un myélogramme l'envahissement de la moelle osseuse et par quel type cellulaire.

La LAM est très hétérogène non seulement moléculairement, car on retrouvera multiples profils mutationnels différents entre deux patients, mais aussi biologiques, où toute la pyramide de cellules sanguines immatures peut être touchée (**Figure 17**). La LAM rejoint l'idée de l'hématopoïèse clonale, résultant de l'expansion d'un ou de plusieurs clones dérégulés, prenant le dessus sur l'hématopoïèse normale.

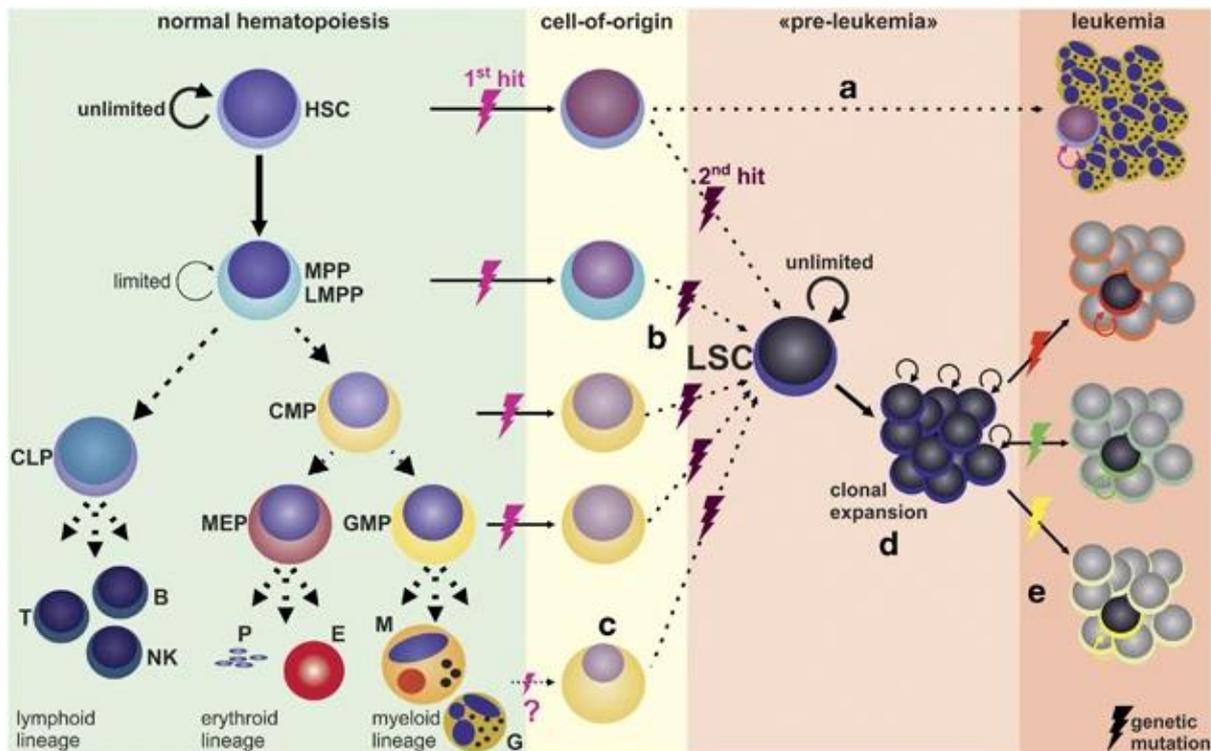


Figure 17 : Leucémie Aiguë Myéloïde par Riether, Schürch, et Ochsenbein (2015). Les mutations entraînant le blocage de différenciation peuvent toucher toutes les cellules durant l'hématopoïèse. Leurs propriétés d'autorenouveau permettront l'expansion des clones leucémiques, et l'acquisition de nouvelles mutations.
 B, B cell; E, erythrocyte; G, granulocyte; NK, natural killer cell; M, monocyte; MEP, megakaryocyte-erythrocyte progenitor; P, platelet; T, T cell.

Due à cette hétérogénéité, plusieurs classifications ont vu le jour : la classification FAB (French-American-British) concernant le type de cellules en expansion, moins utilisée de nos jours, ou bien la classification ELN (European Leukemia Network) se basant plus sur les profils moléculaires et génétiques.

Classifications :

En 1976, la classification FAB voit le jour. Elle permet de classer différentes leucémies au vu de leur stade de différenciation grâce à des caractéristiques morphologiques et cytochimiques. Il existe 8 catégories pour les leucémies myéloïdes (M0-M8) des plus immatures aux plus matures (Bennett et al. 1976; Segeren et van 't Veer 1996).

Cependant, grâce au développement d'outils moléculaires et génétiques, une classification plus fine est apparue, la classification ELN. Après plusieurs mises à jour, sa dernière version date de 2022, et permet de relier des profils moléculaires et génétiques avec un pronostic vital (Döhner et al. 2022). Elle met en relation le pourcentage de blastes, les mutations et aberrations chromosomiques retrouvées avec un pronostic possible (Döhner et al. 2022) (**Figure 15**), afin d'établir une ligne thérapeutique adaptée.

Risk category†	Genetic abnormality
Favorable	<ul style="list-style-type: none"> • t(8;21)(q22;q22.1)/RUNX1::RUNX1T1†,‡ • inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB::MYH11†,‡ • Mutated NPM1†,§ without FLT3-ITD • bZIP in-frame mutated CEBPA
Intermediate	<ul style="list-style-type: none"> • Mutated NPM1†,§ with FLT3-ITD • Wild-type NPM1 with FLT3-ITD (without adverse-risk genetic lesions) • t(9;11)(p21.3;q23.3)/MLLT3::KMT2A†,¶ • Cytogenetic and/or molecular abnormalities not classified as favorable or adverse
Adverse	<ul style="list-style-type: none"> • t(6;9)(p23.3;q34.1)/DEK::NUP214 • t(v;11q23.3)/KMT2A-rearranged# • t(9;22)(q34.1;q11.2)/BCR::ABL1 • t(8;16)(p11.2;p13.3)/KAT6A::CREBBP • inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2)/GATA2, MECOM(EVI1) • t(3q26.2;v)/MECOM(EVI1)-rearranged • -5 or del(5q); -7; -17/abn(17p) • Complex karyotype,** monosomal karyotype†† • Mutated ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, and/or ZRSR2‡‡ • Mutated TP53^a

Figure 18 : Classification ELN 2022 par Döhner et al. (2022). Selon la caractérisation moléculaire et génétique des clones leucémiques retrouvés au diagnostic, le risque peut être évalué et les traitements adaptés.

Ce sont donc en réalité à *des* LAM auxquelles nous faisons face, chacune avec ses caractéristiques et évolutions, même si par souci de facilité, je conserverai son appellation au singulier.

Etiologie :

La LAM est donc une maladie très diverse, de même que ses causes (**Figure 19**). L'acquisition de mutations étant l'un des facteurs principaux, certaines maladies génétiques génèrent un terrain favorable à développer une LAM comme la trisomie 21 ou le syndrome de Klinefelter. Des études mettent en causes l'exposition à des agents physiques ou chimiques comme le benzène ou la cigarette (Deschler et Lübbert 2006). De manière intéressante, la LAM peut aussi être la prochaine étape d'autres maladies : elle peut survenir après exposition à la chimiothérapie pour un autre cancer, comme le sein, on parle alors de LAM secondaires dues aux thérapies. Elle peut aussi être la version acutisée d'un syndrome myélodysplasique (SMD) ou d'une leucémie myéloïde chronique (LMC) (Deschler et Lübbert 2006).

Selected Risk Factors Associated With Acute Myeloid Leukemia	
Genetic disorders	Down syndrome Klinefelter syndrome Patau syndrome Ataxia telangiectasia Shwachman syndrome Kostman syndrome Neurofibromatosis Fanconi anemia Li-Fraumeni syndrome
Physical and chemical exposures	Benzene Drugs such as pipobroman Pesticides Cigarette smoking Embalming fluids Herbicides
Radiation exposure	Nontherapeutic, therapeutic radiation
Chemotherapy	Alkylating agents Topoisomerase-II inhibitors Anthracyclines Taxanes

Figure 19 : Etiologie des LAM par Deschler et Lübbert (2006).

Cependant, la majorité des cas proviennent de mutations *de novo*, entraînant donc la prolifération et la survie excessive des cellules, leur différenciation incomplète, et un métabolisme différentiel.

Profils mutationnels :

L'apparition de mutations est d'origine multiple, et leur accumulation peut entraîner l'initiation tumorale. Pour la LAM, on discerne cette accumulation dans deux voire trois classes de mutations différentes.

Mutations de classe I :

Elles touchent principalement des récepteurs de surface, activant constitutivement des voies touchant à la prolifération et la survie des progéniteurs hématopoïétiques comme FLT3-ITD, N-Ras et SCFR.

FLT3, normalement récepteur d'un ligand activant prolifération, survie et différenciation dans l'hématopoïèse normale, est présent à 60-92% dans les LAM et est muté dans 30% des cas (J. Yu et al. 2020). Deux mutations différentes sont retrouvées : soit la duplication d'une partie du gène *FLT3-ITD* (intern duplication tandem) ou une mutation locale *FLT3-TKD*. Dans le cas de la duplication, le pronostic est de risque intermédiaire (Döhner et al. 2022). Sa sévérité dépend des mutations qui le côtoie : le risque de rechute augmente s'il est accompagné de mutations touchant DNMT3A, IDH1/2 ou TET2 (J. Yu et al. 2020). De son côté, l'association de *FLT3-TKD* et de *NPM1* muté semble être de pronostic favorable (Courtney D. DiNardo et al. 2018). **RAS**, RhoGTPase contenant contenant 3 isoformes (N-, K-, H-RAS), contrôle la survie et la croissance cellulaire, et chaque isoforme peut être muté. Les mutations sur RAS représentent 15 à 50% des mutations rencontrées dans la LAM. Chez l'adulte, il semblerait que la mutation RAS seule ne change pas drastiquement la survie des patients, alors que la mutation N-RAS chez l'enfant serait beaucoup plus dramatique (Xin Liu et al. 2019). Correspondant à l'hypothèse de l'obtention de deux mutations dans les deux différentes classes pour initier la leucémogénèse, la mutation de RAS seule n'a pas d'impact majeure. **SCFR**, récepteur du SCF, important régulateur de la quiescence des cellules hématopoïétiques, est surtout représenté dans les LAM CBF (Core Binding Factor). La mutation sur le SCFR accélérerait la rechute, sans avoir d'impact sur la survie générale (Ayatollahi et al. 2017).

Mutations de type II :

Elles seront responsables du blocage de différenciation et d'apoptose dans les cellules leucémiques en touchant des facteurs de transcription.

Les mutations touchant **CEBP α** , facteur de transcription important dans la différenciation myéloïde, concernent 7 à 15% des patients LAM, et peuvent être présentes en N- et C-terminal de la protéine (J. Yu et al. 2020). De manière intéressante, la double mutation des deux allèles a un meilleur pronostic que les simples mutations mono-alléliques (H.-Y. Li et al. 2015). **RUNX1**, facteur de transcription régulant l'hématopoïèse définitive, est souvent retrouvé transloqué dans la LAM. Elle forme RUNX1-RUNX1T1, -MECOM ou encore RUNX1-CBFA2T3, bloquant la différenciation myéloïde (Gonzales et al. 2021). Les mutations RUNX1 (non-associées avec une translocation) plus présentes chez les sujets âgés, sont souvent corrélées avec un mauvais pronostic, car impliquées dans de la chimiorésistance (Gaidzik et al. 2016). **MLL** (Mixed Lineage Leukemia) sont associés à un mauvais pronostic (Issa et al. 2021), même si l'événement n'est pas suffisant pour initier la LAM (J. Yu et al. 2020). Il est retrouvé dans 3 à 11% des LAM *de novo*, plus fréquemment chez les patients avec des caryotypes normaux.

Mutations de classes III :

On touche ici à des régulateurs de l'épigénétique, que l'on retrouve à 40% dans les LAM. Cinq gènes, **DNMT3A**, **TET2**, **IDH1/2** et **ASXL1** sont généralement associés avec une mauvaise survie dans la LAM, même si elle n'est pas toujours significative (Al-Bulushi et al. 2022). Ils sont tout cinq des régulateurs de l'épigénétique dans la LAM. Les mutations touchant DNMT3A, ASXL1 et TET2 peuvent déjà être présentes en amont, lors de l'hématopoïèse clonale. **DNMT3A** est une enzyme méthyltransférase, avec un effet drastique sur la maladie lorsque mutée en R882 (J. Yu et al. 2020). Elle a un effet synergique avec IDH2 mutée, bloquant la différenciation par sécrétion de prostaglandine, et causant l'émergence d'un syndrome myélodysplasique chez la souris (Xiaotian Zhang et al. 2020). **IDH1/2** sont détectés chez 20% des patients et leur mutation entraîne à l'hyper-méthylation de certains gènes touchant à la différenciation ou la prolifération (J. Yu et al. 2020). **ASXL1** muté est surtout retrouvé chez les patients âgés. Son inhibition génétique chez la souris entraîne des dérégulations dans la différenciation, avec une amplification du compartiment myéloïde (J. Yu et al. 2020). Il est souvent accompagné de multiples mutations, dont RUNX1 et IDH2.

Autres mutations importantes :

En plus, de ces trois classes importantes, on retrouve d'autres types de mutations amplifiant la LAM. **TP53**, gène régulateur du cycle cellulaire et surtout présent chez les patients possédant un caryotype complexe, même s'il représente moins de 10% des patients *de novo*. Il est cependant associé à un mauvais pronostic, et peut aussi être impliqué dans la chimiorésistance (Kadia et al. 2016). **NPM1**, protéine chaperonne impliquée dans la biosynthèse des ribosomes, est retrouvée mutée dans 30% des LAM. En fonction de son association ou non avec celle de FLT3-ITD, le pronostic auquel il est associé passe de bon à intermédiaire (Döhner et al. 2022).

D'autres mutations concernant le **spliceosome** sont aussi importantes. Protéines permettant l'épissage des ARN, leurs mutations empêchent la bonne édition des transcrits. Apparaissant surtout dans les syndromes myélodysplasiques (SMP), elles sont conservées dans la LAM, notamment celles induites post traitement (Taylor et Lee 2019). Parmi les protéines du spliceosome, SF3B1, SRFS2, U2AF1 et ZRSR2 sont les plus mutées (Yoshida et al. 2011). Dans le cas de **SF3B1**, il est corrélé avec un bon diagnostic dans les SMP (Huber et al. 2022), mais son rôle est encore controversé (Z. Zhou et al. 2020). Dans la LAM, cette mutation concerne 6% des patients et est retrouvée chez des patients à mauvais pronostic (Huber et al. 2022). **SRFS2** est, elle, retrouvée chez 13 à 25% des patients, principalement chez les personnes les plus âgées, plus fréquemment les hommes, et ayant une LAM secondaire aux traitements (Grimm et al. 2021). SRFS2 est donc lié à des patients ayant un mauvais pronostic (Grimm et al. 2021). Cependant, la mutation SRSF2 ne semble pas être elle-même responsable du mauvais pronostic, la survie des patients n'étant pas différentes chez une cohorte de patients chinois (J. Yang et al. 2016). A l'inverse, les patients doublement mutés pour ASXL1 et SRSF2 étaient plus à risque que ceux n'ayant qu'une des deux mutations (Richardson et al. 2021).

Cellules-Souches Leucémiques :

En plus de l'aspect mutationnel, le statut de la cellule dans la hiérarchie et le continuum de différenciation est important. Etant hétérogène, si le clone amplifié est très immature, il est d'autant plus à même de générer d'autres clones, immatures ou non, pour le maintien de la LAM. Cela rejoint la théorie des cellules souches cancéreuses (CSC) et leur répartition au sein de la tumeur, ou de la moelle dans le cas de la LAM. Testant deux hypothèses différentes, Wang et al. (2005) démontrent que la répartition des Cellules Souches Leucémiques (CSL) ne se fait pas de manière aléatoire. En effet, le modèle aléatoire entraîne une répartition assez homogène des cellules présentes dans la tumeur, si l'on parle de tumeurs solides, dont une faible proportion serait des cellules souches (J. C. Y. Wang et Dick 2005) (**Figure 20**). De plus, selon ce modèle, l'activité pro-tumorale serait donnée à toutes les populations cellulaires et ne pourrait pas être enrichie. A l'inverse, la deuxième hypothèse implique que les populations au sein de la tumeur sont hétérogènes mais seule une rare sous-population, constituée de cellules souches cancéreuses, aurait des capacités d'initiation tumorale (J. C. Y. Wang et Dick 2005). Dans ce cas-ci, il est important de cibler cette population particulière pour éviter les rechutes, et surtout, elle peut être isolée. C'est le cas dans la LAM où plusieurs études permettent l'isolation de CSL qui survivent au travers des greffes sériées, provoquant de nouveau une leucémie chez des souris (Lapidot et al. 1994; Bonnet et Dick 1997).

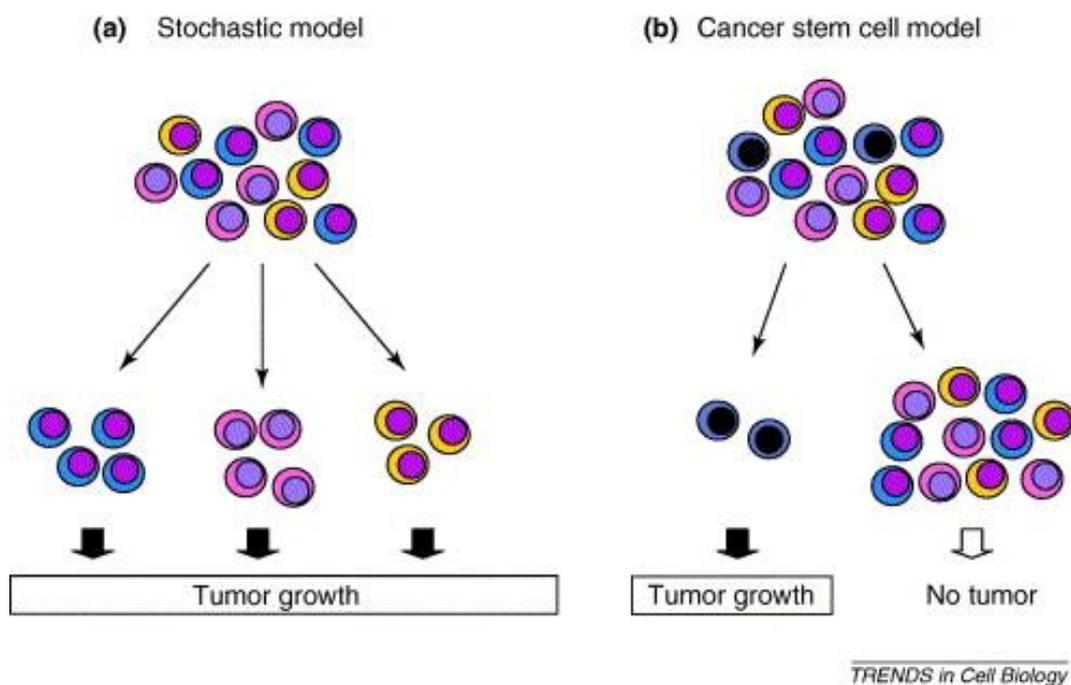


Figure 20 : Modèles des Cellules Souches Cancéreuses par J. C. Y. Wang et Dick (2005). (a) Toutes les cellules ont une capacité faible de prolifération et de formation de nouvelles tumeurs. (b) Seulement certaines cellules au sein de la tumeur forment de nouvelles tumeurs, elles sont fonctionnellement distinctes des autres cellules.

Les CSL ressemblent aux CSH par plusieurs aspects : certains de leurs marqueurs sont conservés (CD34+CD38-), ainsi que leur capacité de repopulation de la moelle et d'autorenouveaulement. Cependant, les CSL ont des expressions de marqueurs différentes ou expriment des marqueurs spécifiques, que l'on peut cibler par la suite. Les cellules souches et progéniteurs leucémiques expriment CD33 et CD123, autant au diagnostic qu'après rechute (Haubner et al. 2019). L'expression du CD123 n'est pas spécifique aux cellules leucémiques, mais la différence d'expression entre cellules normales et leucémiques fait de lui un bon marqueur (Testa et al. 2002) et une cible importante dans la lutte contre la LAM (Shi et al. 2019). Le CD47 est aussi exprimé dans la population totale des cellules LAM (Ponce et al. 2017). Une fois exprimé, il envoie un signal aux cellules immunitaires de « soi » qui empêche ceux-ci de venir détruire la cellule. Sur les cellules cancéreuses, il sert donc comme un leurre et permet le camouflage lors de la surveillance immunitaire, son inhibition permet en effet le retour de la phagocytose des cellules cancéreuses chez la souris (Majeti et al. 2009). Sur les cellules souches en particulier, on retrouve en plus TIM3, promouvant l'autorenouveaulement des CSL (Haubner et al. 2019). En plus de cela, les cellules leucémiques immatures CD34+CD38- expriment aussi CD45RA (Kersten et al. 2016), à l'inverse des cellules normales pour qui CD45RA est un marqueur de l'engagement des progéniteurs. Des thérapies ciblées contre certains de ces marqueurs ont été développées pour limiter les rechutes, en combinaison avec une thérapie conventionnelle.

Thérapies :

En effet, avec la forte hétérogénéité cellulaire de la LAM, différents traitements existent. En première ligne se trouve communément un traitement par chimiothérapie, complété ou non par des thérapies ciblées en fonction de la caractérisation moléculaire des clones. Une autre solution thérapeutique est la greffe de moelle osseuse.

Traitement par chimiothérapies :

Depuis longtemps, la première ligne est donc la chimiothérapie : composée d'une combinaison de Cytarabine (Aracytidine/Ara-C) et d'anthracyclines. Le premier est un analogue des pyrimidines et viendra s'intégrer dans l'ADN dans les cellules en cours de réplication, durant la phase S, ce qui inhibera leur prolifération et perturbera les topoisomérases (Hospira 2022). Les anthracyclines viendront aussi s'intégrer dans l'ADN pour provoquer sa fragmentation et inhiber sa réparation. Plusieurs d'entre-elles sont utilisées dans la LAM dont la Daunorubicine, l'Epirubicine, la Doxorubicine et l'Idarubicine (Weiss 1992). Ces deux différents traitements ont donc pour cible les cellules ayant un fort taux de prolifération. Le protocole de soin est généralement constitué de différentes phases : une phase d'induction, de consolidation puis de maintenance afin d'optimiser l'éradication des clones leucémiques.

Phase d'induction :

Cette première phase a pour but de réduire le nombre de blastes dans le sang afin d'atteindre la rémission complète de la moelle osseuse avec moins de 5% de blastes, plus de 1000

neutrophiles et plus de 100 000 plaquettes (Cheson et al. 2003). Pour cette phase, on parle aussi de régime « 3+7 » signifiant 3 jours d'anthracyclines et 7 jours de traitements par Ara-C en intraveineuse quotidienne, et ce pendant 40 jours (Kantarjian 2016). Des études ont comparé et essayé d'optimiser les doses d'Ara-C ou d'anthracyclines afin de pouvoir soigner sujets jeunes ou âgés (Luger 2017). Il semblerait que l'augmentation des doses puisse accélérer la réponse, mais non pas le temps de rémission. Seulement le groupe de moins de 60 ans a pu bénéficier de l'augmentation de Daunorubicine (Fernandez et al. 2009). Concernant les patients de plus de 60 ans, ils sont traités par agents hypométhylants (ex. Vidaza), mais la survie ne s'en trouve pas forcément améliorée (Quintás-Cardama et al. 2012). Le traitement des sujets âgés reste donc problématique avec un fort taux de rechute.

Phase de consolidation :

Lors de la phase de consolidation, l'objectif est de maintenir la rémission pour éviter la rechute. Elle se compose des mêmes traitements qu'en phase d'induction mais les doses peuvent être augmentées. Pour les patients les plus jeunes, des traitements plus dosés de plus courte durée permettent un allongement du temps avant rechute (Weick et al. 1996).

Post induction, la greffe autologue (par les cellules saines du patient lui-même) peut être considérée si le pronostic du patient est intermédiaire ou mauvais. La greffe allogénique (grâce à un donneur) sera préférable s'il reste au patient des cellules avec des lésions après les phases d'induction/consolidation, suggérant un risque de rechute important. Dans les deux cas, les patients sont irradiés pour détruire la moelle osseuse pathologique et sont greffés avec les cellules du donneur, ce qui entraînera la formation d'un nouveau système hématopoïétique. Une fois encore, les greffes sont proposées aux sujets jeunes, plus aptes à supporter l'entièreté du protocole et d'y répondre favorablement (Yanada et al. 2004). Dans les cas d'un mauvais pronostic, l'avantage de la greffe vis-à-vis d'une chimiothérapie à fortes doses n'a pas été démontré (Usuki et al. 2012).

Thérapies ciblées :

Dès lors que l'analyse moléculaire a été effectuée, le patient peut avoir accès à des traitements ciblés. Que ce soient des anticorps monoclonaux contre des marqueurs de surface ou des traitements chimiques contre certaines mutations, ces molécules sont en plein essor pour améliorer la survie du patient.

Parmi les anticorps monoclonaux, il existe le Gemtuzunab ozogamicin (GO), spécifique au CD33 et qui est couplé à un composant cytotoxique (ozogamicin). Son addition lors de la phase de consolidation peut être un apport pour la survie de patients présentant des mutations dans le CBF ou ayant un risque intermédiaire (Luger 2017). De la même manière, a été développé un anticorps contre le CD123, le flotetuzumab (Shi et al. 2019). Puis ont été développés des traitements oraux ou intraveineux contre certains récepteurs, comme la midostaurine ou le gilteritinib contre FLT3-ITD. D'autres toucheront des mutations comme celles de IDH1/2, ou des voies de signalisations dont Hedgehog (Kayser et Levis 2022).

Une autre molécule dont l'utilisation est croissante depuis quelques années est le Venetoclax. Molécule inhibant la protéine anti-apoptotique Bcl2, il est utilisé de plus en plus tôt dans la prise en charge du patient. Il est surtout adressé aux patients âgés, en combinaison avec des agents hypométhylants (Vidaza) (C. D. DiNardo et al. 2020) ou des faibles doses d'Ara-C (A. H. Wei et al. 2019). Cependant, des rapports notent déjà l'apparition de résistance à cette molécule, via l'acquisition d'une mutation sur p53 (C. D. DiNardo et al. 2020).

Ainsi, post induction, plusieurs axes de traitement s'offrent aux patients, que ce soit la greffe ou bien la consolidation par chimiothérapies, en combinaison ou non avec des thérapies plus ciblées. Malgré cela, le nombre de rechute dû à un fort taux de résistance aux traitements reste important.

Chimiorésistance à l'Ara-C :

Pour résister au stress induit par l'Ara-C, les cellules évoluent et acquièrent différents systèmes de résistance.

L'Ara-C est donc un analogue des pyrimidines. Il doit cependant être transformé avant effet, que ce soit pour réussir à entrer dans la cellule et être phosphorylé, puis l'ADN doit s'ouvrir pour permettre son intégration dans la double hélice. Ces processus impliquent différents gènes respectivement *hENT1* (human equilibrative nucleoside transporter1), *dCK* (Deoxycytidine kinase), et la *TopoII* (topoisomérase). Il semblerait que les cellules résistantes voient l'expression de ces gènes réduits afin de se protéger de la chimiothérapie (Kulsoom, Shamsi, et Afsar 2018).

D'autres mécanismes de chimiorésistance sont souvent reliés aux capacités de protection des cellules souches leucémiques. Afin d'éviter l'import de la molécule, des protéines d'efflux sont exprimées dans les cellules, comme les transporteurs ABC (Megías-Vericat et al. 2022). Ces transporteurs sont régulièrement impliqués dans l'efflux de drogues dans plusieurs cancers. Pour sa sortie pourtant, l'Ara-C utilisera préférentiellement MRP7 et MRP8 (Multidrug Resistance Protein) traduites depuis *abcc10* et *abcc11* (Y. Guo et al. 2009). Néanmoins, il semblerait que ce ne soit pas les seules à être impliquées. Lewuillon et al. (2022) démontre l'importance de ABCB1 dans la résistance à l'Ara-C. Les cellules exprimant fortement ABCB1 et ayant des propriétés souches médient la résistance grâce à la surexpression de ORAI1, protéine membranaire permettant l'entrée de calcium et promouvant la prolifération (Lewuillon et al. 2022).

Dans d'autres cas, la CSL essaie de rester en quiescence, cachée dans la niche endostéale (Ishikawa et al. 2007). L'expression de mi-RNA ou l'activation de certaines voies dont PI3K/Akt permettent leur maintien en quiescence (van Gils, Denkers, et Smit 2021). Aussi, il a été démontré des dérégulations dans l'épigénétique ou bien dans le métabolisme. Certains gènes sont hypométhylés, comme *LSD1*, ce qui permet l'arrêt de différenciation et l'augmentation de l'autorenouveau, et des inhibiteurs sont en cours de phase clinique.

Micro-environnement dans la LAM :

En plus de ces mécanismes de résistance intrinsèque, la cellule leucémique reste en interaction avec l'environnement médullaire. Cette interaction peut aussi promouvoir la résistance de la cellule. En effet, les CSL prennent la place des CSH saines pour profiter de la protection des niches médullaires. Les cytokines régulant l'hématopoïèse normale sont récupérées par les CSL contribuant à la chimiorésistance, comme le CXCL12 (Anderson et al. 2022; Viñado et al. 2022) ou le TGF β . En effet, l'inhibition de ces cytokines permet la re-sensibilisation des cellules au traitement (Nervi et al. 2009; Tabe et al. 2013). Les CSL remodelent aussi le reste du micro-environnement afin de créer un environnement qui est d'autant plus favorable à leur maintien, et permissif au développement des leucémies (**Figure 21**).

Changements mécaniques :

On observe tout d'abord des perturbations au niveau de la matrice elle-même, et de sa rigidité. Les cellules leucémiques et hématopoïétiques partagent des mécanorécepteurs communs, dont les intégrines, mais leurs expressions peuvent changer. En effet, les CSL ont une expression plus importante des intégrines $\beta 1\alpha 1$, $-\alpha 2$, $-\alpha 3$, $-\alpha 6$, et de CD98, co-récepteur des intégrines qui amplifie leur signalisation (Gruszka et al. 2019). Les CSL conservent néanmoins le reste des marqueurs d'adhésions des CSH comme les intégrines $\alpha 4\beta 1$ ou CD44 qui interagissent respectivement avec VCAM et les E-Sélectines présentes sur les cellules endothéliales. L'interaction des intégrines $\alpha 2\beta 1$ avec le collagène participe à la résistance aux anthracyclines par l'activation de la voie Rac1 (Naci et al. 2019). De même, l'engagement de l'intégrine $\alpha 4\beta 1$ des CSL est source de chimiorésistance chez la souris (Takuya Matsunaga et al. 2003). Cette interaction est retrouvée chez l'humain, ce qui activerait la signalisation NF- κ B afin de promouvoir des signaux de survie dans une coculture de CSM et de cellules leucémiques (Jacamo et al. 2014). C'est pourquoi, l'inhibition de cette paire d'intégrines semble aider à la re-sensibilisation des cellules résistantes (Layani-Bazar et al. 2014; T. Matsunaga et al. 2008). On retrouve le même effet protecteur de l'adhésion dans la Leucémie Myéloïde Chronique où les cellules résistantes persistent dans la moelle via leur interaction avec le stroma, entraînant leur quiescence (Jeanpierre et al. 2021).

Ces changements d'expression des intégrines dénotent un changement dans la composition de la MEC, comme la cellule s'adapte à son environnement. En effet, une fibrose apparaît dans un tiers des leucémies, tout sous-types confondus (A. Islam et al. 1984), même si plus présente dans les leucémies mégacaryotiques (Imbert, Nguyen, et Sultan 1992). Dans ce cas-ci, il a été observé des dépôts importants de collagène ou de réticuline qui viennent tapisser la moelle osseuse (Kuter et al. 2007). Cette fibrose de la moelle osseuse est un facteur de mauvais pronostic (Xia Zhang et al. 2022). En plus de cette rigidification des substrats, la pression intramédullaire augmente aussi (Petrakis et al. 1954). Ceci suggère que les cellules en sur-prolifération dans un espace clos et non-extensible comme l'os viennent se presser les unes aux autres et contre leur environnement.

Ainsi, la majorité des mécanorécepteurs des cellules saines est conservée sur les cellules leucémiques, et elles en expriment d'autres de manière plus spécifique. Certains, comme les intégrines $\alpha 4\beta 1$, sont impliqués dans la chimiorésistance. De plus, les forces physiques au sein de la moelle se modifient, avec une rigidification et un confinement plus important dans le compartiment leucémique.

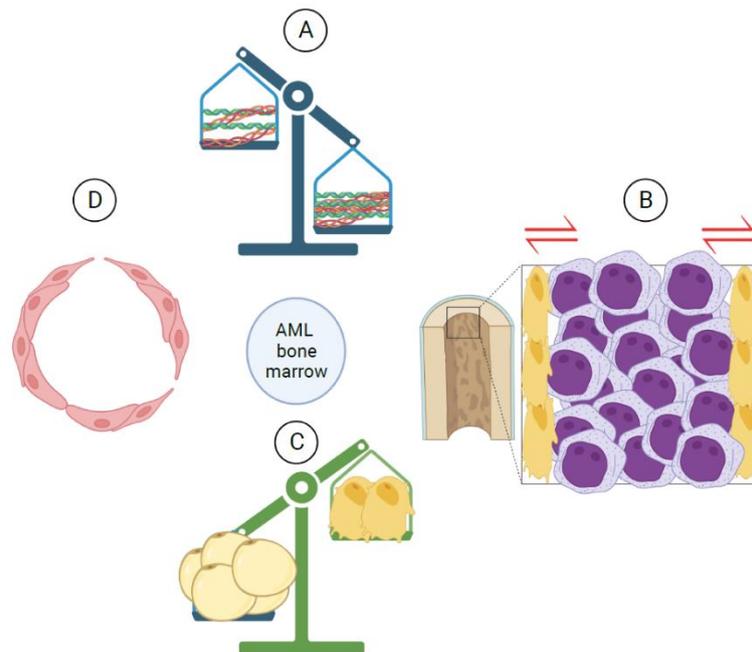


Figure 21 : Exemples de changements du micro-environnement médullaire dans la LAM.

La niche médullaire est remodelée par les cellules leucémiques. La matrice devient plus rigide grâce à dépôt important de collagène et de fibronectine (A). Les cellules en surprolifération dans un espace clos augmentent la pression dans la moelle osseuse (B). Les CSM se différencient préférentiellement en adipocytes qu'en ostéoblastes (C). La structure vasculaire est modifiée, on y observe notamment une perméabilisation des vaisseau (D).

Régulation cellulaire :

La modulation de l'environnement mécanique participe aussi à la dérégulation du reste des cellules de la niche, en parallèle de son remodelage par les cellules leucémiques.

Concentrons-nous tout d'abord sur le rôle des CSM. Grâce à leur capacité de différenciation en ostéoblastes ou en adipocytes, ou par la sécrétion de différents facteurs, elles font partie des régulateurs principaux de la moelle osseuse. Dans la LAM, diverses études démontrent un biais dans leur différenciation soit vers la différenciation ostéoblastique, ou bien adipocytaire. Battula et al. (2017) montrent que les CSM de patients LAM seraient plus à même de se différencier en ostéoblastes, voire d'être incapable de s'engager dans la différenciation adipocytaire (Battula et al. 2017). Ils décrivent aussi un dialogue entre les trois types

cellulaires : les CSL sécrétant des BMP pour permettre la différenciation ostéoblastique des CSM, puis les progéniteurs ostéoblastiques sécrétant du CTGF pour le maintien des CSL lors de leur greffe chez la souris (Battula et al. 2017). Azadniv et al (2020) à l'inverse observent que les CSM provenant de moelle osseuse de patients LAM montrent une prédisposition à la différenciation adipocytaire (Azadniv et al. 2020). De même, d'autres études démontrent l'augmentation de cette différenciation (Weickert et al. 2021) ou du moins une réduction de la différenciation ostéoblastique (Geyh et al. 2016). Ce dernier groupe souligne aussi une diminution de la prolifération des CSM de même qu'une dérégulation dans leur capacité à maintenir des CSH saines, au profit des cellules leucémiques (Geyh et al. 2016). De plus, les CSM seraient plus aptes à supporter la prolifération et la survie des cellules leucémiques (Corradi et al. 2018). Ces dernières interagissent aussi directement sur les adipocytes déjà présents dans la niche. Sous la régulation des cellules leucémiques, les adipocytes activent leur lipolyse, sécrétant des acides gras. Récupérés par les cellules leucémiques, ils promeuvent leur survie (Shafat et al. 2017). Ceci démontre l'intervention des cellules leucémiques et leurs capacités à remodeler la niche en leur faveur et en diminuant la maintenance des CSH, notamment via la dérégulation des CSM.

Un autre facteur important est la structure de l'endothélium. Le remodelage de la niche endostéale, en particulier des sinusoides, réduit la capacité de la niche à maintenir les CSH saines, et favorise le développement de la LAM chez la souris (Duarte et al. 2018). Le sauvetage du nombre de cellules endothéliales (CE) et de sinusoides a permis une meilleure réponse au traitement (Duarte et al. 2018). De même, Passaro et al. (2017) concluent un remodelage similaire (irrégularités dans l'organisation des sinusoides, réduction du diamètre et augmentation de la perméabilisation des vaisseaux) qui augmente le taux d'hypoxie au sein de la moelle (Passaro et al. 2017). Ces changements sont la conséquence de la sécrétion de NO (nitric oxide) par les cellules leucémiques. De manière intéressante, le NO pourrait être un facteur de mauvais pronostic aussi chez l'humain, comme il est aussi sécrété de manière importante. Et en effet, son ciblage permet d'améliorer la réponse des cellules à l'Ara-C (Passaro et al. 2017). D'autres facteurs tels que le VEGFA (Vascular Endothelial Growth Factor 1) promeuvent la leucémogénèse, en favorisant la survie des cellules leucémiques, tandis que l'inhibition de son récepteur sur les cellules leucémiques permet une meilleure réponse au traitement (Méndez-Ferrer et al. 2020).

Ainsi, le micro-environnement cellulaire est donc dérégulé par la présence de cellules leucémiques, modulant aussi les facteurs solubles sécrétés, notamment les BMP.

Bone Morphogenetic Proteins (BMP) :

Généralités de fonctionnement de la voie :

La voie BMP est à la fois une voie de mécanotransduction, et une voie répondant à des signaux ligand-récepteur (Kopf et al. 2014) (**Figure 22**). Premièrement découvertes d'utilité dans la formation osseuse d'où elles tirent leur nom, les BMP sont en réalité exprimées dans multiples tissus (cerveau, vaisseaux...) et impliquées dans la carcinogenèse (Bach, Park, et Lee 2017; Chapellier et al. 2015; Laperrousaz et al. 2013).

Les BMP font partie de la superfamille du TGF β et sont réparties en différents sous-groupes en fonction de leur arbre phylogénique : BMP2/4, BMP5 à BMP8, BMP9/10 et GDF 5/6/7 (Zylberstein 2018). Chaque ligand a une affinité particulière pour leur récepteur parmi lesquels on retrouve des 5 récepteurs de type I (ALK1, 2, 3, 5, 6) et 3 récepteurs de type II (BMPRII, ACTRIIA, ACTRIIB) (Khodr et al. 2021).

Une fois traduits, les ligands sont modifiés par le réticulum endoplasmique avant d'être sécrétés. Certains le sont sous forme de précurseur, ils devront alors être clivés afin d'être totalement activés. C'est le cas de BMP2 et BMP4, structurellement homologues, qui sont clivés par la Furine, protéine de la MEC (Zylbersztejn et al. 2018).

En homo- ou hétéro-complexes, les BMP se lient généralement à un récepteur de type II. Un récepteur de type I est par la suite recruté et phosphorylé après cette interaction. Il est cependant possible que deux récepteurs de type I interagissent ensemble pour transduire le message seuls (Miyazono, Kamiya, et Morikawa 2010). Néanmoins, la phosphorylation du récepteur de type I entraîne l'activation de la voie soit canonique ou non-canonique des BMP. La première est caractérisée par la phosphorylation des Smad 1/5/8. Après activation, elles interagissent avec le co-récepteur Smad4, permettant l'entrée du complexe dans le noyau (**Figure 22**). Se liant aux SBE (Smad Binding Element), les Smads agiront en facteurs de transcription pour l'expression de gènes-cible comme ceux de la famille des *runx* (Runt Related Transcription Factor), dont Runx1 et des *id* (Inhibitor of Differentiation), dont ID1. Dans le deuxième cas, les BMP peuvent activer d'autres voies dont les MAPK (ERK, p38) (Gallea et al. 2001; Guicheux et al. 2003), PI3K (P. Huang et al. 2017), JAK/STAT (Jeanpierre et al. 2021), Rho (Groisman, Shoval, et Kalcheim 2008) et LIMK (Saxena, Agnihotri, et Sen 2018), ces deux dernières voies étant associées au cytosquelette.

A l'inverse, il existe des antagonistes aux BMP (**Figure 22**). Tout d'abord, servant de rétrocontrôles négatifs, Smad7 inhibe la signalisation TGF β et BMP alors que Smad6, est plus spécifique à l'inhibition de la voie BMP (Goto et al. 2007). Puis l'on retrouve des antagonistes solubles tels que Chordin (S. Piccolo et al. 1997), Noggin (Groppe et al. 2002), Follistatine et FLRG (Maguer-Satta et Rimokh 2004), ou bien des corépresseurs tel que BAMBI (Onichtchouk et al. 1999).

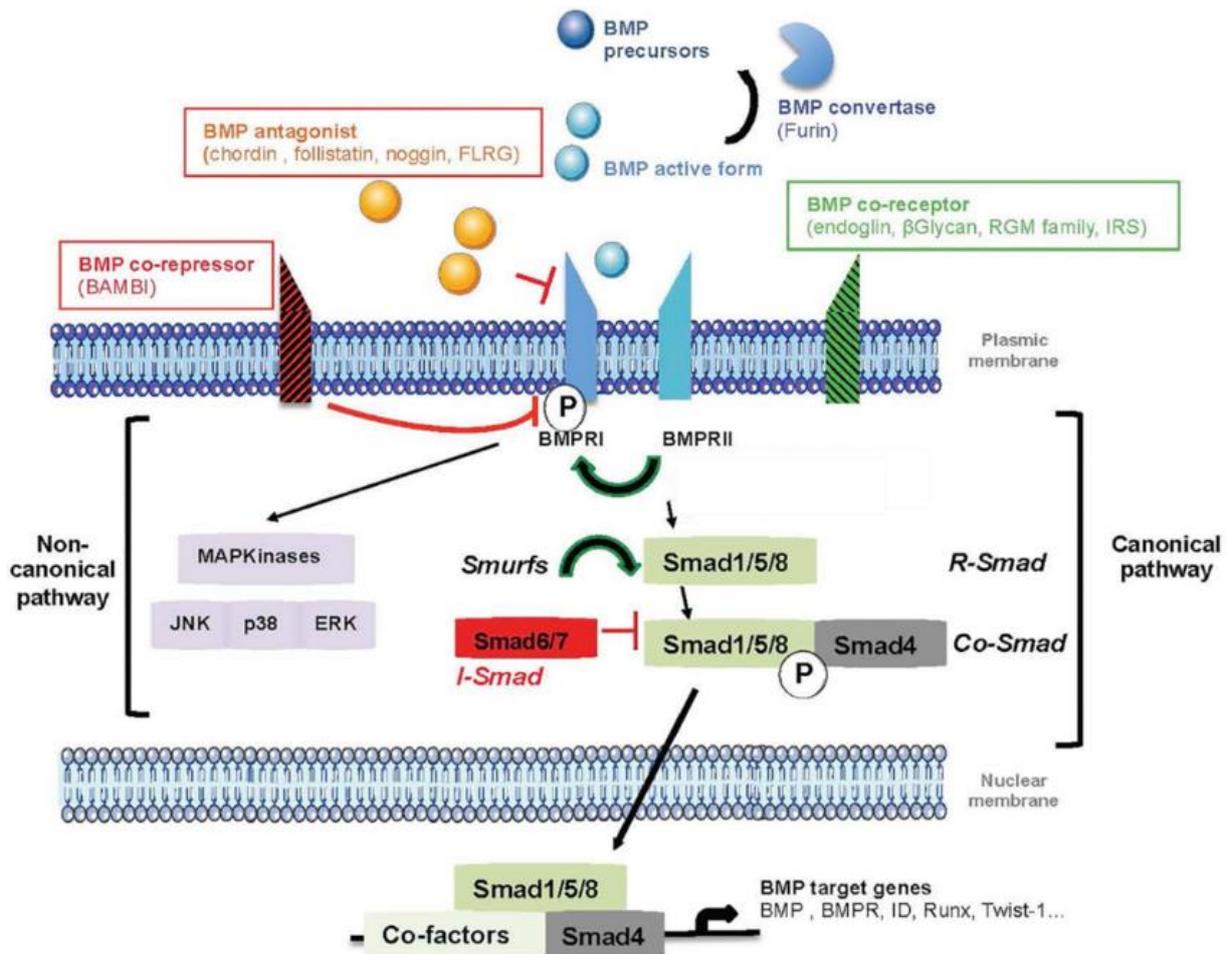


Figure 22 : Fonctionnement et régulation de la voie des BMP, par Zylbersztejn et al. (2018). L'interaction ligand/récepteur permet la phosphorylation des Smads1/5/8 puis leur interaction avec Smad4 permettant leur transfert dans le noyau et la transcription de gènes cible. Cette interaction peut aussi activer des voies non-canoniques telles que les MAPK. Il existe des antagonistes naturels sous forme soluble, de récepteur répressif ou de Smads inhibitrices (Smad6/7).

La structure des Smads 1/5/8 elle-même est complexe. Les Smads sont composées de deux domaines MH pour leur interaction avec l'ADN, reliés par une région linker, puis d'un domaine de phosphorylation en C-terminal pour la liaison avec les récepteurs BMP (Massagué, Seoane, et Wotton 2005). La région linker présente de nombreux autres sites de phosphorylation en plus d'un domaine PY (Massagué, Seoane, et Wotton 2005). Ces sites permettent non seulement l'interaction avec d'autres protéines comme YAP (Alarcón et al. 2009) mais participent aussi à l'auto-régulation de la voie elle-même (**Figure 23**). Leur phosphorylation par GSK3 β permet le recrutement de MAPK dont ERK (Sapkota et al. 2007), entraînant l'arrivée de Smurf1 sur le motif PY des Smads. Smurf1 est une ubiquitine ligase, qui marquera les Smads pour leur dégradation par le protéasome, inhibant ainsi la voie canonique (Sapkota et al. 2007). Cela fait de ERK, à la fois, membre de la signalisation non-canonique et activateur de la voie BMP, et son régulateur négatif par le recrutement de Smurf1.

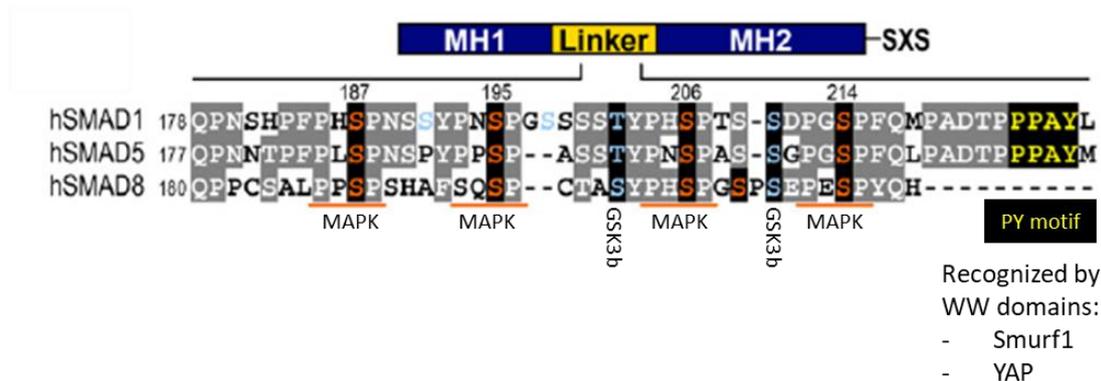


Figure 23 : Structure des Smads 1/5/8, adaptée de Sapkota et al. 2007. Composée de deux domaines MH : MH1 permettant l'interaction avec l'ADN, MH2 avec le co-récepteur Smad4. La région linker présente plusieurs sites de phosphorylation, des sérines ou thréonines (bleu) phosphorylées par GSK3 β , ou des sérines (orange) phosphorylées par les MAPK. Cela permet le recrutement de différentes protéines, comme Smurf1 pour sa dégradation ou YAP1 via le domaine PY.

Mécanobiologie :

Les MAPK ne sont pas les seules à impacter la voie BMP. Cette voie aussi peut être modulée par l'environnement.

Des stimuli mécaniques modulent aussi la voie des BMP. Premièrement, l'intégration des ligands à la MEC permet une régulation spatiale des BMP, et une meilleure cinétique. En effet, les BMP intégrées à la MEC stimulent plus longuement les cellules comparées aux BMP présentées de manière soluble dans le milieu (Gilde et al. 2016; Fourel et al. 2016; M. Brunner et al. 2018). Deuxièmement l'adhésion des cellules à cette MEC via les intégrines entretient le dialogue avec la voie BMP. En effet, BMP2 liée à la Fn et l'interaction de l'intégrine $\alpha V\beta 3$ à la MEC initie la différenciation et la migration cellulaire dans des myoblastes par l'activation de ILK/Src/FAK qui inhibe l'action de GSK3 et promeut donc l'activation de la voie BMP2/BMPR par les Smads (Fourel et al. 2016). Dans le même sens, l'inhibition de l'intégrine $\beta 1$ dans des pré-ostéoblastes diminue l'expression des gènes-cible des BMP, mais sans modifier la phosphorylation des Smads (M. Brunner et al. 2018), suggérant une régulation de la localisation des Smads par les intégrines. A l'inverse, dans des chondrocytes, l'interaction intégrine $\beta 1$ et collagène II active ERK qui vient réprimer la voie Smad (Lian et al. 2019). Ceci souligne l'importance de la MEC, du type cellulaire mais aussi de l'intégrine impliquée, avec des conséquences opposées en fonction de l'activation et localisation des Smad 1/5/8.

D'autres stimuli mécaniques modulent la voie BMP. C'est le cas de la rigidité du substrat. Utilisant des myoblastes cultivés sur biofilm mous (200kPa) ou rigides (400kPa), avec différentes BMP intégrées dedans, Sales et al. (2022) ont regardés les comportements

cellulaires de même que les voies et récepteurs qui y sont impliquées. Prenons l'exemple de l'intégration du BMP4 dans la Fn. Il régit majoritairement l'adhésion de la cellule sur biofilm souple, alors que sur substrat rigide, il permet l'étirement cellulaire (Sales et al. 2022). La rigidité augmentant, l'expression de PINCH-1 augmente (L. Guo et al. 2019). PINCH-1 est une protéine des adhésions focales et inhibe Smurf1. Elle est donc un régulateur positif des Smads, permettant une meilleure activation de la voie BMP sur substrat rigide (40 kPa) que souples (0,35kPa) dans la différenciation des CSM en ostéoblastes (L. Guo et al. 2019). La compression aussi permet de stimuler la différenciation ostéoblastique. L'application d'une pression cyclique sur des CSM a mis en évidence une surexpression de BMP2 par les CSM, maintenant leur différenciation malgré la réduction de la migration (Schreivogel et al. 2019).

En plus de la rigidité extrinsèque, la localisation des récepteurs BMP dépend de l'organisation de la cellule. Les récepteurs ont été observés dans différentes protrusions de la cellule, et sont aussi régulés par la polarisation de la cellule notamment par l'association avec AMOT130, une forme d'épissage d'AMOT, membre des jonctions serrées des cellules (P. Brunner et al. 2020). Lors de l'activation des BMP, BMPR1 et BMPR2 activent les Smads. En même temps, AMOT130 et les BMPR2 peuvent s'associer, menant à l'internalisation du complexe et la libération des Smads 1/5 phosphorylées dans le cytoplasme, et à la transcription des gènes-cible (P. Brunner et al. 2020). Ainsi AMOT accélère le recyclage et la signalisation des récepteurs BMP à l'apex de la cellule (P. Brunner et al. 2020). Les récepteurs permettent aussi de sentir leur environnement : chez la Drosophile, la cellule forme des protrusions dont les extrémités expriment des BMPR afin d'aller capter les BMP dans un autre compartiment (Wilcockson et Ashe 2019).

Non seulement les BMP peuvent dialoguer avec différentes voies de mécanotransduction dont YAP/TAZ et les intégrines, mais elles sont aussi des senseurs de l'environnement mécanique et d'importantes régulatrices de l'adhésion et de la différenciation cellulaire.

BMP et système hématopoïétique :

Conditions physiologiques :

Les BMP ont leur importance dans la régulation du système hématopoïétique. Elles modulent la différenciation et l'autorenouveau des CSH, notamment par la régulation de Nanog et Oct4 (Toofan et Wheadon 2016). Primordiale lors du développement embryonnaire, la délétion de BMP2/4/7 est létale dans les modèles murins (Zylbersztein et al. 2018).

Chez l'adulte, récepteurs et Smads sont exprimés dans les CSH (Bhatia et al. 1999) et les cellules du micro-environnement sont les principales sources de BMP (ostéoblastes, cellules stromales, plaquettes et mégacaryocytes) (Toofan et al. 2014). BMP4 aide à la différenciation (Bhatia et al. 1999), notamment la différenciation mégacaryocytaire (Jeanpierre et al. 2008), ou érythrocytaire (Maguer-Satta et Rimokh 2004; Perry, Harandi, et Paulson 2007). De manière intéressante, le BMP4 présent dans la moelle osseuse permet la régulation de l'intégrine $\alpha 4$ sur les CSH, activant la voie non canonique p38 afin de réguler l'adhésion des CSH (Khurana et al. 2013), de même que le nombre et la repopulation des CSH chez la souris

(Goldman et al. 2009). De plus, ses effets peuvent être doses-dépendants : un fort taux de BMP4 menant à la différenciation des CSH alors qu'un faible taux activera leur prolifération (Bhatia et al. 1999).

Exemple de dérégulation avec les leucémies :

Permettant non seulement d'intégrer les forces mécaniques mais aussi régulant la différenciation hématopoïétique, les BMP sont impliquées dans les leucémies.

Notre équipe a déjà démontrée dans le cas de la leucémie myéloïde chronique (LMC), un fort taux de BMP4 dans la moelle (Laperrousaz et al. 2013). Celui-ci participe à la résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK), principal traitement contre la LMC. Sécrété par les cellules stromales, il amène la cellule leucémique à y adhérer et à se mettre en quiescence (Jeanpierre et al. 2021), promouvant la persistance des cellules en la cachant des traitements. Ainsi, la maladie peut revenir lors de l'arrêt des ITK, réduisant la pression de sélection et permettant la reprise de prolifération des cellules leucémiques. Lors d'un stade plus avancé, la cellule résistante devient indépendante de son micro-environnement et même en place une voie autocrine ; elle secrète elle-même BMP4 qui interagit avec BMPR1B pour maintenir son statut de résistance (Grockowiak et al. 2017).

Dans le cas de la LAM, nous avons observé l'impact du BMP4 dans la dédifférenciation des cellules. En effet, on retrouve un taux important de BMP4 dans le plasma de la moelle osseuse chez des patients LAM comparé à des moelles normales (Voeltzel et al. 2018). Celui-ci interagit avec BMPR1A des cellules leucémiques permettant l'acquisition de propriétés souches (Voeltzel et al. 2018). D'autres équipes montrent aussi l'implication des BMP dans la LAM. Notamment, l'interaction BMP4/BMPR1 amène à la transcription de *MIXL1*, protégeant les cellules leucémiques de l'apoptose (Raymond et al. 2014). Aussi dans les LAM pédiatriques, celles présentant CBFA2T3-GLIS2 ont une expression de BMP2/4 et ID1 augmentée, entraînant de plus fortes capacités d'autorenouveau (Gruber et al. 2012).

Ainsi, la voie des BMP permet l'intégration de signaux solubles et physiques, et peut communiquer avec d'autres voies de mécanotransduction, dont YAP/TAZ et Rho. Elle régule l'hématopoïèse normale et se retrouve dérégulée dans la LAM.

OBJECTIFS DES TRAVAUX DE RECHERCHE

Contexte de la recherche :

La Leucémie Aiguë Myéloïde est la plus fréquente des leucémies touchant l'adulte, particulièrement le sujet âgé. Malgré les innovations thérapeutiques, le taux de mortalité reste élevé, 30% des patients rechutent après 5 ans de traitement. La LAM peut toucher les cellules souches hématopoïétiques comme les progéniteurs. De plus, notre équipe a déjà démontré que l'environnement médullaire leucémique poussait les cellules à se différencier. Ceci est un problème, car si une Cellule Souche Leucémique (CSL) acquiert une mutation ou autre phénotype permettant la résistance, elle le transmettra par la suite à ses cellules-filles, augmentant le nombre de cellules insensibles au traitement. C'est par la persistance de ces cellules au sein des niches médullaires que naît la chimiorésistance, et c'est pourquoi comprendre les mécanismes de cette persistance est particulièrement importante.

Cependant, la cellule n'est pas seule dans son environnement. Des facteurs solubles et physiques régulent ses propriétés. Il existe différentes niches dans lesquelles les cellules adhèrent, ayant des rigidités différentes, et dans le cas de la LAM, la MEC peut se rigidifier d'autant plus, par l'augmentation du dépôt de collagène et fibronectine (A. Islam et al. 1984). En outre, la pression aussi augmente à cause de la surpopulation de cellules dans l'os (Petrakis 1954), démontrant que les facteurs physiques de la moelle osseuse d'un patient LAM comparé à un donneur sain sont modifiés. Au regard de la chimiorésistance, plusieurs études démontrent l'importance de l'adhésion cellulaire, ce qui permet aux cellules leucémiques de persister dans leur environnement, protégées du traitement, notamment par l'induction de quiescence (Matsunaga et al. 2003 ; Jeanpierre et al. 2021).

Les cellules hématopoïétiques et leucémiques sont sensibles à ces changements mécaniques, et des dérégulations dans certaines voies de mécanotransduction, permettant la réponse cellulaire face à ces stimuli, ont déjà été décrits. Les Bone Morphogenetic Proteins (BMP) en font partie : elles régulent l'hématopoïèse normale (Jeanpierre et al. 2008) mais sont dérégulées dans la LAM (Voeltzel et al. 2018; Raymond et al. 2014). La voie YAP/TAZ est une autre voie de mécanotransduction, pouvant dialoguer avec les BMP (Alarcón et al. 2009). Peu décrites dans le modèle hématopoïétique, les protéines YAP/TAZ sont connues comme oncogènes dans de nombreux cancers.

Au vu des propriétés mécaniques de la moelle osseuse et la régulation des voies de mécanotransduction dans la LAM, nous nous sommes alors demandés si elles pouvaient jouer un rôle lors de la chimiorésistance.

Objectifs de la recherche :

La caractérisation des cellules résistantes :

Pour permettre cette caractérisation, j'ai travaillé avec des cellules sensibles ou résistantes à l'Ara-C, une chimiothérapie encore fréquemment utilisée en clinique. Par la suite, j'ai regardé l'expression de nos voies d'intérêt, à savoir BMP et YAP/TAZ, et des marqueurs liés à l'adhésion (intégrines, P-FAK, F-actine). De plus, j'ai aussi regardé leurs propriétés physiques,

notamment l'adhésion et comment cette propriété variait dans différents contextes physiques (substrat de rigidité différente, compression (Prunet et al. 2020)).

Les dialogues entre les voies et leurs conséquences fonctionnelles :

Par la suite, je me suis intéressée à savoir si YAP/TAZ et BMP pouvaient interagir entre-elles dans notre modèle, sachant que c'est en effet le cas dans certains contextes et qu'elles peuvent toutes les deux être régulées par les intégrines et le cytosquelette.

Utilisant des inhibiteurs, soit de BMPR1B/ERK (E6201) ou bien de YAP/TAZ (Verteporfine – VP), j'ai étudié si les cellules résistantes redevaient sensibles au traitement ou non, si cela modifiait leur adhésion, ou leur survie au long terme dans un système 3D modélisant la moelle osseuse humaine (Voeltzel et al. 2021; 2022). De plus, j'ai regardé les effets qu'un inhibiteur avait sur sa voie d'intérêt mais aussi l'autre. Pour cela, j'ai investigué les changements dans l'activation des voies de signalisation par Western-Blot ou par qPCR, de même je me suis intéressée à la localisation des effecteurs par immunofluorescence. Aussi, j'ai observé les modulations des intégrines et du cytosquelette après traitements.

Cela a permis de poser une nouvelle pierre sur la compréhension de la mécanotransduction dans les cellules leucémiques résistantes au traitement.

Les résultats suivants n'ont pas encore été publiés, mais ils seront tout de même formatés en ce sens et donc rédigés en anglais. Ils seront par la suite discutés dans un autre chapitre.

RESULTATS

Introduction:

Hematopoiesis occurs in the bone marrow (BM) where the hematopoietic stem cells (HSC) can self-renew or differentiate into the different blood lineages. These properties are tightly regulated by their microenvironment (or niche). Stromal cells are one of the main players as they can secrete both cytokines and proteins of the extracellular matrix (ECM), like fibronectin (Fn) or collagen. These two components, soluble and physical factors, are important regulators for the HSC. Indeed, two niches have been described in the BM, either the stiff endosteal niche, near the bone layer, and the soft perivascular niche, near the sinusoid vessels. HSC are sensitive to this stiffness substrate cues which regulate their differentiation ability (Choi et Harley 2017). Interacting with these niches, HSC adhere, and sense cytokines embedded in the extracellular matrix (ECM), like the TGF β (Jiang et al. 2018; Yamazaki et al. 2011).

A dysregulated hematopoiesis can lead to acute myeloid leukemia (AML). AML is a very heterogeneous disease resulting in the hyperproliferation of immature myeloid blasts due to lack of differentiation. Usually treated by chemotherapy like Cytarabine (Ara-C) and anthracyclines, it is still a public health problem. Despite the new targeted treatments arising nowadays, the mortality rate after 5 years of treatment stays high, reaching 70%, due to the persistence of chemoresistant clones into the BM. In addition to better fitness due to certain molecular abnormalities, the selection of resistant clones could be supported by the dysregulation of the BM microenvironment. ECM in the AML-BM can become stiffer, with fibrosis and collagen deposit increasing throughout AML course (A. Islam et al. 1984; Zahr et al. 2016). Pressure inside of the BM also increases (Petraakis 1954) suggesting that cells are confined and pressed onto each other and their microenvironment. Interestingly, adhesion of leukemic cells, especially through interaction of $\alpha 4\beta 1$ integrins, have enhanced chemoresistance properties (Takuya Matsunaga et al. 2003; Jacamo et al. 2014).

As physical factors are modified in AML, this suggests that mechanotransduction factors like the BMP or YAP/TAZ pathways will also be impaired. Indeed, the BMP family is an important regulator for differentiation or auto-renewal decisions in the HSC compartment (Jeanpierre et al. 2021; Bhatia et al. 1999), and is dysregulated in leukemias. In chronic myeloid leukemia, they are linked with quiescence (Jeanpierre et al. 2021) and chemoresistance through BMP4-BMPRII interaction (Grockowiak et al. 2017). In AML, BMP4 is responsible of acquisition of stem like features (Voeltzel et al. 2018), and anti-apoptotic properties through the expression of *mixl1* gene (Raymond et al. 2014). The BMP signaling is activated by mechanical stimuli, but also by the ligand/receptor interaction, triggering the signaling cascade. The canonical signaling goes through phosphorylation of the Smad1/5/8 proteins whereas non-canonical signaling includes JAK/Stat, PI3K, MAPK such as ERK or p38 signaling. Thus, the transcription factors enter the nucleus to transcribe target genes (*id's* and *runx's* family...) (Zylbersztejn et al. 2018).

The BMP pathway can also crosstalk with several other pathways such as the integrin signaling. Responsible for sensing the environment, the integrins can form focal adhesion, linking the actin cytoskeleton to the ECM thanks to adaptor proteins and by activating FAK

(Focal Adhesion Kinase) through phosphorylation. With the BMP signaling, they control cell proliferation (Fourel et al. 2016), or differentiation (M. Brunner et al. 2018). BMP and integrin pathways can also crosstalk with YAP/TAZ (Lian et al. 2019; Alarcón et al. 2009; Sabra et al. 2017). The YAP/TAZ pathway is one of the major mechanotransduction pathway known in adherent cells. Usually inhibited by the Hippo pathway, YAP/TAZ proteins are freed with cell stretching and adhesion to stiff matrix (Panciera et al. 2017). It will then enter the nucleus, binding to TEADs, DNA binding proteins, before transcribing target genes (*cyr61*, *ctgf*). They regulate migration, proliferation as well as differentiation and self-renewal. Dysregulated in several cancers, YAP/TAZ are recognized oncogenes. Besides, Pearson et al. (2021) ran a meta-analysis over adherent and semi-adherent/non-adherent cancers: they were respectively YAP^{on} or YAP^{off}, depending on its expression. Interestingly, the re-expression of YAP in YAP^{off} cancer resulted in cell cytostasis, with expression of integrins and ECM (Pearson et al. 2021). While re-expression of YAP/TAZ in multiple myelomas seemed to lead to cell death (Maruyama et al. 2018; Grieve et al. 2019), their inhibition would cause apoptosis in promyelocytic AML (M. Chen et al. 2017). However, the role of YAP/TAZ pathway is not well described in leukemias, even less in leukemic chemoresistance.

Thus, having dysregulated mechanical environment and mechanotransduction pathways in leukemic cells and the BM, we wondered how these pathways could impair AML chemoresistance. Using AML cell lines and primary samples of patient after relapse, we investigated the role of both BMP and YAP/TAZ pathways in AML chemoresistance. We first characterized the cells regarding cell mechanical properties (adhesion, stiffness, confinement) and these pathways. Then, we looked to downstream signaling to understand how they could interact with one another, investigating the potential of new therapeutic combinations.

Materiel & Methods:

Cell lines:

AML cell lines used were cultured in RPMI 1640 with 10% FBS. Resistant cells were permanently cultured with chemotherapy (Cytarabine/Ara-C) at 1 μ M. ML2-sensitive (ML2-S) and ML2R-resistant (ML2-R) cell lines, as well as OCI-AML3-S and OCI-AML3-R, obtained from F. Mazurier (Rennes, France), were cultured in RPMI 1640 10% FBS media. ML2-S-GFP and ML2-R-mCherry were derived from them. HS27A and HMEC-1 cell lines were obtained from ATCC and cultured in RPMI 1640 containing 10% FBS or MCB131 containing 10% FBS, 1% glutamax, hydrocortisone at 1 μ g/ml and EGF at 10ng/ml. shRNA against BMPR1B plasmid was transduced in ML2-R while overexpressing BMP4 plasmid was added to the HS27A cell line.

Bone marrow samples were obtained either from healthy BM donors for allogeneic transplant or from peripheral blood (PB), or the BM of AML patients. All donors provided written informed consent in accordance with the Declaration of Helsinki. Studies were approved by local ethics committee bylaws. Mesenchymal stem cells (MSC) were isolated from BM samples and cultured as described in Laperrousaz et al. (2013) and Schallmoser et al. (2008). Primary Mesenchymal Stromal Cells (MSC) were isolated prior to Ficoll gradient used to isolate the MonoNuclear Cells (MNC).

Treatments:

Different treatments were used, mainly E6201 at 100nM (Strategia), SCH772984 at 1 μ M (Euromedex, S7101), BMP4 at 10ng/ml (R&D System, 314-BP), Verteporfin at 0.25 μ M (Sigma, SML0534), Blebbistatin at 20 μ M (Sigma, B0560).

RT-qPCR:

RNA extraction was made using Trizol Reagent, then using DirectZol by Zymo Research extraction kit. Following, a Reverse Transcription using SuperScript enzyme from Takara kit was made, then qPCR using SyberGreen from a Takara kit as fluorescent DNA intercalant, and amplicons read by a Light Cycle 480 (Roche). Housekeepers' genes such as HPRT (Hypoxanthine-Guanine-Phospho-Ribosyl-Transferase) and TBP (TATA-box Binding Protein) were used as reference for analysis. Normalization was performed using healthy cytopheresis, and control cells, if necessary.

Western-Blot:

Cells were harvested, pelleted, and lysed with RIPA buffer. Then proteins were quantified by spectrophotometry along with BSA standard curve. 30 μ g of proteins were loaded in a 10% acrylamide gel. PVDF membranes previously incubated in ethanol were used for dry transfer using the Transblot Turbo from BioRad. Then, membranes incubated for 1h of saturation with 5% BSA or milk at room temperature. The primary antibodies were incubated at 4°C overnight. Primary antibodies used were anti phospho-Erk (Cell Signaling Technology, #4370) at 1:8000, anti-phospho-Smad1/5/8 (Cell Signaling Technology, #13820) 1:500, anti-BMPR1b (Abcam, ab78417) at 1:500, anti-GAPDH (Cell Signaling Technology, #8884) at 1:10000 dilution in 5% BSA. Also, anti-Erk (Cell Signaling Technology, #4695), anti-Smad1/5/8 (Santa Cruz, sc-6031-R) at 1:1000, anti-TAZ (Cell Signalling Technology, #72804) at 1:500, anti-Pan-TEADs (Cell Signalling Technology, #13295) at 1:1000 dilution in 5% dry milk. After TBST washes, membranes were incubated at room temperature for 1 hour with HRP conjugated goat anti-rabbit or goat anti-mouse secondary antibodies at 1:10000 in 1% milk. Then washed back with TBST before ECL revelation. Proteins were quantified using ImageLab software.

FACS:

Cells were stained with antibodies tagged with fluorescent probes and their counterpart IgG for 20min at 4°C in the dark. Then, cells were washed with PBS. Antibodies were all purchased from BD Bioscience, we used conjugated BV500 anti-CD45, conjugated APC-H7 anti-CD45RA, conjugated BV605 CD90, conjugated APC CD34, conjugated PeCy7 CD38, conjugated PeCy5 CD38, conjugated BV711 CD123, conjugated PE CD47.

Apoptosis assay:

After treatments, cells were washed with PBS then Binding Buffer. AnnexinV stain (BD Bioscience, 556547) was added to the cells and incubated for 15min at room temperature in the dark. After 2 washes with Binding Buffer, cells were kept on ice. PI was added 5 to 15 min before going to the cytometer.

Immuno-fluorescence staining:

For adherent cells: either adherent to fibronectin on glass coverslip or hydrogel from Matrigen company or stromal cells. Cells were gently washed with PBS then fixed for 20 min in PFA 4%

at room temperature. They were washed 3 times with PBS before incubation for 30min at room temperature with blocking and permeabilizing solution (BSA3%+ Triton 0.3% +PBS1X) The cells were washed 2 times with PBS. Then the coverslips are moved out from the well to parafilm for incubation of primary antibody, diluted in 1%BSA-PBS, overnight at 4°C. The next day, the coverslips are washed 3 times with PBS before incubation of secondary antibodies and nuclear stain, diluted in 3%BSA-PBS, for 45min. Finally, after 4 washes, the coverslips are dried and mounted in DAKO mounting medium.

For confinement system: After two 10min washes with PBS 1X, cells were fixed with PFA4% for 40min. After a 10min wash with PBS, the molds were removed and protocol as usual was followed. To note: when put on the parafilm, circles with Dakopen were drawn to reduce the surface of incubation to fit with 30µl of antibodies. At the end, coverslips were cut with a diamond pen for mounting onto the slides.

Primary antibodies used were anti-Pan-TEADs (Cell Signalling Technology, #13295) at 1:600, anti-BMPR1B (Santa Cruz, sc-293428) at 1:300, anti-Smad1 (Santa Cruz, sc-7965) at 1:200, Phalloidin-rhodamine (Life, R415) at 1:800, Anti-P-FAK Tyr397 (Thermofisher, 700255) at 1:400. Then we added secondary antibodies: Goat anti-mouse Alexa Fluor 405 (Invitrogen, A31553) at 1:1000, Goat anti-mouse IgG Dylight 488 (Thermo scientific, 35502) at 1:1000 and Sytox Deep Red (Thermofisher, S11380) at 1:30000 to stain the nucleus.

Adhesion assay:

Wells or hydrogels were coated with fibronectin (Sigma, F0895-2MG) at 40µg/ml diluted in 0.1M NaHCO₃, incubated for 30min at 37°C, then washed with PBS before seeding the cells at 0.2MC/ml. Wells were also coated with stromal cells seeded a day prior the experiment.

Confinement assay:

Mold formation: Adapting the protocol from Prunnet et al. (2020), agarose 2% was made. All components were kept on a heating plate or bath at 78°C. Then the agarose molds were formed, either at a 30µm height (control) or 9µm (experiment). They were kept in PBS time to sterilize them under UV light, 20min on each side. Then, PBS was replaced by complete RPMI and let at least 2h to overnight at 37°C into the incubator.

Culture in system: A day prior, we seeded stromal cells to let them adhere. Then, if coculture was made, resistant leukemic cells were added. Finally, the molds were adjusted onto the culture, and cells were left either 1 or 3 days in culture, to made IF or harvest supernatant or RNA.

Statistical methods:

Mean comparisons were performed with a bilateral Mann-Whitney or t-test (paired or unpaired as required), using GraphPad Prism software (La Jolla, CA). Significant P values are indicated by asterisks in the figures.

Primers table:

HPRT FW	TGACCTTGATTTATTTTGCATACC
HPRT RV	CGAGCAAGACGTTTCAGTCCT
TBP FW	CACGAACCACGGCACTGATT

TBP RV	TTTTCTTGCTGCCAGTCTGGAC
ID1 FW	GTTACTCACGCCTCAAGGAGC
ID1 RV	AGAAGAAATGAGACCGGCGGG
ID2 FW	TATTGTCAGCCTGCATCACC
ID2 RV	AATTCAGAAGCCTGCAAGGA
RUNX1 FW	TGGAAGAGGGAAAAGCTTCA
RUNX1 RV	CCGATGTCTTCGAGGTTCTC
RUNX3 FW	CTTCAAGGTGGTGGCATTG
RUNX3 RV	GCTCAGCGGAGTAGTTCTCG
BMP2 FW	ACGCTCTTCAATGGACGTG
BMP2 RV	GGAAGCAGCAACGCTAGAAG
BMP4 FW	CTTTACCGGCTTCAGTCTGG
BMP4 RV	GGGATGCTGCTGAGGTTAAA
BMPR1B FW	CTGTGGTCACTTCTGGTTGC
BMPR1B RV	TTCCTTTCTGTGCAGCATTG
CTGF FW	GGAGTGGGTGTGTGACGAG
CTGF RV	CTTCCAGTCGGTAAGCCGC
Cyr61 FW	CAGGACTGTGAAGATGCGGT
Cyr61 RV	GCCTGTAGAAGGGAAACGCT
shBMPR1B #1 (5'-3')	TGCTGTTGACAGTGAGCGAAACGAATGTAATAAAG ACCTATAGTGAAGCCACAGATGTATAGGTCTTTATT ACATTCGTTCTGCCTACTGCCTCGGA
shBMPR1B #2 (5'-3')	TGCTGTTGACAGTGAGCGCTCCGGTATAAAAGACAA GAAATAGTGAAGCCACAGATGTATTTCTTGTCTTTTA TACCGGAATGCCTACTGCCTCGGA

Results:

Resistant cells display more adherent features than sensitive cells.

We first wanted to investigate if cell adhesion was correlated to chemoresistance in our models, as studies had described adhesion like a protective behavior against treatments. Using 2 different AML cell lines, (ML2 or OCI-AML3) both have been derived to be either sensitive (-S) or resistant (-R) to Ara-C 1 μ M treatment (**Suppl Data Fig 1A**). Thus, seeding cells on either stromal cells (HS27A cell line) or Fn coated coverslip, we counted the number of cells left after 24h (**Fig 1A**). On both substrates, AML resistant cells were more adherent than the sensitive ones (**Fig 1A, Suppl Fig 1B**). We next wanted to assess if increased expression of main mechanoreceptors of the cells, enable to form focal adhesion, were linked to chemoresistance. B1 integrins and CD47/IAP (Integrin Associated Protein) are linked with chemoresistance (Jacamo et al. 2014; Takuya Matsunaga et al. 2003; Chao et al. 2019). CD47 can enhance integrins signalling and helps with the adhesion (Brown et Frazier 2001). Thus, we observed that both β 1 integrins and CD47 were overexpressed in AML chemoresistant cells (**Fig 1B**). CD123/IL-3R, also linked with chemoresistance (Testa, Pelosi, et Frankel 2014), tend to be upregulated in resistant cells compared to sensitives (**Suppl Fig 1C**). Downstream of the integrins comes the activation of the Focal Adhesion Kinase (FAK). Immunofluorescence for FAK showed that FAK was more active in adherent resistant cells compared to their sensitive counterparts (**Fig 1C-D**) and it goes along with a stronger actin cytoskeleton (**Fig 1C-D**). To go further, we also wondered if these increased adhesion properties to adhere were linked with the intrinsic properties of the cell itself. M. FAIVRE at the INL has developed a microfluidic system to measure the cell intrinsic stiffness (Faivre et al. 2020). It works using the additional hydrodynamic resistance associated with the flow of a cell in a microfluidic constriction. Referred to as the pressure drop measurement, it characterizes the intrinsic mechanical signature of AML cells. In this technique, the microfluidic chip is composed of two identical channels illustrated in **Fig 1E** (left panel): a test channel (upper one) and a reference one (lower one). The cells suspension to be characterized is injected in the upper channel whereas a solution of contrast agent is injected in the lower one, using pressure driven flows. The two channels merge on the right side of the chip and the distribution of the two fluids (co-flow virtual interface) is visualized thanks to the contrast agent. In absence of cells flowing in the upper channel, the virtual interface is centered, hence traducing the equilibrium between the pressures in both channels. When a deformable cell enters the upper channel, an additional hydrodynamic resistance is added to the upper channel resistance, leading to changes in the local pressure profile, thus inducing a displacement of the virtual interface (red dashed line). Thanks to an appropriate calibration, the deflation of the interface can be converted into a pressure drop measurement, thus providing a method to characterize the stiffness of cells with a much more important throughput than classical techniques such as AFM or optical tweezers (**Fig 1E**). Thanks to this device, we observed that AML resistant cells were less stiff, thus more deformable, than sensitive cells (**Fig 1E, right panel**), and this was also confirmed by AFM (**Suppl Fig 1D**).

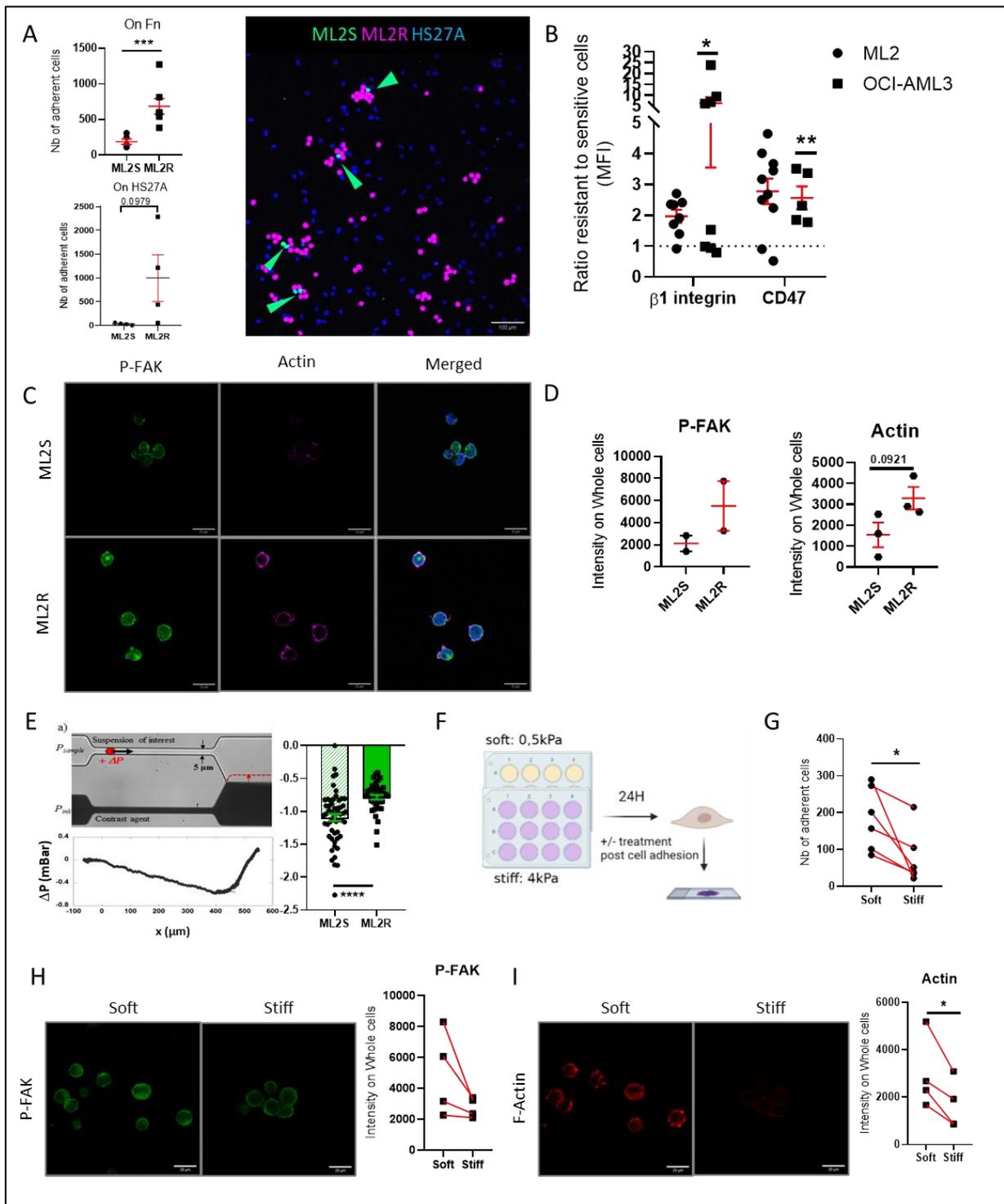


Fig 1: Leukemic resistant cells adhere to substrates. (A) Left panel, quantification by Fiji software of adherent cell number either on fibronectin (Fn) or stromal cell lines (HS27A) \pm SEM. Right panel: representative picture of ML2-S (green), ML2-R (magenta) and HS27A (only stained by nucleus – DAPI). (B) Ratio of resistant to sensitive cells MFI of β 1 integrins and CD47 on ML2 and OCI-AML3 \pm SEM. (C) Immunostaining of P-FAK and F-Actin on ML2-S and ML2-R. (D) Quantification of the (C) by Fiji software \pm SEM. (E) Schematics of the microfluidic system (left panel) and measurement of ML2-S and ML2-R pressure drop (right panel) \pm SEM. (F) Experimental protocol for immunofluorescence on hydrogels substrates. (G) Number of adherent cells on soft (0.5kPa) or stiff (4kPa) matrices. (H) Immunostaining of P-FAK and (I) F-actin of ML2-R on soft or stiff matrices. Quantification of the pictures. * $P \leq 0.05$; ** $P \leq 0.01$; *** $P \leq 0.001$; **** $P \leq 0.0001$.

In addition, we stained for Flotillin1 (n=1). Flotillin1 is a protein included in the lipid raft along with cholesterol. Increases in cholesterol content render the cell softer (Shentu et al. 2010). ML2-R may express more Flotillin1 (**Suppl Fig 1F**), which suggests they might have more lipid rafts, thus it could explain partially their higher softness. Thus, it also suggests that resistant cells have better adherent properties thanks to their lower stiffness. Indeed, preliminary results of ML2-R treated with Blebbistatin 2h prior adhesion showed a tendency for enhanced adhesion (**Suppl Fig 1G**) linked with higher expression of $\beta 1$ integrins (**Suppl Fig 1G**). Blebbistatin inhibits the actomyosin cytoskeleton and would then make the cell becoming softer. Thus, cells are more deformable, enabling them to spread more and attach better with their higher expression of $\beta 1$ integrin, P-FAK activation as well as stronger cytoskeleton.

Moreover, these cells are navigating into the BM, exposed to different substrate stiffness. Evolving between endosteal and perivascular niche, they encounter stiffness range from 0.3 to 30kPa. Using commercial coverslip coated with hydrogels, we investigated how the resistant cells would adhere to these substrates. We compared soft hydrogels at 0.5kPa and stiff at 4kPa, that we first coated with Fn (**Fig 1F**). After adhesion of cells, we treated with Ara-C. 24h later, we stained for P-FAK and F-actin and counted the number of cells (**Fig 1F**). ML2R cells were more adherent to softer substrate (**Fig 1G**), coming along with more FAK activated (**Fig 1H**) and F-actin cytoskeleton (**Fig 1I**). Thus, depending on cells localization in the BM, they would behave differently, preferentially hiding onto soft substrates.

BMP and YAP/TAZ pathways are implicated in chemoresistance.

As mechanical properties are dysregulated in resistant cells, we wondered about the impact on the mechanotransduction pathways, BMP and YAP/TAZ as well as ion channels like Piezo and some of the Transient Receptor Potential (TRP) Channels. Piezo was found on leukemia cell membrane (Vasileva et al. 2021), and is dysregulated in several cancers (F. Zhao et al. 2022). In the same line, TRP channels were expressed on solid cancers and leukemic cell lines, especially TRPV1, TRPV2 and TRPM2. However, the role of the TRPV family is still debated in AML cells (Maggi et al. 2021), whereas inhibition of TRPM2 led to increased apoptosis in response to doxorubicin (S. Chen et al. 2020).

Using a primary dataset of paired sample at diagnosis and after relapse (GSE106291, Shlush et al. (2017)), we looked at the expression of these different pathways. While no changes appeared regarding the ion channels (Piezo, TRPV1, TRPV2) (**Fig 2A**), elements of the YAP/TAZ signaling were overexpressed after relapse: TEAD4 DNA binding protein and *cyr61*, YAP/TAZ target gene (**Fig 2B**). Regarding the BMP pathway, we observed the specific overexpression of BMPRI1B after relapse (**Fig 2C**), suggesting that YAP/TAZ signaling and BMPRI1B receptor were important to maintain chemoresistance.

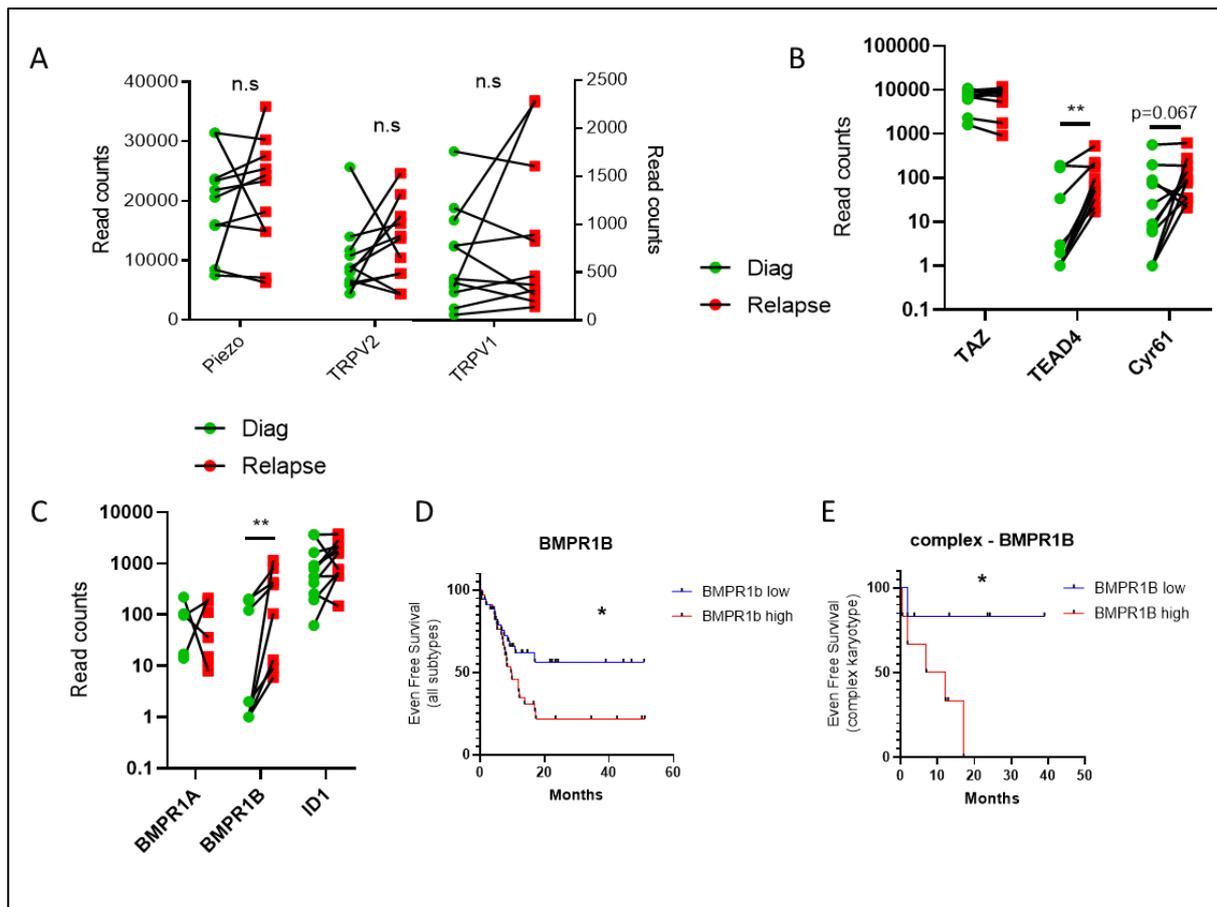


FIG 2: Implication of YAP/TAZ and BMPR1B mechanotransduction pathways in chemoresistance. (A – C) Transcriptomics data coming from GSE106291, dataset of paired primary samples at diagnosis and after relapse, all AML subtypes. N=11. (A) Read counts of Piezo, TRPV1 and TRPV2. (B) Read counts of TAZ, TEAD4 and Cyr61. (C) Read counts of BMPR1A, BMPR1B and ID1. (D – G) Event Free Survival (EFS) curve made with transcriptomic data at diagnosis from GSE147515. All subtypes n=68. (D) EFS regarding BMPR1B expression. (E) EFS curve regarding BMPR1B, complex karyotype only, n=12. n.s non-significant; *P≤0.05; **P ≤0.01.

Interested to know if expression of these genes at diagnosis would have been a good prognosis factor, we first looked throughout the different AML subtypes. Thanks to the dataset from Nehme et al. (2020) (GSE147515), we looked at their expression at diagnosis. Especially, we looked at the differences between the control cells from Bone Marrow of Healthy Donor and cells from patients with a complex karyotype as they are associated with poor prognosis (Döhner et al. 2022). Piezo and TRPM2 did not seem to be differentially expressed (**Suppl Fig 2A**). BMPR1B and ID1, being both BMP target gene and linked with chemoresistance in several cancer (Z. Zhao et al. 2020), were overexpressed (**Suppl Fig 2B**), as well as TEAD4 and Cyr61 (**Suppl Fig 2C**) in the complex karyotype group. Then, we asked if their expression could be a prognosis factor at diagnosis, so we looked at the Event Free Survival (EFS) curve. Neither TEAD4, Cyr61 or TAZ could anticipate early relapse (**Suppl Fig 2D**) nor ID1 (**Suppl Fig 2E**). However, patients from all subtypes of AML having a high expression of BMPR1B at diagnosis had a shorter time before relapsing, compared to low expression BMPR1B patients (**Fig 2D**), and it worsened if we focussed on patients with complex karyotype (**Fig 2E**).

Thus, while BMPR1B and YAP/TAZ elements are involved in chemoresistance, BMPR1B seems to also be a prognosis factor at diagnosis.

BMPR1B/BMP4 activates canonical signaling:

We then started the characterization of our AML cell lines regarding these two mechanotransduction pathways. Regarding BMP signaling, resistant cells expressed more BMPR1B compared to the sensitive cells (**Fig 3A**), same as patients after relapse. Wondering if the BMP pathway would be sensitive to mechanical stimuli as described in adherent cells (Kopf et al. 2014b), we looked at its expression on ML2-R cells on soft or stiff substrates by immunostaining. BMPR1B staining decreased on stiff substrate, suggesting that its expression is sensitive to mechanical stimulus (**Fig 3B**).

Stiffness is not the only change going through the BM during AML course. Cells undergo lots of pressure due to their hyperproliferation in the closed environment such as the bone (Petrakis et al. 1954). We used the confinement system from Prunet et al. (2020) (**Fig 3C**). The system is made of an 2% agarose mold and can be of different height. The system being permeant to oxygen and nutrients, we have been able to make 72h culture with it (**Fig 3C**). We then used 30 μ m as control where the cells are not confined and 9 μ m as test condition.

Confining coculture ML2-R with HS27A stromal cells, we stained for BMPR1B after a day of confinement. Interestingly, the receptor seemed to gather in more numerous and brighter foci, looking towards the interface with the stromal cells (n=1) (**Fig 3D**). This suggests that receptors localization change through confinement and that the cells would differently interact with their niche or respond to soluble molecules, especially during AML progression.

Then, we wondered if the receptor would only re-localize because of the mechanical stimulation or because of a change in the presence of its ligand. Interestingly, we previously demonstrated that BMP4 was overexpressed in AML BM plasma compared to Normal Bone Marrow (NBM) (Voeltzel et al. 2018). However, no changes in BMP4 secreted by NBM or AML Mesenchymal Stromal Cells (MSC) was found in 2D culture. Using primary MSC coming from NBM of Healthy Donors or AML-BM patients, we confined them for 3 days before harvesting mRNA. Looking for BMP2 and BMP4 expression, the confinement of cells seemed to trigger an opposite cell response. Confined NBM MSC tended to overexpress BMP2 while AML MSC would rather express BMP4 (**Fig 3E**). The same tendency was observed in ELISA measurement (**Suppl Fig 3A**). As endothelial cells are also part of BM environment and secreting BMP (Helbing 2017), we confined HMEC-1 endothelial cell line too. They also overexpressed BMP4 under confinement (**Fig 3F**).

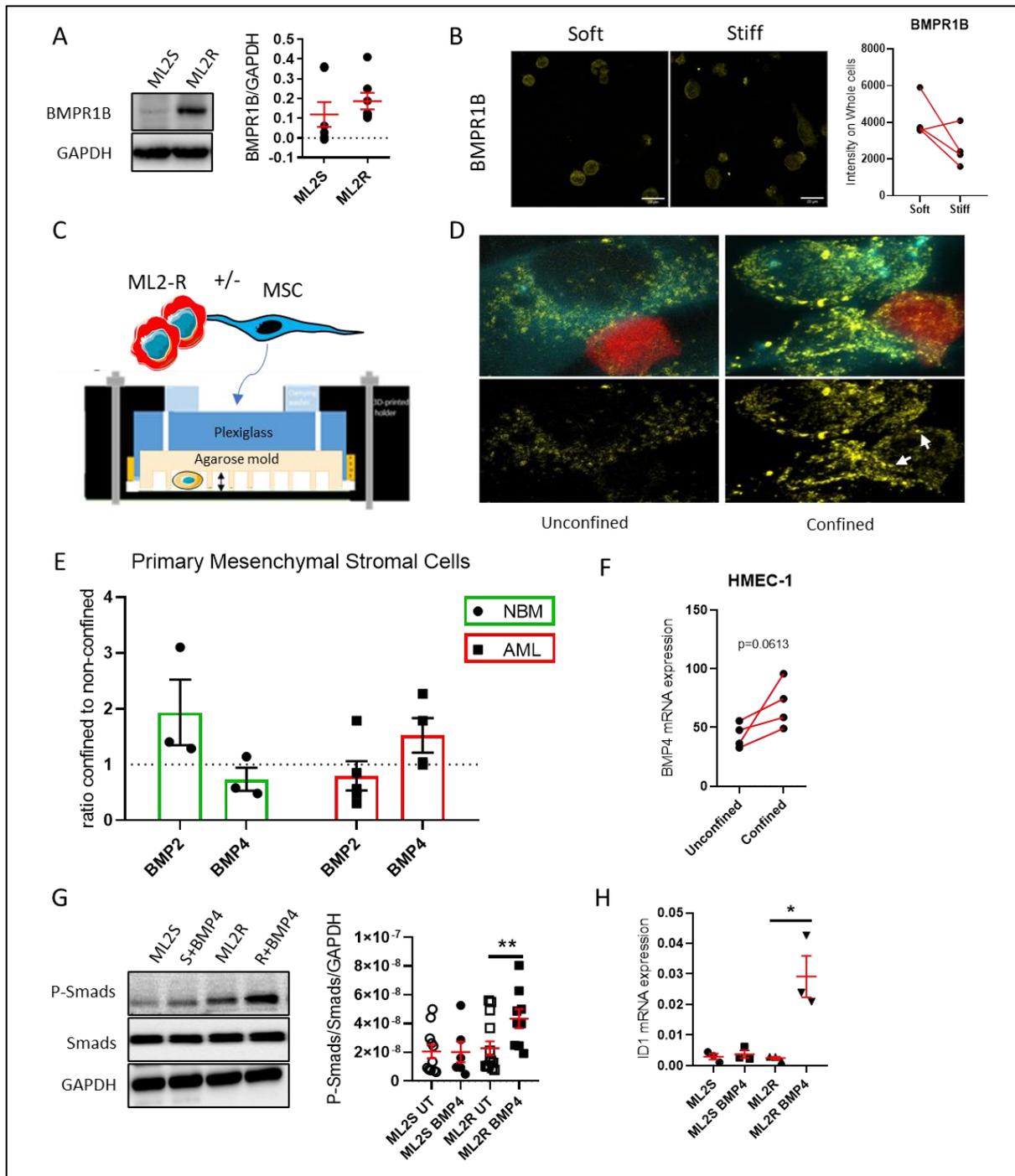


FIG 3: BMPR1B/BMP4 activates canonical pathway in resistant AML. (A) Representative blot of BMPR1B in ML2-S and ML2-R and its quantification using ImageLab software. (B) Immunostaining of BMPR1B from ML2-R on soft or stiff matrices and its quantification using Fiji software. (C) Schematic of the confinement system, adapted from Prunnet (2020). (D) BMPR1B staining (yellow) in ML2-R cherry or HS27A-turquoise, either confined or not. Arrows represent BMPR1B foci. (E) BMP2 and BMP4 expression in primary NBM (n=3) or AML (n=4) BM MSC after 72H of confinement, \pm SEM. (F) BMP4 expression in HMEC after 72H of confinement \pm SEM. (G) Representative blot of P-Smad, total Smad and GAPDH in ML2-S and ML2-R treated or not with BMP4 for 30min, and its quantification on the right using ImageLab software \pm SEM. (H) ID1 expression in ML2-S or ML2-R after 48H of BMP4 treatment \pm SEM. * $P \leq 0.05$; ** $P \leq 0.01$.

So, we demonstrated that resistant cells expressed more BMPR1B, which change expression and localization under mechanical stress. In addition, stromal cells express more ligand, especially BMP4, under confinement. While at basal levels, AML resistant cells tended to activate the Smad pathway (**Suppl Fig 3B**), non-canonical ERK pathway was decreased (**Suppl Fig 3C**) while p38 was increased compared to their sensitive counterparts (**Suppl Fig 3D**). Interestingly, they do not overexpress Smad canonical BMP target genes, such as Runx1 or ID1 (**Suppl Fig 3E**). Thus, we investigated the impact of short term BMP4 exposure on both ML2-S and ML2-R, on downstream signaling (**Fig 3G**). While AML sensitive cells would rather activate non-canonical ERK signaling in response to BMP4 (**Suppl Fig 3F**), AML resistant cells were phosphorylating Smad1/5/8, effectors of BMP canonical signaling (**Fig 3G**). Further, this led to increased expression of *id1*, BMP target gene and linked with chemoresistance, in ML2-R cells only (**Fig 3I**). Interestingly, it did not increase Twist1 expression (**Suppl Fig 3G**), previously described as enhancing CML treatment resistance (Grockowiak et al. 2017). In addition, we did not observe Smad1 translocation into the nucleus after 1h of BMP4 stimulation (**Suppl Fig 3H**), suggesting that Smad1 might not drive the signalling.

Thus, physical changes impact both leukemic and stromal cells, in their interaction together and the cell response depending on BMP pathway.

Indirect interaction of TAZ/TEADs and BMP signaling:

We then wondered if the overexpression of the several YAP/TAZ elements from AML patients at relapse would also be confirmed in AML cell lines, in a similar manner as for BMPR1B. Proteins expression of TAZ and TEADs were increased in both ML2-R and OCI-AML3-R (**Fig 4A**), as well as *cyr61* gene expression (**Fig 4B**), validating that our cell lines have a similar profile than primary cells at relapse. Interestingly, our cells did not express YAP protein (**Suppl Fig 4A**). Thus, we wondered if TAZ/TEAD would have a role in AML chemoresistance. Using the Verteporfine (VP) as TAZ/TEADs inhibitor, it tended to decrease TEADs and TAZ expression after 24H of treatment in AML resistant cells (**Suppl Fig 4B**). Looking at apoptosis, we observed an increased percentage of AnnexinV/PI positive cells after VP treatment in the ML2-R, which seemed stronger than in the ML2-S (**Fig 4C**). This suggests that TAZ/TEADs could be implicated in survival of resistant cells to Ara-C. Interestingly, inhibition of TAZ/TEADs led to inhibition of Smad phosphorylation (**Fig 4D**) and ERK activation (**Suppl Fig 4C**) as well as *id1* and *cyr61* expression (**Fig 4E**), suggesting a possible crosstalk between both pathways. It also suggests that decrease of *id1* expression could lead to re-sensitization.

Thus, we wondered what would happen if we inhibited BMPR1B receptor. Using a chemical inhibitor, the E6201, that we previously used in CML (Jeanpierre et al. 2021), we looked at downstream signaling. Contrary to CML cell lines, ML2-R cells expressed ERK pathway and for the same concentration E6201 has affinity for both BMPR1B and MEK kinase (Weiguo Zhang et al. 2016). ERK pathway was indeed inhibited (**Fig 4F**), but the effect on the Smad pathway was less stringent (**Fig 4G**). Moreover, BMP target genes (*id2*, *runx1*) were overexpressed with

E6201 treatment after 24h; at the exception of *id1* (**Fig 4H**). Interestingly, *cyr61* YAP/TAZ target gene was also modulated, tending to decrease (**Fig 4H**). To discriminate the effect between BMPR1B or ERK inhibition, we used in parallel the SCH772984 (SCH) which inhibits specifically ERK phosphorylation. After validating its effect on ERK (**Suppl Fig 4D**), the SCH treatment inhibited Smad phosphorylation (**Suppl Fig 4E**). This suggests that E6201 inhibits ERK pathway, but still might influence BMPR1B signaling, as SCH highly decreased Smad phosphorylation which is less evident with E6201. However, proliferation was reduced after 72h of E6201 (**Fig 4I**) which was independent from cell death (**Suppl Fig 4F**): E6201 treatment for 72H would better lead to cytostasis (**Fig 4I**).

Both BMP/ERK and TAZ/TEADs are known to crosstalk with the integrin pathway. Integrins can regulate proliferation along with BMP (Fourel et al. 2016), as well as enhancing YAP/TAZ pathway (Sabra et al. 2017). AML resistant cells being more adherent with increased $\beta 1$ integrin expression, we wondered how this latter would be impaired by the inhibitors. Harvesting adherent ML2-R on top of Fn coated well, we looked at both total (**Fig 4J**) and activated form (**Fig 4K**) of $\beta 1$ integrin by FACS. Both treatments decreased the number of total integrins at cell membrane (**Fig 4J**). However, the few integrins expressed were less activated with E6201 and more activated with VP (**Fig 4K**). Oddly, these few activated integrins did not seem to trigger the rest of the integrin pathway. Intensity of F-Actin and P-FAK IF staining decreased with VP treatment (**Suppl Fig 4G**). However, it did not have a striking effect on cell adhesion at 24H (**Suppl Fig 4H**).

Thus, while inhibition of the YAP/TAZ pathway impairs Smad signaling and cell survival, inhibition of BMPR1B/ERK impairs cell proliferation. The first led to decreased of *id1* expression and increased integrin activation while the latter decreased it.

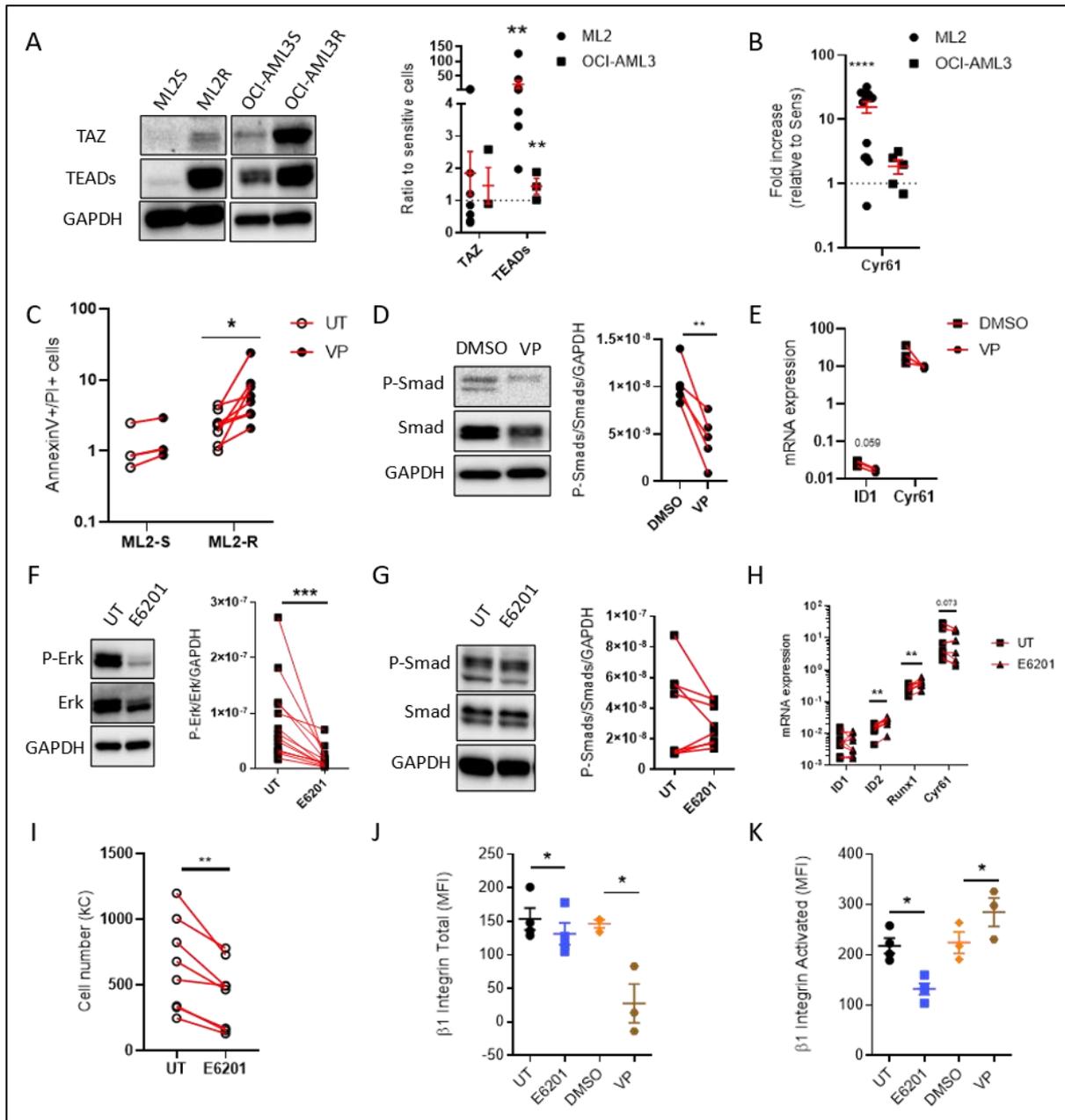


Fig 4: TAZ/TEADs and BMP signaling interact together indirectly. (A) TAZ and TEADs representative blots in ML2-S and -R as well as OCI-AML3-S and -R, and its quantification normalized on sensitive cells using ImageLab software \pm SEM. (B) *cyr61* expression from ML2 and OCI-AML3 cells normalized the sensitive cells \pm SEM. (C) Apoptosis staining by AnnexinV/PI in ML2-S and ML2-R after 48h of treatment UT, or VP. (D) Representative blot of P-Smad, total Smad and GAPDH after 24h of VP treatment and its quantification using ImageLab software. (E) *id1* and *cyr61* expression after 24h of VP treatment. (F) Representative blot of ERK signalling and (G) Smad signalling after 24h of E6201 and their quantification using ImageLab software. (H) BMP target genes expression and *cyr61* expression after 24H of E6201 treatment. (I) Number of cells after 72H of E6201 treatment. (J-K) MFI of $\beta 1$ integrin total (J) or activated (K) on ML2-R adherent cells after E6201 or VP treatment.

Inhibiting mechanotransduction pathways leads to depletion of AML CD45+ cells in human leukemic niche.

We then wondered if these mechanisms would be repeated in primary resistant cells. We used primary MonoNuclearCells (MNC) from patients after relapse (n= 4). These cells have been first characterized by FACS at D0 after thawing, then put for either 1 day under Ara-C or 3 days with treatments (Ara-C, Ara-C+E6201, Ara-C+VP) in coculture with HS27A overexpressing BMP4 (HS27A oeBMP4), to reproduce the high content of BMP4 in the BM, and finally added to a 3D bone marrow like system (**Fig 5A**).

At D0, cells were highly heterogeneous: looking at their CD34, CD38, CD45RA, CD90 markers, samples included stem cells and blasts. They were also expressing resistant markers (CD123+, CD47+) (**Fig 5B**). After a day cocultured with HS27A oeBMP4 and treated with Ara-C, we still observed primary cells: they were still adherent and expressing both BMPR1B and TEADs (**Fig 5C**). On a longer term, cocultured MNC and HS27A oeBMP4 were treated for 3 days. E6201 reduced more strongly the number of CD45⁺ cells than VP treatment (**Fig 5D**) and decreased β 1 integrin expression while VP did not (**Fig 5E**).

We then wondered if these treatments would impair cell chemoresistance in a more complex system and longer chemotherapy exposure. Reproducing a humanized bone marrow, our lab developed a 3D system made of MSC cell lines (HS27A) and endothelial cell lines (HMEC-1) (Voeltzel et al. 2022; Arizkane et al. 2022) (**Fig 5F**). We used BMP4 overexpressing HS27A cell lines to reproduce what would happen in a confined AML bone marrow. Then, according to protocol, we made HS27A differentiate into osteoblasts, culturing cells in a combined osteo-differentiation medium with the HMEC medium (Voeltzel et al. 2022). After 2 weeks, the system presented a bone like structure (**Fig 5F**). Adding primary MNC from AML patients after relapse, we designed an experiment plan to reproduce chemotherapy kinetics (**Fig 5G**). After a day into the systems, the leukemic cells were either let untreated or treated with Ara-C alone, or in combination with E6201 or VP for 3 days. Then, the treatments were removed for the 3 following days, and we did this cycle once again (**Fig 5G**). After 2 weeks of treatment, systems were dissociated, and cells stained for FACS to attest the number of CD45⁺ cells and their markers of interest: β 1 integrin and CD47 for adhesion and CD123 as immature and resistance markers. We observed, after two weeks of treatment, that CD45⁺ cells were kept into the system even under Ara-C treatment, validating their resistant status (**Fig 5H**). However, AML CD45⁺ cells were depleted with both E6201 and VP treatments, suggesting that both treatments could help to eliminate resistant clones (**Fig 5H**). Interestingly, β 1 integrin, CD47 and CD123 markers did not change much under E6201 treatment, where VP tended to overexpress them, especially the CD123 (**Fig 5I**).

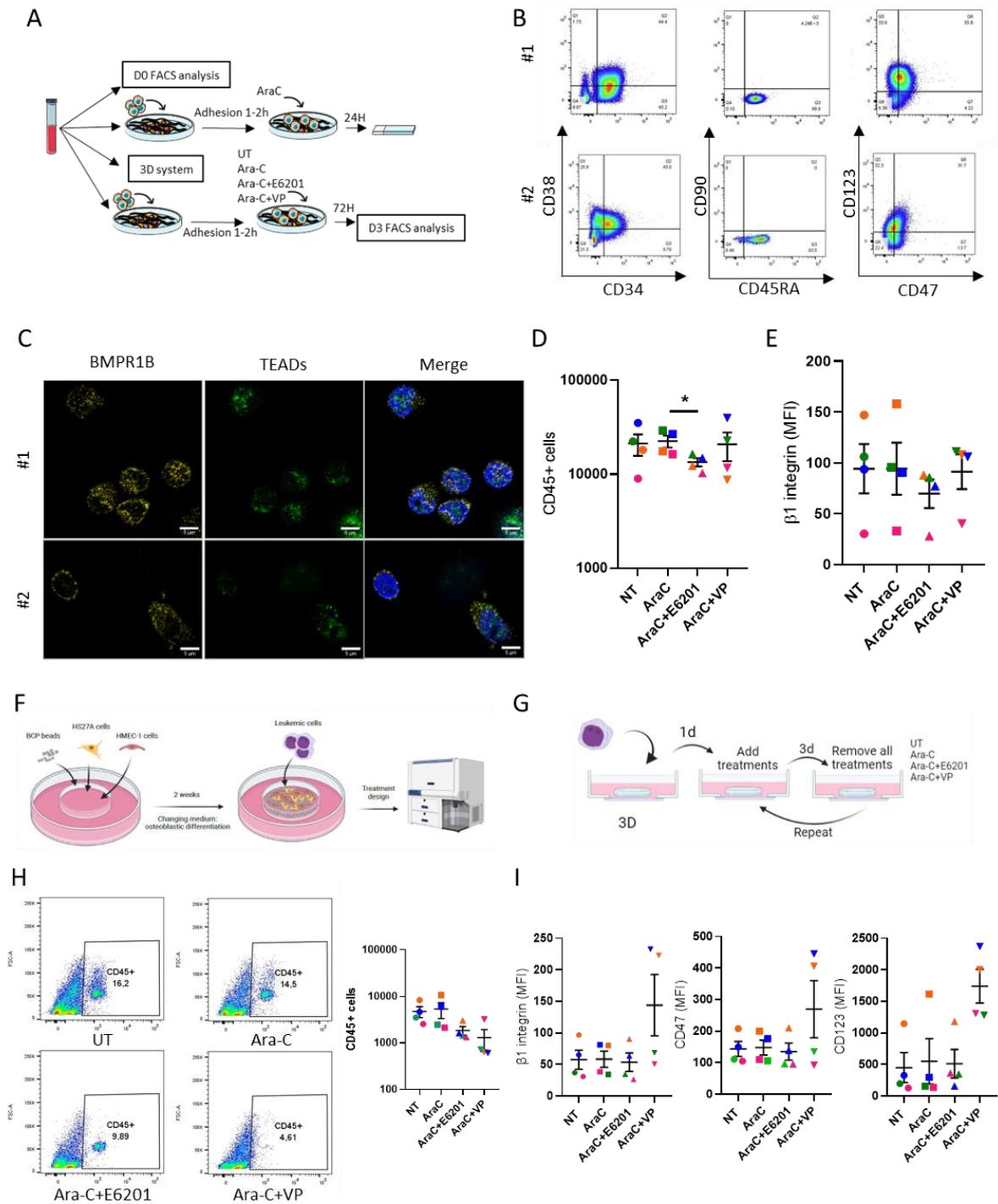


Fig 5: Inhibiting mechanotransduction pathways leads to depletion of CD45+ cells in 3D system. (A) Experimental design of the use of primary MNC at relapse. (B) FACS plot of heterogeneous primary samples status regarding CD34, CD38, CD90, CD45RA, CD123 and CD47 at D0. (C) Immunostaining for BMPR1B and TEADs on primary MNC at relapse in two different samples. (D) Number of CD45+ cells cocultured with HS27A oeBMP4 left after 3 days of treatments (E6201, VP). (E) MFI of $\beta 1$ integrin on MNC adherent to HS27A oeBMP4, after 72H of treatments (Ara-C, Ara-C+E6201, Ara-C+VP). (F) Schematics of 3D system protocol. (G) Experimental design of the treatments kinetics. (H) Percentage (left panel) and number (right panel) of CD45+ cells left after 2 cycles of treatments in the 3D system with or without treatments (Ara-C, Ara-C+E6201, Ara-C+VP). (I) Percentage of $\beta 1$ integrin, CD47 and CD123+ cells in CD45+ cells after 2 cycles of treatments (Ara-C, Ara-C+E6201, Ara-C+VP) in the 3D system.

Optimisation – extra results:

To try to target more specifically the BMP pathway, we also tried other inhibitors. For the BMP pathway, K22088 was sold to be a BMP type I specific inhibitor with a better affinity for BMPR1B than BMPR1A at low concentrations (10nM). Also, it was highlighted that at 100nM, it would produce a strong and robust inhibition of the Smad phosphorylation. So, we treated with the K22088 for 24h and stimulated the Smad signalling with BMP4 for 30min. It did not seem to produce the expected results and did not block BMP4 response (**Fig Extra 1A**). Also, we tried the LDN193189 (LDN). It targets most of the BMPR1 receptors and would decrease Smad phosphorylation. Looking for a role of the Smad pathway as driver of chemoresistance, we looked at the proliferation rate of ML2-R treated with different doses of LDN in combination or not with Ara-C. The addition of Ara-C did not seem to reduce more proliferation than LDN alone (**Fig Extra 1B**).

Our last try was to use a shRNA against BMPR1B. The team produced its own shBMPR1B, inducible with Doxycycline. BMPR1B transcript was reduced in both shRNA tested (**Fig Extra 1C**) as well as *id1* expression under BMP4 treatment. However, it was not reproduced at protein levels (**Fig Extra 1D**). Also, it did not seem to enhance cell death (**Fig Extra 1E**) or reduce proliferation (**Fig Extra 1F**). Thus, we kept using the E6201, despite its off-target effect on ERK pathway.

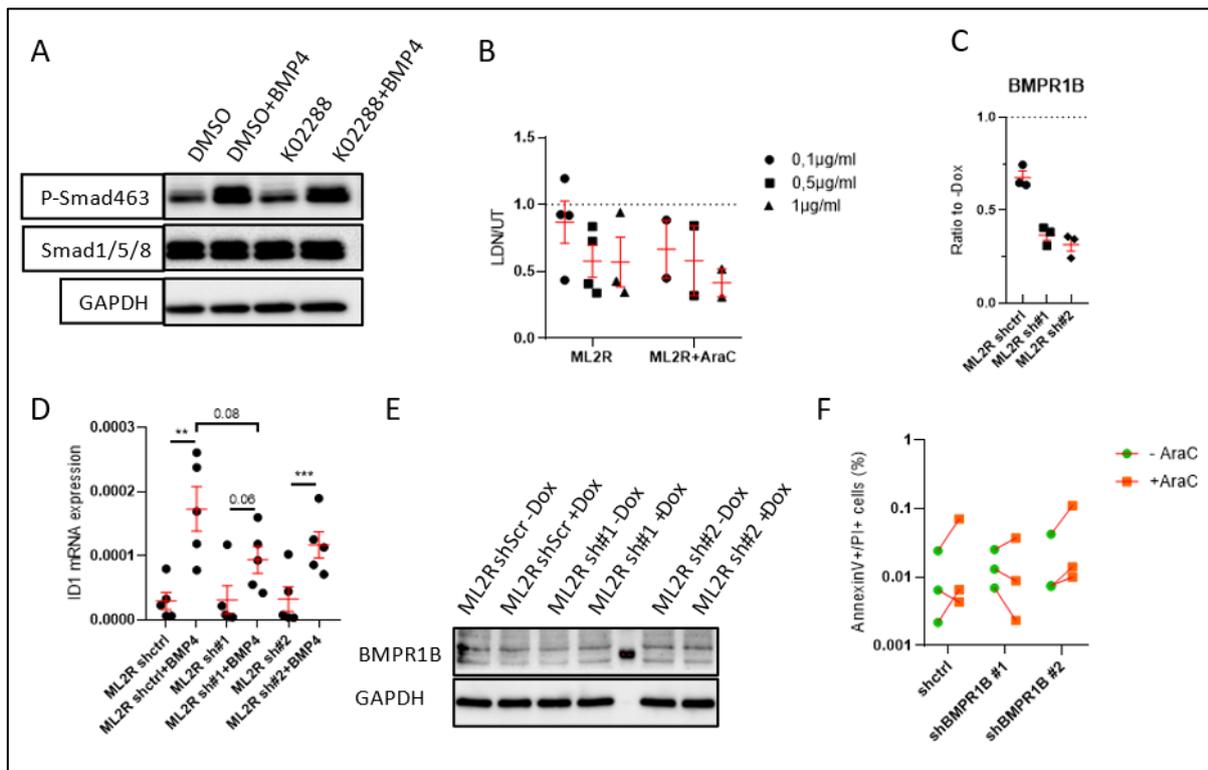
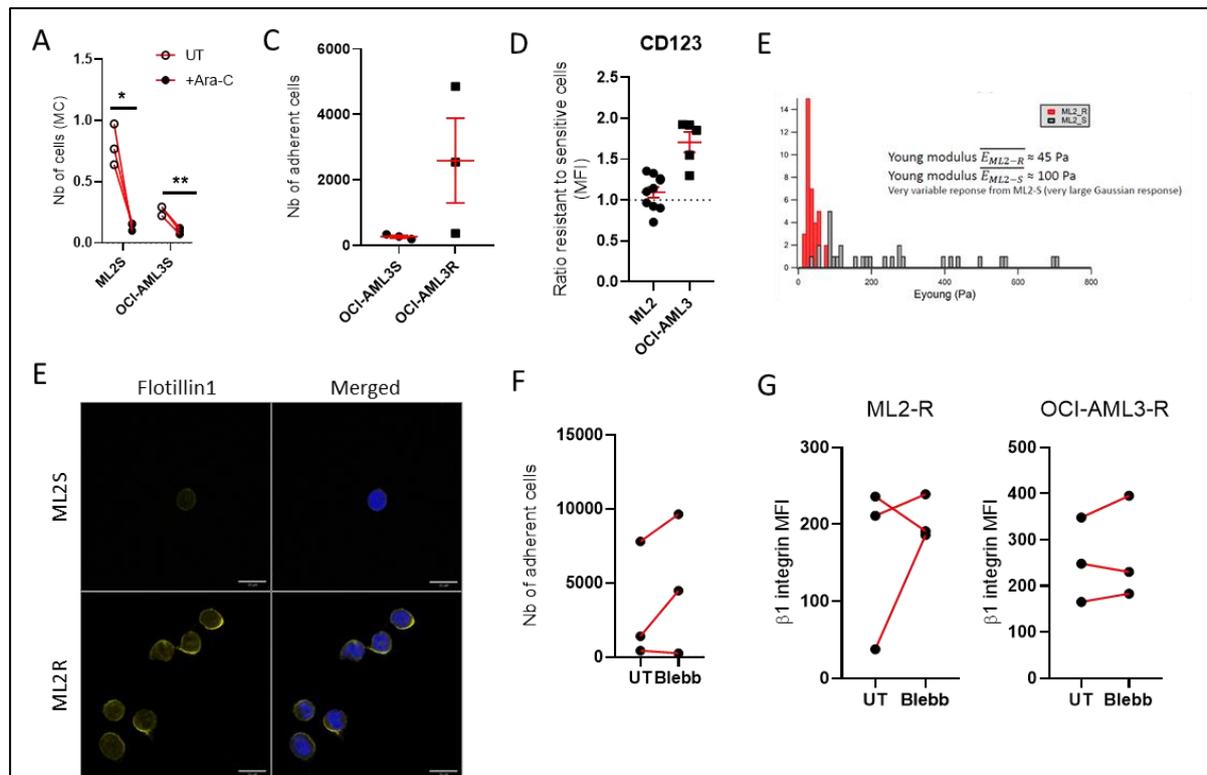
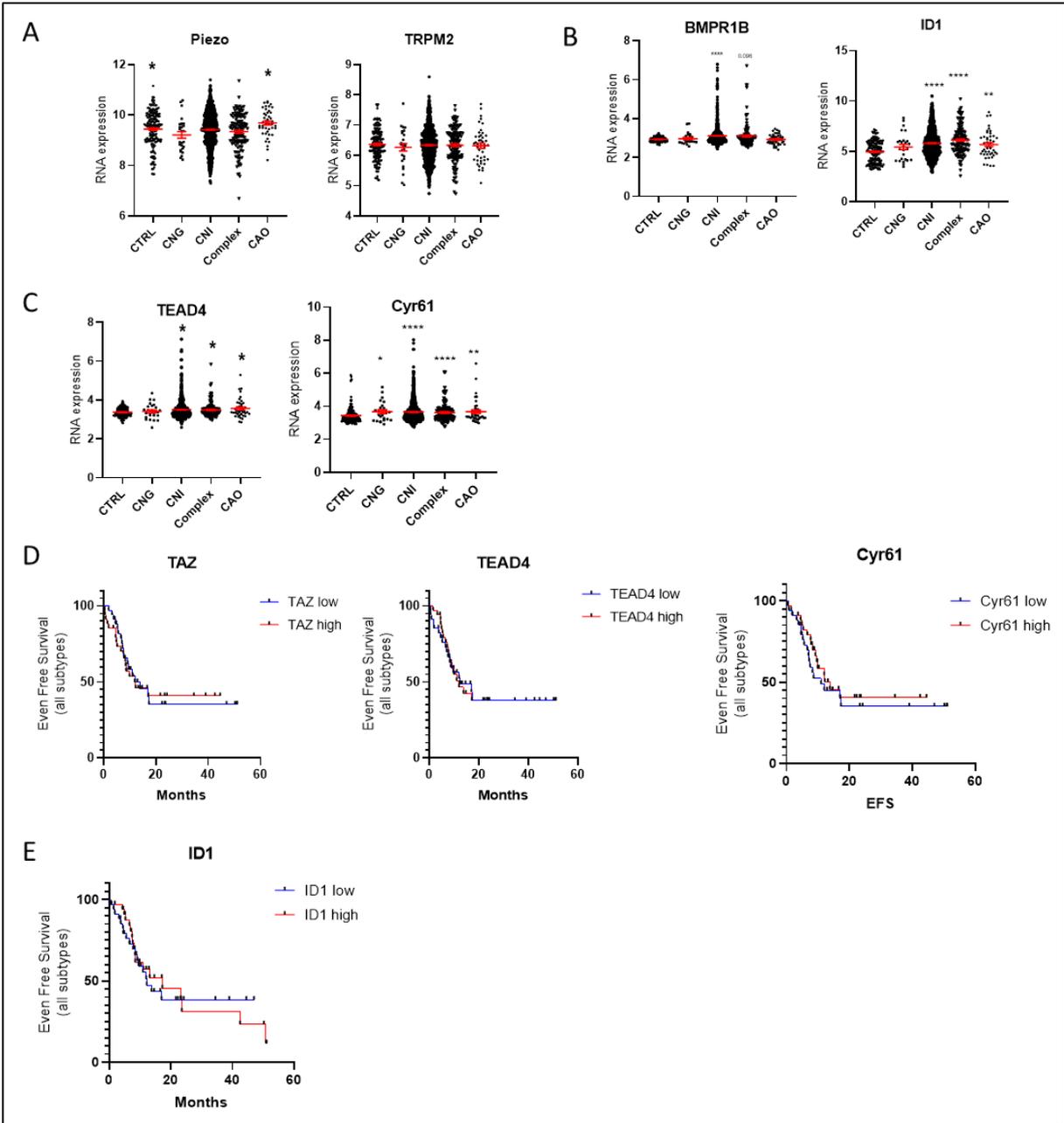


Figure Extra 1: Others BMP inhibitors. (A) Smad signalling after 24H of K22088 (100nM) with or without 30min stimulation of BMP4. (B) Proliferation rate of 72H of LDN treatment with different doses, on combination or not with Ara-C. (C) BMPR1B expression fold-change of shBMPR1B +Dox to -Dox in shctrl, shBMPR1B #1, shBMPR1B #2. (D) ID1 expression in shBMPR1B ctrl, -#1 and -#2 after 48H of BMP4 treatment. (E) BMPR1B protein expression of shctrl, shBMPR1B #1, shBMPR1B #2. (F) AnnexinV/PI double positive cells of shctrl, shBMPR1B #1, shBMPR1B #2 with or without Ara-C for 48H.

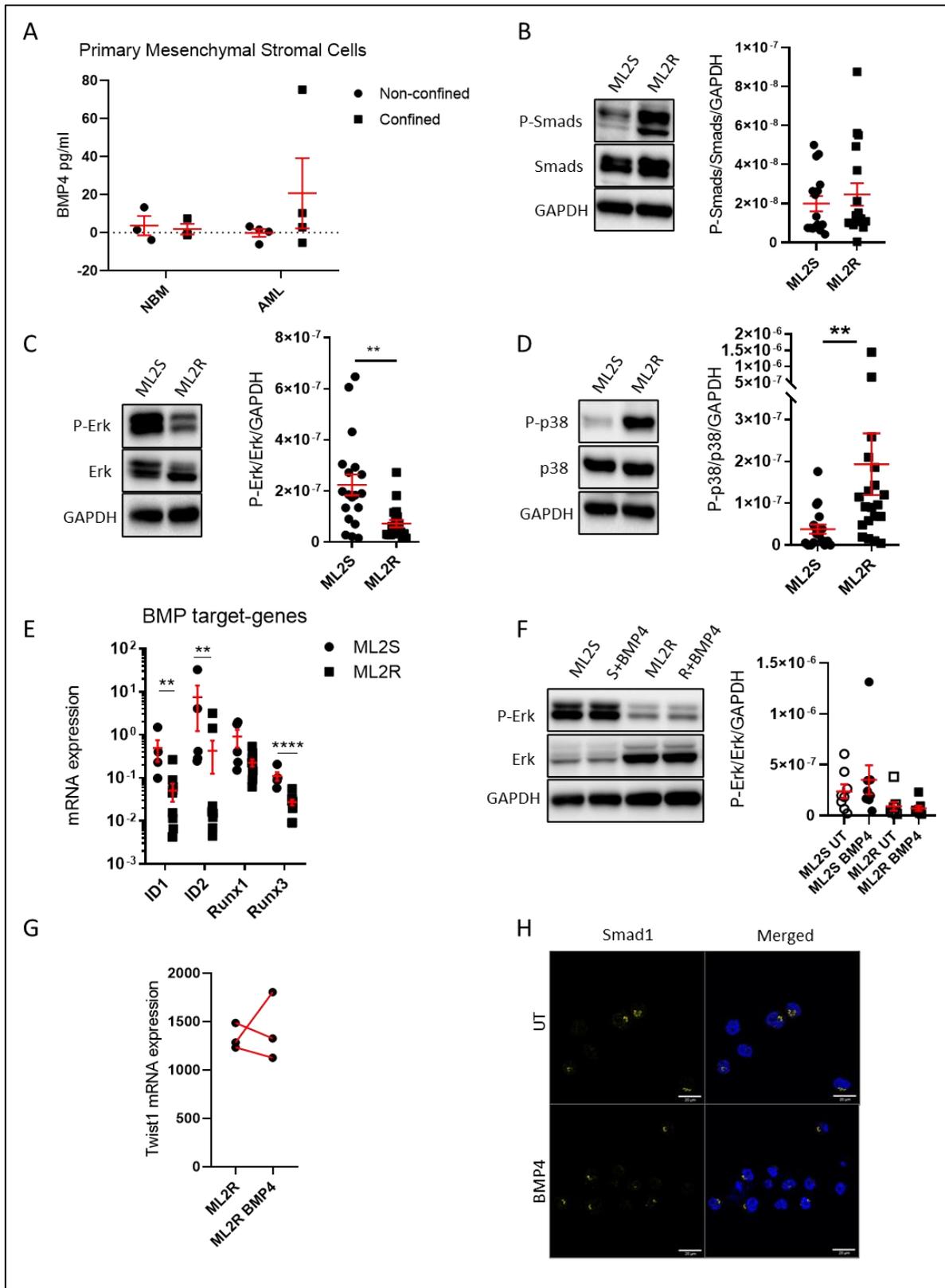
Supplementary figures:



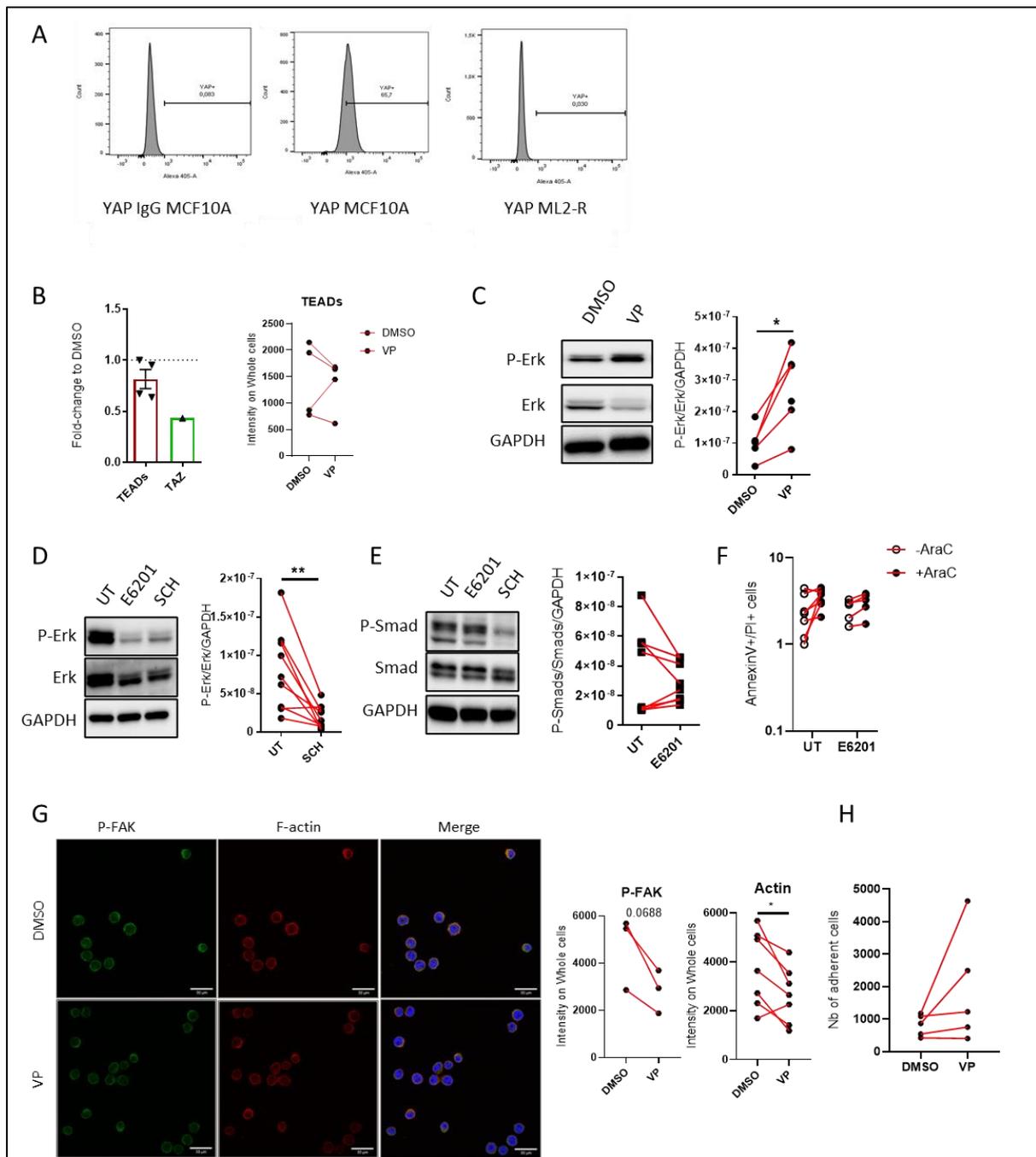
Suppl Fig 1: Adherent and stiffness characteristics of resistant cells: (A) Proliferation assay on ML2S and OCI-AML3S after 72H of Ara-C treatment. (B) Number of adherent cells between OCI-AML3-S and OCI-AML3-R \pm SEM. (C) Ratio of resistant to sensitive cells of CD123 MFI from ML2 and OCI-AML3 \pm SEM. (D) AFM on ML2-S (red) or ML2-R (grey) cells. (E) Flotillin1 staining on ML2-S and ML2-R cells (n=1) (F) Number of adherent cells after 2h of blebbistatin treatment prior to adhesion. (G) MFI of $\beta 1$ integrin after 2h of Blebbistatin treatment on ML2-R (left panel) or OCI-AML3-R (right panel).



Suppl Fig 2: Genes expression at diagnosis and prognosis factors. (A-C) RNA expression at diagnosis from dataset GSE147515. (A) Expression for ion channel: Piezo, TRPM2. (B) Expression of BMP target gene ID1 and receptor BMPR1B. (C) Expression for YAP/TAZ elements pathway: TEAD4, Cyr61. (D-E) Event Free Survival (EFS) curve made from diagnosis expression from dataset GSE147515. (D) EFS on YAP/TAZ signalling: EFS from TAZ expression, TEAD4 and cyr61 expression. (E) EFS regarding ID1 expression.



Suppl Fig 3: BMP signalling characterisation. (A) ELISA of BMP4 secreted by MSC either coming from NBM or AML-BM after 72H of confinement \pm SEM. (B-D) Phosphorylation level of Smad (B), Erk (C) and p38 (D) quantified by ImageLab in ML2-S and ML2-R at basal level \pm SEM. (E) Expression of BMP target genes id1, id2, runx1, runx3 in ML2-S and ML2-R at basal levels \pm SEM. (F) Phosphorylation of Erk pathway after 30min of BMP4 treatment in ML2-S and ML2-R \pm SEM. (D) Twist1 expression after 48h of BMP4 treatment. (E) Immunofluorescence for Smad1 in ML2-R UT or after 1h of BMP4 stimulation.



Suppl Fig 4: Dialogue between TAZ/TEAD and BMPR1B/ERK. (A) FACS for YAP protein expression. (B) Decrease of TAZ and TEADs protein level in Western-Blot and IF after 24H of VP treatment in ML2-R. (E) ERK signalling after 24H of VP treatment in ML2-R. (D) ERK and (E) Smad signaling after 24h of SCH772984 (SCH) treatment in ML2-R and its quantification. (F) Percentage of double stained AnnexinV/PI cells after 48H of E6201 treatment in ML2-R. (G) P-FAK and F-Actin representative immunostaining and their quantification using Fiji software in ML2-R adherent to Fn treated with VP for 24H. (H) Number of adherent cells on Fn coated coverslip after 24H of VP treatment.

DISCUSSION

POINTS CLE :

- Les cellules LAM résistantes à la chimiothérapie (Ara-C) sont plus adhérentes que les cellules sensibles.
- L'expression du récepteur BMPR1B permettrait de prédire le temps avant rechute des patients, et leur réponse au traitement.
- Le récepteur BMPR1B serait régulé par les forces mécaniques telles que la rigidité matricielle ou le confinement des cellules.
- La voie TAZ/TEADs est exprimée dans les cellules résistantes et régulerait les propriétés de chimiorésistance des cellules.
- Les voies BMPR1B/ERK et TAZ/TEADs modulent l'activité des intégrines.
- L'inhibition de ces deux voies en combinaison avec l'Ara-C permet la déplétion des cellules leucémiques résistantes dans un modèle complexe de système 3D reproduisant de la moelle osseuse humaine.

CONCLUSIONS & DISCUSSIONS :

Durant ma thèse, je me suis intéressée à comprendre les mécanismes de résistance des cellules LAM à l'Ara-C, en me concentrant sur les voies de mécanotransduction BMP et YAP/TAZ. Les patients atteints de LAM ont un taux de mortalité élevé, surtout ceux ayant un profil moléculaire et génétique lié à un mauvais pronostic (Döhner et al. 2022), dont les cellules présentant un caryotype complexe. Les lignées utilisées dans cette étude font toutes deux parties de cette catégorie, avec des mutations sous-jacentes différentes. De plus, les cellules résistantes de ces deux lignées présentent des caractéristiques communes : une expression de BMPR1B, de TEADs et de *cyr61* élevées mais une absence de YAP, une adhésion plus importante et la présence de $\beta 1$ intégrine élevée. Certains mécanismes peuvent donc être transversaux à différents sous-types de LAM. De plus, nous développons d'autres modèles de résistance au Venetoclax et au Vidaza, afin d'étudier si ces mécanismes seraient transversaux à d'autres résistances. Cela constituerait un argument de poids pour développer des molécules spécifiques afin d'améliorer la survie et la qualité de vie des patients.

L'impact des rigidités intrinsèques et extrinsèques :

Le rôle de la rigidité intrinsèque et des intégrines dans l'adhésion :

Parmi les propriétés communes, ML2-R et OCI-AML3-R adhèrent mieux et expriment l'intégrine $\beta 1$ de manière plus importante à la surface de la cellule comparées aux cellules sensibles.

L'adhésion des cellules leucémiques promeut la chimiorésistance (D. Li et al. 2018) et certaines études soulignent aussi le rôle de l'intégrine $\alpha 4\beta 1$ (VLA-4) en tant que médiateur de cette adhésion (Matsunaga et al. 2003; Jacamo et al. 2014). L'acquisition du complexe VLA-4 promeut la résistance par l'augmentation de protéines anti-apoptotiques (Bcl2) des cellules adhérentes à la fibronectine (Fn) (Matsunaga et al. 2003). Mis dans un environnement plus complexe, l'interaction des cellules leucémiques avec les cellules stromales active la voie NF κ B chez ces dernières. Celui-ci promeut l'adhésion des cellules leucémiques par l'expression de facteurs solubles ou de surface (Jacamo et al. 2014). Récemment Li et al. (2022) montrent que l'ARN de l'intégrine $\alpha 4$ est stabilisée par l'ajout d'une méthylation m⁶A par l'enzyme METTL3. La surexpression de METTL3 dans les cellules résistantes à l'idarubicine, et non à l'Ara-C, augmente leur capacité de migration et de homing, aussi bien in vitro qu'in vivo (M. Li et al. 2022). Dans nos conditions, il semblerait que l'intégrine $\beta 1$ soit impliquée, les cellules résistantes l'exprimant de manière plus importante. Cependant, il reste encore à déterminer si elle est bien un des éléments centraux de cette résistance. Un premier essai avec l'anticorps bloquant contre l'intégrine $\beta 1$ (clone P4C10) ne suggère pas de changement important sur l'adhésion à 24H, ni dans la prolifération sur 72H (data non montrées). Par la suite, en plus de répéter ce résultat, ce traitement nous servira à étudier l'impact de l'intégrine $\beta 1$ sur les effecteurs en aval (Smad, ERK, TAZ/TEAD...). Cependant, il est à noter que l'anticorps n'est pas spécifique de la paire d'intégrine $\alpha 4\beta 1$, seulement de $\beta 1$, ce qui pourrait expliquer un effet réduit du traitement.

L'adhésion des cellules résistantes n'est pas uniquement causée par l'augmentation des intégrines. Elle peut être liée à la rigidité intrinsèque de la cellule, plus particulièrement à la déphosphorylation des protéines ERM. L'ezrine fait partie des protéines ERM avec la radixine et la moésine, reliant des protéines transmembranaires au cytosquelette d'actine. Son expression est associée à une plus faible survie chez les patients LAM (Lipreri da Silva et al. 2021). De manière intéressante, Kihara et al. (2021) démontrent que ce n'est pas tant le cytosquelette d'actine, mais plutôt par la phosphorylation des protéines ERM, qui régulerait l'adhésion des cellules hématopoïétiques. Ce même groupe avait précédemment démontré que la déphosphorylation des protéines ERM médiait l'adhésion des leucocytes, en utilisant la lignée cellulaire des KG1-A, lignée de cellules leucémiques (Tachibana et al. 2020). Par la suite, ils observent notamment que moins la cellule est rigide, plus elle adhère, confirmant nos résultats qu'une forte adhésion chez les ML2-R était reliée avec moins de rigidité intrinsèque. Or, ils montrent aussi que désorganiser le cytosquelette d'actine avec la cytochalasine B, malgré une réduction de la rigidité cellulaire, n'augmentait pas l'adhésion, au contraire. Un autre groupe démontre que l'inhibition de la moésine permet la formation de pseudopodes chez les leucocytes, permettant leur migration à la poursuite d'une bactérie (Xiaowen Liu et al. 2015). Cela s'expliquerait en effet car les protéines ERM phosphorylées stabilisent la conformation de l'actine, qui a besoin d'être dynamique lors de l'adhésion. Utilisant la Blebbistatine, inhibiteur de la myosine II et non de l'actine, il semblerait que les cellules adhèrent mieux. Désorganisant l'architecture du cytosquelette et sa contractilité, la blebbistatine aurait un effet comparable à la déphosphorylation des protéines ERM. De plus, inhiber la contraction cellulaire pourrait aussi entraîner une perte de rigidité. Pour tester cette hypothèse entre contractilité et adhésion, nous pourrions stabiliser l'actine des cellules grâce au traitement par Jasplakinolib afin d'observer l'adhésion. La stabilisation forcée de l'actine devrait empêcher sa réorganisation et prévenir l'effet de la déphosphorylation des ERM et donc l'adhésion. De plus, nous avons remarqué une tendance à l'augmentation de l'intégrine $\beta 1$ à la surface de la cellule après traitement à la Blebbistatine, qui contribuerait à l'adhésion. Ce résultat rejoint celui de Schiller et al. (2013) démontrant que les intégrines $\alpha 5 \beta 1$ n'étaient pas touchées par l'inhibition de la myosine, contrairement à $\alpha V \beta 3$, suggérant que $\alpha 5 \beta 1$ participent principalement à la transmission des forces du cytosquelette.

Revenant sur la rigidité intrinsèque, nous avons démontré que les ML2-R étaient moins rigides que les ML2-S par système micro-fluidique et par AFM. Cependant, la distribution de la population des ML2-R était homogène, alors que celle des ML2-S était beaucoup plus dispersée, avec des clones rigides et d'autres possédant une rigidité semblable aux ML2-R. Cela suggère que la rigidité de la cellule serait un facteur de sélection pour la chimiorésistance. Dans notre modèle, les ML2-S et -R sont polyclonales. Et, après 72h de traitement à l'Ara-C, environ 15% des ML2-S sont toujours vivantes. De plus, certaines ML2-S adhèrent à la Fn même en faible quantité. Les cellules sensibles adhérentes pourraient donc être plus enclines à devenir résistantes. La question de l'initiation de la chimiorésistance est ici posée : une partie des cellules serait intrinsèquement résistante à l'Ara-C. Il n'est cependant pas impossible que d'autres clones l'acquièrent par la suite. De manière intéressante, des cellules sensibles au

traitement deviennent généralement plus rigides (M. Islam et al. 2017). Cependant, celles encore vivantes après 15h de traitement étaient plus souples, rejoignant notre résultat (M. Islam et al. 2017). Ce groupe utilise un système micro-fluidique permettant de trier les cellules par leur rigidité. Cela pourrait nous être utile sur cette question de l'initiation de la chimiorésistance. Pourrait-on corréliser les ML2-S les plus souples comme ayant le plus fort taux de BMPR1B ou de TAZ/TEAD ? Seraient-elles plus adhérentes et plus résistantes ?

Par la suite, nous pourrions même imaginer mesurer la rigidité intrinsèque des cellules primaires afin d'avoir une idée sur leur réponse au traitement et anticiper ainsi la ligne thérapeutique.

Par ailleurs, les ML2-R présenteraient un cytosquelette d'actine plus important que les ML2-S. Alors que cela pourrait augmenter leur capacité à former des adhésions focales, il est généralement admis que la présence d'actine rigidifie la cellule (Pogoda et al. 2012; Wakatsuki 2000; Kihara et al. 2021), et non l'inverse. Ces études comparent des cellules saines ou bien regardent les différences entre cellules saines et tumorales. On pourrait imaginer que pour des propriétés d'invasion ou d'adhésion plus importantes, l'actine soit régulée différemment entre cellules cancéreuses sensibles ou résistantes à un traitement. De plus, l'actine n'est pas le seul membre du cytosquelette à réguler la rigidité intrinsèque. La présence de microtubules (Swiatlowska et al. 2020) ou de cholestérol (Shentu et al. 2010) respectivement augmente ou diminue la rigidité intrinsèque. Un résultat préliminaire (n=1) montre un taux de Flotilline-1 plus important dans les ML2-R comparées aux ML2-S. Les flotillines sont partenaires des radeaux lipidiques et cela suggèrerait que la membrane plasmique des ML2-R soit composée de plus de cholestérol, et ainsi moins rigide.

Rôle de la rigidité extrinsèque :

De manière intéressante, les propriétés même de l'environnement modulent cette adhésion. Puisque les cellules leucémiques, de même qu'hématopoïétiques, transitent entre niche endostéale et périvasculaire, il était intéressant de tester des substrats de rigidité différente. Nous avons utilisé des hydrogels commerciaux ayant une rigidité faible (0,5kPa) et forte (4kPa) afin de représenter ces différentes niches médullaires proposées entre 0,3 et 30kPa. De façon contre-intuitive, les ML2-R adhèrent mieux sur substrat mou et présentent un fort cytosquelette d'actine et une activation importante de P-FAK, comparées aux ML2-R sur 4kPa. Généralement les substrats rigides entraînent un étirement de la cellule plus important que des substrats souples (Engler et al. 2004), corrélé avec une augmentation de la présence et du remodelage d'actine (Gupta et al. 2015), afin de répondre à la rigidité du substrat par mécano-réciprocité. Cependant, nous observons le contraire, l'intensité de l'actine et de FAK phosphorylé est diminuée dans les ML2-R sur substrat rigide. Cela suggère premièrement que les intégrines sont moins activées dans ce cas-ci, et que les adhésions focales sont de plus faible intensité, par conséquent, les cellules se détacheraient plus facilement. Ces résultats vont à l'encontre de Du et al. (2011) démontrant que le recyclage des intégrines se fait plus lentement sur substrats durs. Une autre hypothèse serait la régulation des adhésions focales elles même. Il a été montré que YAP, mais non TAZ, régulerait les adhésions focales (Nardone

et al. 2017). Face à l'absence de YAP dans notre modèle, il serait donc possible que TAZ ne puisse compenser cette perte. Une autre possibilité, bien plus pragmatique et méthodologique, serait que le tapis de Fn ait été assimilé différemment entre 0,5kPa et 4kPa. Pour valider cela, d'autres outils existent, notamment des hydrogels de polyéthylène dont la rigidité change au contact avec des UV (C. Yang et al. 2014). Un autre élément à considérer est que les hydrogels n'aient pas absorbé la Fn de manière similaire. L'organisation, l'accessibilité, la distance de la Fn pourrait avoir changé et ainsi réduire l'affinité des cellules à la Fn (Q. Sun et al. 2022). L'hydrophobicité du substrat change aussi la conformation de la Fn (Michael et al. 2003). Sur les différences de résultats que l'on observe entre hydrogels et les immunofluorescences faites sur lamelles de verre, les deux ont été recouverts de Fn de la même manière et à la même concentration. Le verre étant considéré bien plus rigide que les hydrogels, les cellules ne seraient donc que très peu adhérentes si l'on garde le postulat ci-dessus. Or, ce n'est pas le cas. La dénaturation différente de la Fn pourrait donc aussi réguler la mécano-réciprocité de la cellule. Cependant entre hydrogels et verre, les différences de rigidité et de substrats sont bien plus importantes, ce qui pourraient engager de nouveaux comportements cellulaires.

Néanmoins, le résultat biologique d'une préférence pour les substrats plus mous ne serait pas aberrant. Déjà étant moins rigides elles même, les ML2-R dépenseraient moins d'énergie à adhérer sur des substrats mous que rigides. De plus, il semblerait que la souplesse du substrat rende les cellules plus chimiorésistantes. Que ce soit en régulant la prolifération et leur quiescence, comme dans le cancer du sein (Feng et al. 2013) ou du foie (Tian et al. 2019), ou en régulant leur autorenouveaulement comme dans l'ostéosarcome (Y. Li et al. 2020), les substrats mous semblent maintenir la chimiorésistance des cellules. Malgré tout, certaines cellules adhèrent sur le substrat à 4kPa. Mise à part l'adhésion, nous n'avons pas investigué d'autres fonctions pour le moment, notamment la quiescence. Ce pourrait être effectué par l'utilisation d'un système FUCCI (Fluorescence Ubiquitination Cell Cycle Indicator), permettant d'identifier les différentes phases du cycles cellulaires par l'expression de protéines-fusion fluorescentes. Ce système a déjà été utilisé pour démontrer la quiescence des cellules chimiorésistantes et leur habilité à induire l'angiogenèse dans des tumeurs d'adénocarcinomes (Yano et al. 2016).

BMPR1B, senseur de la cellule :

Une autre caractéristique que partagent lignées résistantes et patients après rechute est l'augmentation de BMPR1B.

BMP et leur régulation par la mécanique :

Le récepteur BMPR1B semble être mécano-sensible comme son intensité baisse avec l'augmentation de rigidité. Il semble aussi se relocaliser lors du confinement des cellules, orienté vers les cellules stromales. Il est imaginable que les cellules soient comprimées lors de l'évolution de la maladie. Notamment lors de l'initiation ou de la rechute, les cellules prolifèrent excessivement dans l'espace non-élastique qu'est l'os. De plus, la pression

intramédullaire des patients LAM est augmentée (Petrakis et al. 1954). La relocalisation du récepteur BMPR1B pourrait donc permettre une meilleure communication intercellulaire entre cellules leucémiques et stromales.

Il existe d'autres exemples où la mécanique extrinsèque ou intrinsèque régule la voie BMP. Avec la rigidité, le recyclage des intégrines et des récepteurs BMP est diminué, stabilisant leur activité et régulant la différenciation des CSM (Du et al. 2011). Guo et al. (2019) vont plus loin en démontrant que ce processus est possible grâce à PINCH-1. Formant un complexe avec ILK (Integrin Linked Kinase) et Parvin, PINCH-1 est un composant important pour l'adhésion cellulaire et les adhésions focales (Karaköse et al. 2015). Son expression est augmentée avec la rigidité, stabilisant les intégrines à la membrane (L. Guo et al. 2019). Ainsi, la rigidité du substrat activerait la voie des BMP et des intégrines. Nos résultats montrent l'inverse, P-FAK et BMPR1B diminuent d'intensité avec la rigidité. Est-ce dû à la spécificité du modèle hématopoïétique ou bien de la chimiorésistance ?

Par ailleurs, la voie BMP/ERK dialogue avec celles des intégrines. Fourel et al. démontrent un dialogue entre les intégrines $\alpha\beta3$ et BMPR1 modulant la prolifération et la différenciation cellulaire (Fourel et al. 2016). D'autres montrent que l'intégrine $\beta1$ active la voie ERK pour inhiber les Smads (Lian et al. 2019) ou à l'inverse, que l'inhibition de l'intégrine $\beta1$ inhibe l'expression des gènes cible BMP malgré le maintien de la phosphorylation des Smads (Sabra et al. 2017). L'inhibition de BMPR1B/ERK par l'E6201 démontre une diminution de l'intégrine $\beta1$, suggérant un premier dialogue entre ces voies dans nos cellules, BMPR1B/ERK régulant positivement les intégrines. Cependant, nous n'en savons pas plus concernant la régulation inverse. Utilisant l'anticorps bloquant contre l'intégrine $\beta1$, nous pourrions étudier son effet sur la phosphorylation des Smads ou de ERK, de même que de l'expression des gènes-cible des BMP. L'étude de Sabra et al. (2017) suggère aussi que la localisation et non seulement l'activation des Smads importe. Cela suppose que les Smads étaient activées mais empêchées d'aller dans le noyau, ou bien qu'elles ne soient pas allées sur leur site de prédilection des SBE (Smad Binding Element) mais autre part sur l'ADN. Dans le contexte des LAM, au niveau basal, les ML2-R ont tendance à avoir plus de Smads phosphorylées, pourtant, leurs gènes-cible sont moins exprimés que dans les ML2-S. De plus, Smad1 est rarement retrouvé dans le noyau sous forme de foci dans les ML2-R en adhésion, et ce même après 1h de traitement BMP4. Il semblerait que ce puisse soit être un problème de cinétique ou que la Smad 5 ou 8 soit à l'origine de cette réponse au BMP4, ce qui expliquerait notamment l'absence de translocation nucléaire. Cela peut aussi suggérer qu'un autre complexe s'associerait avec les Smads.

La médiation de ERK par les intégrines est aussi décrite, notamment au travers de Ras, qui est elle-même activé par FAK. Dans les ostéoblastes, l'intégrine $\beta3$ peut activer FAK/ERK, ce dernier entraînant la phosphorylation de Smad1/5, l'expression de p21, et un arrêt de prolifération (H.-H. Kim et al. 2003). 20 ans plus tard, Song et al. (2022) démontraient même que le stress mécanique sur des chondrocytes de rats activait les intégrines $\alpha\beta3$, FAK et ERK (Song et al. 2022). FAK, en médiant les adhésions focales, est au cœur de la régulation de ERK. Son inhibition par la fisetine prévient le signal de fibrose dans les cicatrices fibrotiques et

relocalise ERK dans le cytoplasme (Lu et al. 2022). Les ML2-R, exprimant fortement FAK lors de l'adhésion, activeraient d'autant plus ERK et induiraient potentiellement la quiescence. Ceci pourrait être vérifié par l'utilisation du système Fucci et la quantification de la voie ERK post adhésion.

De plus, il existe une boucle régulatrice où ERK peut activer l'expression des intégrines. Dans les disques vertébraux, l'adhésion des cellules à la Fn augmente les intégrines $\alpha 5\beta 1$ de même que ERK (Xia et Zhu 2011). L'inhibition de ERK décroît aussi l'expression des intégrines (Xia et Zhu 2011). Ce résultat rejoint notre effet de l'E6201 sur les intégrines où l'inhibition de BMPR1B/ERK diminue aussi la présence de l'intégrine $\beta 1$ sur la surface cellulaire.

L'E6201 inhibe BMPR1B et MEK (Weiguo Zhang et al. 2016). Malgré cela, le traitement à l'E6201 entraîne une réduction de prolifération qui n'est pas liée à l'apoptose. De plus, il semble ne pas avoir le même impact sur les gènes-cible des BMP, *id1* paraît bénéficier d'une régulation propre. Alors que le reste des gènes IDs ou Runxs tendent à être sur-exprimés après 24h de traitement, ce n'est pas le cas d'ID1. Comme ID1 est aussi un gène régulé par la voie YAP/TAZ (Alarcón et al. 2009), il se pourrait que l'expression de ce gène soit dépendant de cette voie et serait moins impacté par l'inhibition de BMPR1B/ERK. Il serait intéressant de tester si la combinaison de traitements E6201 et BMP4 inhibe ou non l'expression d'ID1.

Il serait intéressant d'étudier plus précisément ces mécanismes, en premier lieu par l'utilisation d'outils plus spécifiques. Pour contre-carrer l'E6201, et investiguer le rôle du BMPR1B dans notre étude, nous avons aussi essayé d'autres outils. En effet, contrairement à la LMC (Jeanpierre et al. 2021), l'utilisation de l'E6201 a des effets indésirables sur la voie MEK, inhibant aussi ERK et p38. Le K22088 est décrit comme inhibant plus fortement BMPR1B que BMPR1A, de même qu'une diminution franche et robuste de la phosphorylation des Smads lorsqu'employé à 100nM. La diminution de la phosphorylation est peu visible après 24H de traitement, d'où l'arrêt de son utilisation. Le LDN193189 a été aussi essayé. Ciblant différents récepteurs de type I, il n'est pas spécifique à BMPR1B, provoquant une diminution de la phosphorylation des Smads. Néanmoins, il diminuerait la prolifération des cellules après 72H de traitement. Cependant, cette prolifération est similaire avec ou sans addition d'Ara-C. Originellement à la recherche d'un retour de sensibilité au traitement, ce constat m'a fait aussi abandonner le LDN193189. Afin de valider le résultat avec l'E6201 sur l'implication d'une diminution de prolifération par la voie BMP, nous pourrions utiliser de nouveau le LDN193189 et, étudier l'apoptose ou non des cellules. Au vu de la limitation d'outils chimiques pour l'inhibition de BMPR1B, nous avons aussi essayé de développer un shRNA ciblant le récepteur. Inductible, il permet d'exprimer la GFP dans les cellules infectées post traitement à la Doxycycline. Les cellules induites expriment moins de BMPR1B et semblent moins répondre au BMP4 par la transcription d'ID1. Cependant, le taux protéique du récepteur comme de la phosphorylation des Smads (data non montrées) semble constant. De plus, son utilisation ne semblait pas changer la prolifération ou la mort cellulaire en contact avec l'Ara-C. C'est pourquoi, le ciblage spécifique de BMPR1B est compliqué et que son rôle dans notre modèle est encore mal défini.

Cependant, les patients ayant un fort taux de BMPR1B au diagnostic rechutent plus rapidement que les autres, et son expression est augmentée post rechute comparée au diagnostic. Cela suggère que BMPR1B est impliqué dans la chimiorésistance d'une manière ou d'une autre. Nos résultats tendent plus vers un rôle de senseur de l'environnement qu'étant responsable de la résistance elle-même. Les cellules exprimant BMPR1B auraient donc un avantage pour s'adapter à la présence de chimiothérapie au long terme. Il serait un facteur parmi d'autres pour cette lutte contre l'Ara-C, certainement par le captage de signaux mécaniques et moléculaires de BMP4. Cependant, dans un système complexe incluant cellules stromales surexprimant du BMP4 et cellules endothéliales, nous observons une déplétion dans le nombre de cellules primaires résistantes CD45+ après deux semaines d'alternance d'ajout et d'arrêt de traitement par la combinaison de l'E6201 et de l'Ara-C. Cela suggère que l'inhibition de l'axe BMPR1B/ERK joue un rôle dans la résistance, ou tout du moins l'adhésion des cellules dans la niche. L'expérience se répète avec les ML2-R. Il est à souligner que l'E6201 touche aussi les mutations FLT3 (Weiguo Zhang et al. 2016). Le groupe confirme qu'ERK est inhibé, d'autant plus dans les lignées Ras mutés, même en l'absence de mutations FLT3 (Weiguo Zhang et al. 2016). Cela rejoint nos résultats, les ML2 et les OCI-AML3 sont toutes deux FLT3 WT, et mutés sur N-Ras et K-Ras respectivement. Cependant, ils démontrent une augmentation de l'apoptose, ce que nous ne retrouvons pas. On peut donc exclure le rôle de FLT3 dans les lignées, cependant, nous ne connaissons pas le statut FLT3 des échantillons de LAM primaires utilisés. Il reste donc possible que l'E6201 agisse sur cette mutation en plus de BMPR1B/ERK dans ce cas-ci.

L'importance du BMP4 :

Il est connu que la voie BMP, de même que TGF β , peut avoir une activité anti- ou pro-cancéreuse (Bach, Park, et Lee 2017). Nous nous sommes concentrés sur l'étude de l'interaction BMPR1B-BMP4 pour plusieurs raisons. Dans les leucémies, que ce soit Leucémie Myéloïde Chronique ou LAM, il semblerait que le BMP4 joue un rôle important. Retrouver surexprimé dans le plasma médullaire des deux types de leucémies (Laperrousaz et al. 2013; Voeltzel et al. 2018), cependant, il ne semble pas provenir des CSM ((Binato et al. 2015; Azevedo et al. 2021; Voeltzel et al. 2018) lorsque cultivés en 2D. Cependant, nos résultats suggèrent que son expression voire sécrétion pourraient être augmentées lorsque les cellules sont confinées. Nous avons donc testé deux types cellulaires retrouvés dans la moelle osseuse et connus pour moduler la voie BMP. Le confinement d'une lignée de cellules endothéliales (HMEC-1) ou de cellules primaires de CSM provenant de moelle osseuse LAM entraîne une expression plus importante de BMP4. De manière intéressante, les CSM de moelle normale tendent à l'inverse à exprimer plus de BMP2. Cela suggère que le confinement cellulaire dérégulerait l'expression de cytokines dans la moelle osseuse en fonction des conditions pathologiques ou non. Il pourrait être un acteur important dans l'expansion voire la persistance des cellules leucémiques dans la moelle osseuse, en réponse aux traitements.

Pour étudier plus en profondeur le rôle du BMP4, il serait intéressant de voir la localisation des cellules dans un système complexe. Il est possible de réaliser des coupes du système 3D

utilisé par l'équipe afin de faire de l'immunofluorescence multiplexe. Dans ce cas-ci, on pourrait voir la localisation des différents types cellulaires (cellules leucémiques, endothéliales et stromales), mais aussi, celle du BMP4 : en retrouve-t-on à l'interface entre cellules stromales et leucémiques ? En plus du BMP4, nous pourrions aussi regarder BMPR1B dans les cellules leucémiques, est-il près des cellules stromales ? Est-il au contact avec le BMP4 ? Nous pourrions aussi marquer des protéines de la MEC afin de mieux comprendre la dynamique entre MEC et ligand. Une autre expérience serait de mettre des cellules Fucci pour imager le cycle cellulaire des cellules leucémiques et voir quel est l'environnement proche des cellules quiescentes ou en prolifération. De plus, nous pourrions peut-être relier un marqueur avec une fonction : est-ce que les cellules quiescentes seraient majoritairement BMPR1B+ ? Ou à proximité de BMP4 ?

En effet, BMP4 régule la quiescence (Jeanpierre et al. 2021) et la résistance par expression de TWIST-1 (Grockowiak et al. 2017) dans la Leucémie Myéloïde Chronique. De plus, il permet la dédifférenciation des cellules leucémiques dans la LAM par le biais de BMPR1A (Voeltzel et al. 2018) de même que l'induction de *mixl1* promouvant des propriétés anti-apoptotiques (Raymond et al. 2014) au diagnostic. Il est aussi un facteur de résistance dans les LAM à caryotype normale surexprimant le gène *ELL* (Zha et al. 2023). Dans notre étude, la stimulation des cellules leucémiques par du BMP4 soluble active principalement les Smad1/5/8 et l'expression spécifique de *id1*. ID1, (Inhibitor of Differentiation-1), régule la stemness et la quiescence des cellules. Dans le modèle neural, la stimulation de BMP entraîne la quiescence des cellules souches neurales (Marqués-Torrejón et al. 2021) et les cellules exprimant fortement ID1 sont des cellules souches neurales de type B capables de se diviser asymétriquement (Nam et Benezra 2009). Il est aussi dérégulé lors de cancers : associé avec un mauvais pronostic dans le cancer du sein (Garcia-Escolano et al. 2021), ou promouvant l'initiation du cancer colorectal (O'Brien et al. 2012), ou de LAM t(8 ;21) (L. Wang et al. 2015). En effet, ID1 permet l'immortalisation des progéniteurs hématopoïétiques in vitro mais l'initiation d'un syndrome myélodysplasique dans le modèle murin (Suh et al. 2009). De plus, il est aussi couramment associé avec la résistance (Z. Zhao et al. 2020). Cela suggère que comme pour la LMC, BMP4 maintiendrait la résistance des LAM, non pas via Twist-1 dont l'expression n'augmente pas avec un traitement BMP4, mais plutôt par l'expression spécifique d'ID1. D'autant plus stimulé en présence de BMP4, l'interaction avec le micro-environnement resterait donc primordiale pour maintenir cette résistance.

En effet, les ligands peuvent être intégrés dans la MEC. C'est le cas du TGF β , qui est sécrété et lié à la matrice pour mieux réguler spatialement les CSH (Jiang et al. 2018; Yamazaki et al. 2011; M. Zhao et al. 2014). Les BMP se retrouvent aussi liés à la MEC, notamment BMP4 qui se lie au collagène IV chez la Drosophile. Par ce fait, le champ d'action de BMP4 est limité par la localisation régulée du collagène (X. Wang et al. 2008) ; ces mêmes protéines de collagène tapissant et rigidifiant la moelle osseuse dans la LAM (Kuter et al. 2007). De plus, l'effet des BMP dure plus longtemps dépendamment de si elles sont liées à la matrice et comment (Gilde et al. 2016, Seftow-Werner et al. 2020). Il serait donc intéressant de mesurer la quantité de

BMP4 dans le plasma des moelles de patients après rechute pour voir si elle serait d'autant plus augmentée qu'au diagnostic. Néanmoins, même en absence de changement dans le compartiment soluble, peut-être que la quantité de BMP4 intégrée dans la matrice est plus élevée. Ceci maintiendrait d'autant plus la persistance des cellules leucémiques résistantes et adhérentes aux substrats même sous traitement. Le BMP4 ayant des effets différents sur la prolifération ou la différenciation des CSH dépendamment de sa concentration (Bhatia et al. 1999), il serait intéressant d'étudier si le BMP4 a le même effet sur les cellules selon sa forme (soluble ou intégré à la matrice), ou sa concentration. Notamment, nous pourrions regarder la régulation d'ID1 et de l'équilibre quiescence/prolifération grâce au système Fucci. On pourrait imaginer que post expansion des cellules LAM dans la moelle, les CSM et cellules endothéliales confinées sécrètent du BMP4 soluble, ce qui maintiendrait l'expansion myéloïde. Certaines molécules s'intégreraient dans le collagène sur lequel des clones BMPR1B+ viendraient adhérer. Après déplétion par la chimiothérapie, ces clones resteraient quiescents, jusqu'à l'apparition d'un autre signal qui les pousserait à proliférer de nouveau, comprimant la moelle et entraînant la sécrétion de BMP4 soluble, etc.

Ainsi, la voie BMP, par l'interaction BMPR1B-BMP4, aiderait à la sélection des clones résistants tout en reconnaissant l'environnement moléculaire, physique et cellulaire de la moelle osseuse. Les intégrines via ERK permettraient aussi la régulation de la voie BMP et de la tension cellulaire par la formation des adhésions focales.

TAZ/TEAD, acteur du remodelage du cytosquelette et mort cellulaire :

Une autre particularité des lignées résistantes étudiées est la surexpression de TEADs et *cyr61*, de même que de TAZ. Nous avons observé la même tendance chez les patients après rechute comparé au diagnostic. Tous trois sont des éléments de la voie YAP/TAZ régulant la polarisation des cellules mais aussi leur prolifération dépendamment de l'environnement.

Rôle de TAZ/TEAD dans la survie :

La voie YAP/TAZ, de même que TEAD4, est décrite pour son rôle oncogénique dans différents cancers (Panciera et al. 2017). L'expression même de YAP permettrait de décrire différents comportements cellulaires selon les cancers. Pearson et al. 2021 mettent en effet en évidence des cancers dits YAP^{on} ou YAP^{off}, où cancers semi-solides et leucémies tombent dans la deuxième catégorie. Selon l'étude, la réexpression de YAP dans les cancers YAP^{off} amène à l'expression d'intégrines et de protéines de la MEC, entraînant une stase dans prolifération cellulaire médiée notamment par les intégrines $\alpha\beta 5$ (Pearson et al. 2021). Des études dans les myélomes multiples rejoignent ce postulat, l'expression ectopique de YAP/TAZ dans les cellules ayant un effet anti-tumoral (Maruyama et al. 2018; Grieve et al. 2019). Nos résultats démontrent que les cellules sensibles, en effet, n'expriment pas, ou peu TAZ et expriment moins de TEADs. A l'inverse, les cellules résistantes expriment plus de TAZ et surtout plus de TEADs. Dans notre cas, l'expression de TAZ et TEADs est endogène et ne sont pas ré-exprimés artificiellement. Ceci pourrait expliquer les différences de comportement cellulaire,

promouvant l'apoptose des cellules dans les études décrites ci-dessus ou la survie dans la nôtre. Une autre explication serait que les études susnommées ne se concentrent pas sur des cellules déjà résistantes aux traitements en cours.

De plus, nous pourrions imaginer que si certains cancers solides transitent de YAP^{on} à YAP^{off} pour échapper au traitement, les cellules leucémiques résistantes pourraient transiter dans l'autre sens ; d'autant plus que l'adhésion deviendrait une propriété importante à acquérir. Aussi, nous pourrions tester cette hypothèse en suivant l'exemple de l'étude de Pearson et al. Réexprimer les protéines TAZ ou TEADs dans les cellules sensibles discriminerait non seulement si TAZ et TEAD ont le même effet, mais aussi si elles entraînent préférentiellement la mortalité ou la survie. A l'inverse, nous pourrions réprimer ces protéines dans les LAM résistantes pour voir si leur survie à l'Ara-C est diminuée. Ce résultat validerait l'augmentation d'apoptose observée lors de traitement à la VP, inhibiteur de TAZ/TEADs, qui semble spécifique aux cellules résistantes, suggérant que TAZ/TEADs participent à la chimiorésistance. De plus, le nombre de cellules primaires résistantes vivantes au sein d'un système complexe qu'est le 3D médullaire est réduit par la combinaison d'Ara-C+VP comparé à l'Ara-C seul. Ceci implique que même dans un système complexe en présence de cellules du stroma (ostéoblastes et cellules endothéliales), les cellules se resensibilisent ; et ce malgré l'augmentation de l'intégrine $\beta 1$, du CD47 ou du CD123 généralement impliqués dans la résistance. Néanmoins, tous les échantillons ne réagissent pas de la même manière, et nous ne connaissons pas encore le statut de la voie TAZ/TEAD dans ces cellules, qui sera prochainement vérifié par qPCR.

Régulation entre TAZ/TEAD et le cytosquelette :

La localisation de TAZ/TEAD est régulée par les forces de traction. TAZ est retrouvé dans le noyau lorsque la tension est plus importante (Ege et al. 2018), et lorsque FAK est à la membrane (Eroumé et al. 2021). De manière intéressante, YAP était plus nucléaire sur des substrats mous dans le cancer du sein (C. Liu et al. 2021). Nos résultats vont dans le même sens, l'augmentation de la rigidité diminue l'intensité de l'actine et de P-FAK, suggérant que cela réduirait aussi la localisation de TAZ dans le noyau, ce qui pourrait traduire d'un caractère plus chimiorésistant sur substrats mous. La VP aussi diminue actine et P-FAK, et la quantité d'intégrine $\beta 1$ totale à la surface de la cellule, dans des cellules adhérentes à la Fn. La VP désorganiserait alors le cytosquelette sur un court terme, même si elle ne semble pas avoir un effet notable sur l'adhésion, après 24h de traitement. La re-sensibilisation par la VP et la réorganisation du cytosquelette d'actine est aussi retrouvée dans les cellules résistantes au traitement dans le mélanome : YAP/TAZ restait cytoplasmique lors l'inhibition de la polymérisation ou de la contraction de l'actine par la Cytochalasine B ou la Blebbistatine (M. H. Kim et al. 2016). Cela permettait une meilleure réponse des cellules BRAF-résistantes au traitement (M. H. Kim et al. 2016), résultats rejoignant les nôtres. Fusco et al. (2021) montrent aussi dans leur modèle de neuroblastome que la VP inhibe la migration par le remodelage de l'actine et de la formation de lamellipodes. Elle réduit aussi l'expression des pompes à efflux (transporteurs ABC), augmentant la sensibilité des cellules aux thérapies (Fusco et al. 2021).

Dans les ML2, l'expression des pompes ABC n'étaient pas différentes entre sensibles et résistantes (data non montrées), il nous faudra regarder si elles sont modulées par la VP ou non.

TAZ/TEAD et BMP4 :

De manière intéressante, BMP4 est un gène cible de TAZ/TEAD (Lai et Yang 2013) mais aussi TEAD peut répondre à BMP4 pour la transcription de GATA3 (Home et al. 2012) durant le développement. Dans les MCF10A, lignée mammaire non transformée, l'association TAZ/TEAD4 non seulement permet l'expression et sécrétion de BMP4, mais aussi l'activation des Smad1/5, et ce entraînant la migration cellulaire (Lai et Yang 2013). Il serait intéressant de valider ce résultat dans nos lignées par ChIP seq (Chromatin ImmunoPrecipitation sequencing), et voir si TEAD se fixe sur le promoteur de BMP4. Ce ChIP seq nous permettrait aussi de trouver de nouveaux gènes-cible de TAZ/TEADs, plus spécifiques au compartiment LAM. En effet, nous avons regardé *cyr61* et *ctgf*, cibles largement décrites dans le contexte épithélial, mais d'autres (ANKDR1, AMOLT2...) n'étaient pas exprimés par nos cellules.

Nos résultats montrent aussi que BMP4 permet l'expression d'*id1* et la VP la diminue, de même que la survie des cellules et la phosphorylation des Smads. Un dialogue existe donc entre les voies BMP et TAZ/TEAD. Pour aller plus loin et comprendre la régulation d'*ID1* par ces deux voies, il serait intéressant de mesurer son expression après traitement de VP et BMP4, de même que mesurer le taux de phosphorylation des Smads. BMP4 soluble permettrait peut-être le sauvetage des cellules face à la VP. Cependant, dans un système complexe incluant cellules stromales surexprimant du BMP4 et cellules endothéliales, nous observons une déplétion dans le nombre de cellules primaires résistantes CD45+ après deux semaines d'alternance entre traitement et non traitement par la combinaison d'Ara-C et VP. On ne peut néanmoins pas exclure que dans un système plus complexe d'autres facteurs soient impliqués, provenant des cellules endothéliales et des CSM. A nouveau, l'IF multiplexe au sein du système 3D nous permettrait de visualiser quelles cellules sont TAZ ou TEAD positives et si elles sont à proximité du BMP4 ou non. Cela ne les relierait pas directement avec l'expression de BMP4 par les cellules leucémiques, mais permettrait aussi d'émettre l'hypothèse que BMP4 et voie TAZ/TEADs sont corrélés. De plus, l'intégration du système FUCCI avec le marquage de TAZ ou TEADs permettraient de corréler cycle cellulaire avec la voie TAZ/TEADs.

De plus, nous pourrions investiguer le rôle de BMP4 relié à TAZ/TEADs dans nos cellules. Tout d'abord afin de valider la double interaction entre les deux voies, une collaboration naissante avec S. MERABET (IGFL) nous permettra d'intégrer un système BiFC (Bi-molecular Fluorescence Complementation) dans les ML2-R. Cette technologie couple une protéine d'intérêt avec une séquence N-terminale d'un fluorochrome et une autre protéine d'intérêt avec la séquence C-terminale d'un autre fluorochrome. Si les protéines en question se retrouvent à distance proche, alors la complémentation des protéines fluorescentes opère et un signal lumineux en résulte. Ceci permettra de visualiser en live la localisation du complexe répondant à différents traitements. Ainsi, en réponse au BMP4 ou à la VP, nous pourrions

observer, tout d'abord la formation du complexe TAZ/TEAD4 puis sa localisation. Ce système permettrait aussi la visualisation de ce complexe dans les cellules sur différentes rigidités ou bien confinées et comprendre la régulation de TAZ/TEADs dépendamment de l'environnement dans des cellules leucémiques résistantes. L'ajout de traitements inhibiteurs de BMPR1B ou TAZ/TEAD nous aiderait aussi à comprendre le dialogue des deux voies dans ces conditions. A ce système, nous pouvons y ajouter une technologie TurboID. Déjà utilisé dans l'embryon de xénope (Kanzler et al. 2022) ou dans les cellules mammaires (Cho et al. 2020), cette méthode permet la reconnaissance de protéines partenaires d'un complexe protéiques. Des nanobodies viendront reconnaître le complexe BiFC TAZ/TEAD4, puis après crosslinking, nous pourrions récupérer les protéines interagissant avec le complexe par système de reconnaissance à la streptavidine/biotine. Cela permettrait de trouver d'autres cibles thérapeutiques.

La VP a aussi des propriétés d'inhibition de l'autophagie, bien que son rôle anti-TAZ/TEADs soit bien décrit (C. Wang et al. 2015; H. Wei et al. 2017). Quelques tests avec des inhibiteurs plus spécifiques de la voie YAP/TAZ ont aussi été effectués. Le CA3 est spécifique de YAP alors que le K975 empêche la palmoylation de TEAD. Dans les deux cas, des tests de prolifération au bleu de Trypan n'ont pas été très concluants (data non montrées). Cependant, les cellules sous VP adoptent un phénotype particulier qui les rend la mortalité difficilement discernable au bleu de Trypan. Pour cette dernière, nous avons donc opté pour un test AnnexinV/PI. Cependant, ce test n'a pas été répété avec les autres inhibiteurs, et selon nos hypothèses, le K975 devrait être plus efficace que le CA3.

Ainsi, il semblerait que TAZ/TEADs dans nos cellules participe à la survie cellulaire sous Ara-C et semble dialoguer moléculairement avec BMP. De plus, à l'inverse des BMP, l'axe TAZ/TEAD est généralement couplé à la prolifération et la survie dans les cancers. Dépendamment du contexte, nous pourrions avoir des régulations opposées, entre suspension et adhésion, de même qu'en présence ou non de BMP4.

Deux voies en parallèle ? :

E6201 et VP ont leurs aspécificités. Malgré cela, les deux traitements, combinés à l'Ara-C, permettent la déplétion de cellules primaires de patients après rechute, toujours présentes après Ara-C seul. Cela démontre un rôle important et des possibles cibles à investiguer plus en détails. Les deux inhibiteurs auraient des effets sur la transmission d'un message mécanique, même si à des niveaux différents. Par la régulation de ERK et BMP, l'E6201 modulerait plus les intégrines et l'habilité de la cellule à former des adhésions focales ou à la relocalisation de certains récepteurs à la surface cellulaire. Ces effets entraîneraient une diminution du cycle cellulaire et un détachement des cellules, bien que non visible à court terme (24H) (data non montrées). L'inhibition de TAZ/TEADs par la VP toucherait plus directement l'organisation du cytosquelette d'actine et donc la tension cellulaire. Ceci limite la cellule dans sa réaction de mécano-réciprocité avec l'environnement, et dans son expression génique, entraînant un effet plus cytotoxique d'apoptose cellulaire. Il semblerait

donc que ces deux voies n'interagissent pas directement mais qu'elles soient toutes deux régulées par la tension cellulaire et les intégrines. Ceci pourrait aussi expliquer l'importance des intégrine $\alpha4\beta1$ dans la chimiorésistance, étant partiellement en amont de ces interactions. De plus, nous pourrions aussi mesurer l'apoptose induite – ou non – par l'inhibiteur bloquant contre l'intégrine $\beta1$.

Conclusions :

Ainsi, nous avons souligné l'expression de BMPR1B, et de TAZ/TEADs dans les cellules résistantes à l'Ara-C. Les voies BMP/ERK et TAZ/TEADs sont connues pour être régulées par la mécanique cellulaire et environnementale dans des modèles de cellules adhérentes. Nos travaux montrent la régulation de cellules leucémiques, couramment cultivées en suspension, par cet environnement mécanique. De plus, nous montrons que les cellules résistantes seraient d'autant plus sensibles à cet environnement, notamment par leur capacité à y adhérer. Durant l'évolution de la LAM, de multiples facteurs physiques sont modifiés dans les niches médullaires. Il semblerait que cela affecte la réponse cellulaire au traitement. Les deux voies BMPR1B et TAZ/TEAD auraient des implications complémentaires. BMPR1B serait un atout à acquérir pour la cellule résistante afin de sentir son environnement et engagerait avec BMP4 pour induire l'expression d'*id1* et potentiellement la quiescence ou la prolifération dépendamment de son statut d'adhésion. TAZ/TEAD4 dirigerait plus la survie cellulaire, modulés par les forces de traction externes et internes.

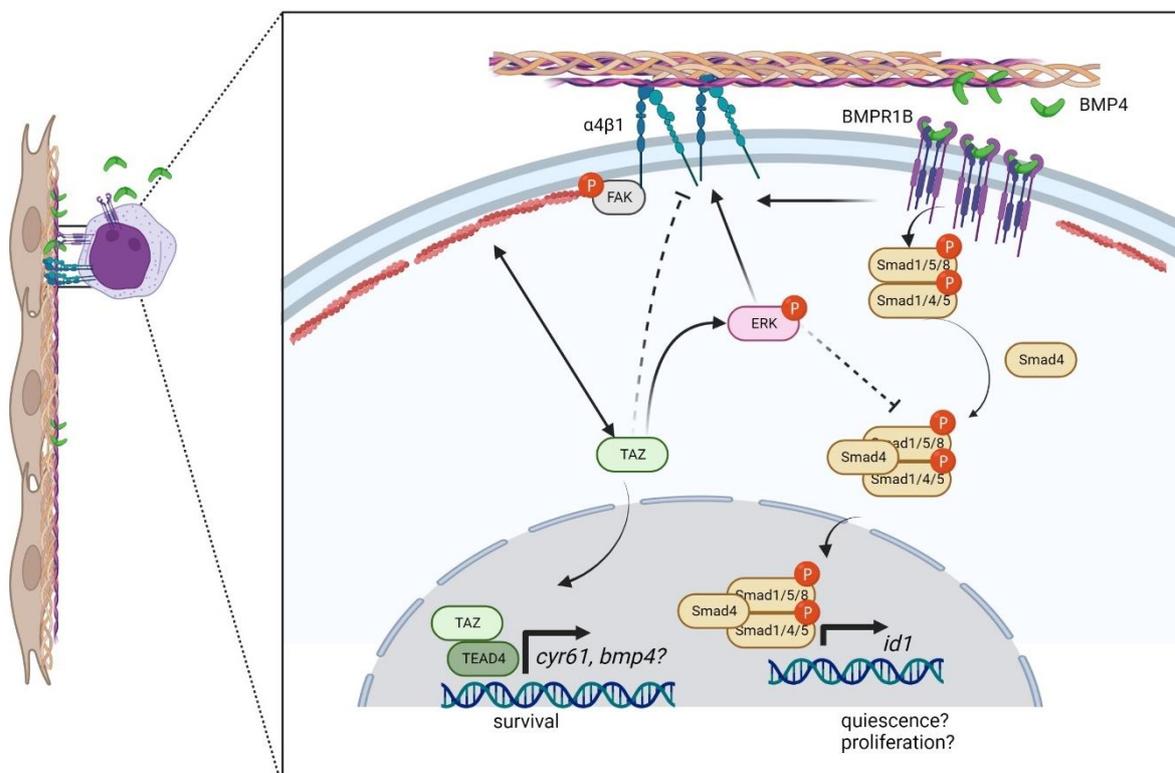


Figure 24 : Modèle proposé pour la régulation de la survie des cellules résistantes dans la LAM. Les voies BMP/ERK fonctionnent en parallèle avec TAZ/TEAD, régulées et régulant l'organisation du cytosquelette et l'activité des intégrines.

Références :

- Aguilar, Alicia, Fabien Pertuy, Anita Eckly, Catherine Strassel, Dominique Collin, Christian Gachet, François Lanza, et Catherine Léon. 2016. « Importance of Environmental Stiffness for Megakaryocyte Differentiation and Proplatelet Formation ». *Blood* 128 (16): 2022-32. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-02-699959>.
- Alarcón, Claudio, Alexia-Ileana Zaromytidou, Qiaoran Xi, Sheng Gao, Jianzhong Yu, Sho Fujisawa, Afsar Barlas, et al. 2009. « Nuclear CDKs Drive Smad Transcriptional Activation and Turnover in BMP and TGF- β Pathways ». *Cell* 139 (4): 757-69. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.09.035>.
- Al-Bulushi, Fatma, Rahma Al-Riyami, Zainab Al-Housni, Bushra Al-Abri, et Murtadha Al-Khabori. 2022. « Impact of mutations in epigenetic modifiers in acute myeloid leukemia: A systematic review and meta-analysis ». *Frontiers in Oncology* 12 (novembre): 967657. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.967657>.
- Amano, Mutsuki, Masaaki Ito, Kazushi Kimura, Yuko Fukata, Kazuyasu Chihara, Takeshi Nakano, Yoshiharu Matsuura, et Kozo Kaibuchi. 1996. « Phosphorylation and Activation of Myosin by Rho-Associated Kinase (Rho-Kinase)* ». *Journal of Biological Chemistry* 271 (34): 20246-49. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.34.20246>.
- An, Yang, Qianqian Kang, Yaofeng Zhao, Xiaoxiang Hu, et Ning Li. 2013. « Lats2 Modulates Adipocyte Proliferation and Differentiation via Hippo Signaling ». Édité par Hong Wanjin. *PLoS ONE* 8 (8): e72042. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072042>.
- Anderson, Nicholas R., Vipul Sheth, Hui Li, Mason W. Harris, Shaowei Qiu, David K. Crossman, Harish Kumar, et al. 2022. « Microenvironmental CXCL12 Deletion Enhances Flt3-ITD Acute Myeloid Leukemia Stem Cell Response to Therapy by Reducing P38 MAPK Signaling ». *Leukemia*, décembre, 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41375-022-01798-5>.
- Anjos-Afonso, Fernando, Erin Currie, Hector G. Palmer, Katie E. Foster, David C. Taussig, et Dominique Bonnet. 2013. « CD34+ Cells at the Apex of the Human Hematopoietic Stem Cell Hierarchy Have Distinctive Cellular and Molecular Signatures ». *Cell Stem Cell* 13 (2): 161-74. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2013.05.025>.
- Aoki, Kazunari, Masako Kurashige, Michiko Ichii, Kei Higaki, Tatsuki Sugiyama, Takashi Kaito, Wataru Ando, et al. 2021. « Identification of CXCL12-abundant Reticular Cells in Human Adult Bone Marrow ». *British Journal of Haematology* 193 (3): 659. <https://doi.org/10.1111/bjh.17396>.
- Aragón, Eric, Nina Goerner, Alexia-Ileana Zaromytidou, Qiaoran Xi, Albert Escobedo, Joan Massagué, et Maria J. Macias. 2011. « A Smad action turnover switch operated by WW domain readers of a phosphoserine code ». *Genes & Development* 25 (12): 1275-88. <https://doi.org/10.1101/gad.2060811>.
- Aragona, Mariaceleste, Tito Panciera, Andrea Manfrin, Stefano Giullitti, Federica Michielin, Nicola Elvassore, Sirio Dupont, et Stefano Piccolo. 2013. « A Mechanical Checkpoint Controls Multicellular Growth through YAP/TAZ Regulation by Actin-Processing Factors ». *Cell* 154 (5): 1047-59. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.07.042>.
- Arai, Fumio, Atsushi Hirao, Masako Ohmura, Hidetaka Sato, Sahoko Matsuoka, Keiyo Takubo, Keisuke Ito, Gou Young Koh, et Toshio Suda. 2004. « Tie2/Angiopoietin-1 Signaling Regulates Hematopoietic Stem Cell Quiescence in the Bone Marrow Niche ». *Cell* 118 (2): 149-61. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.07.004>.
- Arizkane, Kawtar. 2022. « A Human Bone Marrow 3D Model to Investigate the Dynamics and Interactions Between Resident Cells in Physiological or Tumoral Contexts ». 2022. <https://www.jove.com/t/64736/a-human-bone-marrow-3d-model-to-investigate-the-dynamics-and-interactions-between-resident-cells-in-physiological-or-tumoral-contexts>.
- Ayatollahi, Hossein, Arezoo Shajiei, Mohammad Hadi Sadeghian, Maryam Sheikhi, Ehsan Yazdandoust, Masumeh Ghazanfarpour, Seyyede Fatemeh Shams, et Sepideh Shakeri. 2017. « Prognostic Importance of C-KIT Mutations in Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia: A Systematic Review ». *Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy* 10 (1): 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.hemonc.2016.08.005>.
- Azadniv, Mitra, Jason R. Myers, Helene R. McMurray, Naxin Guo, Phil Rock, Myra L. Coppage, John Ashton, Michael W. Becker, Laura M. Calvi, et Jane L. Liesveld. 2020. « Bone marrow mesenchymal stromal cells from acute myelogenous leukemia patients demonstrate adipogenic differentiation propensity with implications for leukemia cell support ». *Leukemia* 34 (2): 391-403. <https://doi.org/10.1038/s41375-019-0568-8>.
- Azevedo, Pedro L., Rhayra B. Dias, Liebert P. Nogueira, Simone Maradei, Ricardo Bigni, Jordana S. R. Aragao, Eliana Abdelhay, et Renata Binato. 2021. « Reduced Osteogenic Differentiation Potential In Vivo in

- Acute Myeloid Leukaemia Patients Correlates with Decreased BMP4 Expression in Mesenchymal Stromal Cells ». *International Journal of Stem Cells* 15 (2): 227-32. <https://doi.org/10.15283/ijsc21138>.
- Azzolin, Luca, Tito Panciera, Sandra Soligo, Elena Enzo, Silvio Bicciato, Sirio Dupont, Silvia Bresolin, et al. 2014. « YAP/TAZ Incorporation in the β -Catenin Destruction Complex Orchestrates the Wnt Response ». *Cell* 158 (1): 157-70. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.06.013>.
- Bach, Duc-Hiep, Hyen Joo Park, et Sang Kook Lee. 2017. « The Dual Role of Bone Morphogenetic Proteins in Cancer ». *Molecular Therapy Oncolytics* 8 (octobre): 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.omto.2017.10.002>.
- Ballermann, Barbara J., Alan Dardik, Eudora Eng, et Ailian Liu. 1998. « Shear Stress and the Endothelium ». *Kidney International*, Renal Hemodynamics: Cellular and Molecular Determinants, 54 (septembre): S100-108. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.1998.06720.x>.
- Barik, Ganesh Kumar, Osheen Sahay, Debasish Paul, et Manas Kumar Santra. 2022. « Ezrin Gone Rogue in Cancer Progression and Metastasis: An Enticing Therapeutic Target ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1877 (4): 188753. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2022.188753>.
- Bartucci, M., R. Dattilo, C. Moriconi, A. Pagliuca, M. Mottolese, G. Federici, A. Di Benedetto, et al. 2015. « TAZ Is Required for Metastatic Activity and Chemoresistance of Breast Cancer Stem Cells ». *Oncogene* 34 (6): 681-90. <https://doi.org/10.1038/onc.2014.5>.
- Battula, V. Lokesh, Phuong M. Le, Jeffrey C. Sun, Khoa Nguyen, Bin Yuan, Ximin Zhou, Sonali Sonnylal, et al. 2017. « AML-Induced Osteogenic Differentiation in Mesenchymal Stromal Cells Supports Leukemia Growth ». *JCI Insight* 2 (13). <https://doi.org/10.1172/jci.insight.90036>.
- Baum, C M, I L Weissman, A S Tsukamoto, A M Buckle, et B Peault. 1992. « Isolation of a candidate human hematopoietic stem-cell population. » *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89 (7): 2804-8. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.7.2804>.
- Ben Shoham, Adi, Chagai Rot, Tomer Stern, Sharon Krief, Anat Akiva, Tali Dadosh, Helena Sabany, Yinhui Lu, Karl E. Kadler, et Elazar Zelzer. 2016. « Deposition of collagen type I onto skeletal endothelium reveals a new role for blood vessels in regulating bone morphology ». *Development (Cambridge, England)* 143 (21): 3933-43. <https://doi.org/10.1242/dev.139253>.
- Bennett, J. M., D. Catovsky, M. T. Daniel, G. Flandrin, D. A. Galton, H. R. Gralnick, et C. Sultan. 1976. « Proposals for the Classification of the Acute Leukaemias. French-American-British (FAB) Co-Operative Group ». *British Journal of Haematology* 33 (4): 451-58. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1976.tb03563.x>.
- Bhatia, Mickie, Dominique Bonnet, Dongmei Wu, Barbara Murdoch, Jeff Wrana, Lisa Gallacher, et John E. Dick. 1999. « Bone Morphogenetic Proteins Regulate the Developmental Program of Human Hematopoietic Stem Cells ». *The Journal of Experimental Medicine* 189 (7): 1139-48.
- Binato, Renata, Nathalia Correa de Almeida Oliveira, Barbara Du Rocher, et Eliana Abdelhay. 2015. « The Molecular Signature of AML Mesenchymal Stromal Cells Reveals Candidate Genes Related to the Leukemogenic Process ». *Cancer Letters* 369 (1): 134-43. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2015.08.006>.
- Bisaria, Anjali, Arnold Hayer, Damien Garbett, Daniel Cohen, et Tobias Meyer. 2020. « Membrane proximal F-actin restricts local membrane protrusions and directs cell migration ». *Science (New York, N.Y.)* 368 (6496): 1205-10. <https://doi.org/10.1126/science.aay7794>.
- Blair, Harry C., Quitterie C. Larrouture, Yanan Li, Hang Lin, Donna Beer-Stoltz, Li Liu, Rocky S. Tuan, Lisa J. Robinson, Paul H. Schlesinger, et Deborah J. Nelson. 2017. « Osteoblast Differentiation and Bone Matrix Formation *In Vivo* and *In Vitro* ». *Tissue Engineering Part B: Reviews* 23 (3): 268-80. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2016.0454>.
- Blau, Olga, Franziska Behrenbeck, Nikola Suckert, Lars R. Fransecky, Claudia D. Baldus, Renate Arnold, Antonio Pezzutto, Bernd Dörken, et Igor Wolfgang Blau. 2016. « DNMT3A Mutations in AML Patients: Prognostic Impact and Comparative Analysis of Mutations Burden in Diagnostic Samples, after Standard Therapy, and after Allogeneic Stem Cell Transplantation ». *Blood* 128 (22): 2891. <https://doi.org/10.1182/blood.V128.22.2891.2891>.
- Bonnet, D., et J. E. Dick. 1997. « Human Acute Myeloid Leukemia Is Organized as a Hierarchy That Originates from a Primitive Hematopoietic Cell ». *Nature Medicine* 3 (7): 730-37.
- Böttcher, Ralph T., Maik Veelders, Pascaline Rombaut, Jan Faix, Marina Theodosiou, Theresa E. Stradal, Klemens Rottner, Roy Zent, Franz Herzog, et Reinhard Fässler. 2017. « Kindlin-2 Recruits Paxillin and Arp2/3 to Promote Membrane Protrusions during Initial Cell Spreading ». *The Journal of Cell Biology* 216 (11): 3785-98. <https://doi.org/10.1083/jcb.201701176>.
- Brown, Eric J., et William A. Frazier. 2001. « Integrin-Associated Protein (CD47) and Its Ligands ». *Trends in Cell Biology* 11 (3): 130-35. [https://doi.org/10.1016/S0962-8924\(00\)01906-1](https://doi.org/10.1016/S0962-8924(00)01906-1).

- Brunner, Molly, Noémie Mandier, Thierry Gautier, Genevieve Chevalier, Anne-Sophie Ribba, Philippe Guardiola, Marc R. Block, et Daniel Bouvard. 2018. « B1 Integrins Mediate the BMP2 Dependent Transcriptional Control of Osteoblast Differentiation and Osteogenesis ». *PLOS ONE* 13 (4): e0196021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196021>.
- Brunner, Patrizia, Nurcan Hastar, Christian Kaehler, Wiktor Burdzinski, Jerome Jatzlau, et Petra Knaus. 2020. « AMOT130 drives BMP-SMAD signaling at the apical membrane in polarized cells ». *Molecular Biology of the Cell* 31 (2): 118-30. <https://doi.org/10.1091/mbc.E19-03-0179>.
- Cai, Huan, Makoto Kondo, Lakshmi Sandhow, Pingnan Xiao, Anne-Sofie Johansson, Takako Sasaki, Joanna Zawacka-Pankau, et al. 2022. « Critical role of Lama4 for hematopoiesis regeneration and acute myeloid leukemia progression ». *Blood* 139 (20): 3040-57. <https://doi.org/10.1182/blood.2021011510>.
- Caliari, Steven R., Maryna Perepelyuk, Brian D. Cosgrove, Shannon J. Tsai, Gi Yun Lee, Robert L. Mauck, Rebecca G. Wells, et Jason A. Burdick. 2016. « Stiffening hydrogels for investigating the dynamics of hepatic stellate cell mechanotransduction during myofibroblast activation ». *Scientific Reports* 6 (février): 21387. <https://doi.org/10.1038/srep21387>.
- Campbell, Iain D., et Martin J. Humphries. 2011. « Integrin Structure, Activation, and Interactions ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 3 (3): a004994. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004994>.
- Carden, Craig P., Adam Stewart, Parames Thavasu, Emma Kipps, Lorna Pope, Mateus Crespo, Susana Miranda, et al. 2012. « The Association of PI3 Kinase Signaling and Chemoresistance in Advanced Ovarian Cancer ». *Molecular Cancer Therapeutics* 11 (7): 1609-17. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-11-0996>.
- Carrelha, Joana, Yiran Meng, Laura M. Kettle, Tiago C. Luis, Ruggiero Norfo, Verónica Alcolea, Hanane Boukarabila, et al. 2018. « Hierarchically Related Lineage-Restricted Fates of Multipotent Haematopoietic Stem Cells ». *Nature* 554 (7690): 106-11. <https://doi.org/10.1038/nature25455>.
- Castellan, Martina, Alberto Guarnieri, Atsushi Fujimura, Francesca Zanconato, Giusy Battilana, Tito Panciera, Hanna Lucie Sladitschek, et al. 2021. « Single-cell analyses reveal YAP/TAZ as regulators of stemness and cell plasticity in Glioblastoma ». *Nature cancer* 2 (2): 174-88. <https://doi.org/10.1038/s43018-020-00150-z>.
- Ceradini, Daniel J., Anita R. Kulkarni, Matthew J. Callaghan, Oren M. Tepper, Nicholas Bastidas, Mark E. Kleinman, Jennifer M. Capla, Robert D. Galiano, Jamie P. Levine, et Geoffrey C. Gurtner. 2004. « Progenitor Cell Trafficking Is Regulated by Hypoxic Gradients through HIF-1 Induction of SDF-1 ». *Nature Medicine* 10 (8): 858-64. <https://doi.org/10.1038/nm1075>.
- Chae, Young Kwang, Wooyoung M. Choi, William H. Bae, Jonathan Anker, Andrew A. Davis, Sarita Agte, Wade T. Iams, Marcelo Cruz, Maria Matsangou, et Francis J. Giles. 2018. « Overexpression of Adhesion Molecules and Barrier Molecules Is Associated with Differential Infiltration of Immune Cells in Non-Small Cell Lung Cancer ». *Scientific Reports* 8 (1): 1023. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19454-3>.
- Challen, Grant A., et Margaret A. Goodell. 2020. « Clonal hematopoiesis: mechanisms driving dominance of stem cell clones ». *Blood* 136 (14): 1590-98. <https://doi.org/10.1182/blood.2020006510>.
- Chambers, Stuart M., Chad A. Shaw, Catherine Gatzka, C. Joseph Fisk, Lawrence A. Donehower, et Margaret A. Goodell. 2007. « Aging Hematopoietic Stem Cells Decline in Function and Exhibit Epigenetic Dysregulation ». *PLOS Biology* 5 (8): e201. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050201>.
- Chan, PuiYee, Xiao Han, Baohui Zheng, Michael DeRan, Jianzhong Yu, Gopala K. Jarugumilli, Hua Deng, DuoJia Pan, Xuelian Luo, et Xu Wu. 2016. « Autopalmitoylation of TEAD Proteins Regulates Transcriptional Output of the Hippo Pathway ». *Nature Chemical Biology* 12 (4): 282-89. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2036>.
- Chao, Mark P., Chris H. Takimoto, Dong Dong Feng, Kelly McKenna, Phung Gip, Jie Liu, Jens-Peter Volkmer, Irving L. Weissman, et Ravindra Majeti. 2019. « Therapeutic Targeting of the Macrophage Immune Checkpoint CD47 in Myeloid Malignancies ». *Frontiers in Oncology* 9: 1380. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01380>.
- Chapellier, Marion, Elodie Bachelard-Cascales, Xenia Schmidt, Flora Clément, Isabelle Treilleux, Emmanuel Delay, Alexandre Jammot, et al. 2015. « Disequilibrium of BMP2 Levels in the Breast Stem Cell Niche Launches Epithelial Transformation by Overamplifying BMPR1B Cell Response ». *Stem Cell Reports* 4 (2): 239-54. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2014.12.007>.
- Chaudhry, Shazia S., Stuart A. Cain, Amanda Morgan, Sarah L. Dallas, C. Adrian Shuttleworth, et Cay M. Kielty. 2007. « Fibrillin-1 Regulates the Bioavailability of TGFbeta1 ». *The Journal of Cell Biology* 176 (3): 355-67. <https://doi.org/10.1083/jcb.200608167>.

- Chen, Junyu, Michelle Hendriks, Alexandros Chatzis, Saravana K Ramasamy, et Anjali P Kusumbe. 2020. « Bone Vasculature and Bone Marrow Vascular Niches in Health and Disease ». *Journal of Bone and Mineral Research* 35 (11): 2103-20. <https://doi.org/10.1002/jbmr.4171>.
- Chen, Min, Jian Wang, Shi-Fei Yao, Yi Zhao, Lu Liu, Lian-Wen Li, Ting Xu, et al. 2017. « Effect of YAP Inhibition on Human Leukemia HL-60 Cells ». *International Journal of Medical Sciences* 14 (9): 902-10. <https://doi.org/10.7150/ijms.19965>.
- Chen, Shu-jen, Lei Bao, Kerry Keefer, Santhanam Shanmughapriya, Longgui Chen, John Lee, JuFang Wang, et al. 2020. « Transient Receptor Potential Ion Channel TRPM2 Promotes AML Proliferation and Survival through Modulation of Mitochondrial Function, ROS, and Autophagy ». *Cell Death & Disease* 11 (4): 1-17. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2454-8>.
- Cheson, Bruce D., John M. Bennett, Kenneth J. Kopecky, Thomas Büchner, Cheryl L. Willman, Elihu H. Estey, Charles A. Schiffer, et al. 2003. « Revised Recommendations of the International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia ». *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 21 (24): 4642-49. <https://doi.org/10.1200/JCO.2003.04.036>.
- Cho, Kelvin F., Tess C. Branon, Namrata D. Udeshi, Samuel A. Myers, Steven A. Carr, et Alice Y. Ting. 2020. « Proximity Labeling in Mammalian Cells with TurboID and Split-TurboID ». *Nature Protocols* 15 (12): 3971-99. <https://doi.org/10.1038/s41596-020-0399-0>.
- Choi, Ji Sun, et Brendan A. C. Harley. 2017. « Marrow-Inspired Matrix Cues Rapidly Affect Early Fate Decisions of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells ». *Science Advances* 3 (1): e1600455. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600455>.
- Chute, John P., Garrett G. Muramoto, Alice B. Salter, Sarah K. Meadows, Dennis W. Rickman, Benny Chen, Heather A. Himgurg, et Nelson J. Chao. 2007. « Transplantation of vascular endothelial cells mediates the hematopoietic recovery and survival of lethally irradiated mice ». *Blood* 109 (6): 2365-72. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-05-022640>.
- Ciobanasu, Corina, Bruno Faivre, et Christophe Le Clainche. 2013. « Integrating Actin Dynamics, Mechanotransduction and Integrin Activation: The Multiple Functions of Actin Binding Proteins in Focal Adhesions ». *European Journal of Cell Biology* 92 (10-11): 339-48. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2013.10.009>.
- Comazzetto, Stefano, Malea M. Murphy, Stefano Berto, Elise Jeffery, Zhiyu Zhao, et Sean J. Morrison. 2019. « Restricted Hematopoietic Progenitors and Erythropoiesis Require SCF from Leptin Receptor+ Niche Cells in the Bone Marrow ». *Cell Stem Cell* 24 (3): 477-486.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.11.022>.
- Cooper, Geoffrey M. 2000. « Intermediate Filaments ». *The Cell: A Molecular Approach. 2nd Edition*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9834/>.
- Cooper, James N., et Neal S. Young. 2017. « Clonality in context: hematopoietic clones in their marrow environment ». *Blood* 130 (22): 2363-72. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-07-794362>.
- Cordenonsi, Michelangelo, Francesca Zanconato, Luca Azzolin, Mattia Forcato, Antonio Rosato, Chiara Frasson, Masafumi Inui, et al. 2011. « The Hippo Transducer TAZ Confers Cancer Stem Cell-Related Traits on Breast Cancer Cells ». *Cell* 147 (4): 759-72. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.09.048>.
- Corey, D. P., et A. J. Hudspeth. 1983. « Kinetics of the Receptor Current in Bullfrog Sacculus Hair Cells ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 3 (5): 962-76. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.03-05-00962.1983>.
- Corradi, Giulia, Carmen Baldazzi, Darina Očadlíková, Giovanni Marconi, Sarah Parisi, Nicoletta Testoni, Carlo Finelli, Michele Cavo, Antonio Curti, et Marilena Ciciarello. 2018. « Mesenchymal stromal cells from myelodysplastic and acute myeloid leukemia patients display in vitro reduced proliferative potential and similar capacity to support leukemia cell survival ». *Stem Cell Research & Therapy* 9 (octobre): 271. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-1013-z>.
- Cottini, Francesca, Teru Hideshima, Chunxiao Xu, Martin Sattler, Martina Dori, Luca Agnelli, Elisa ten Hacken, et al. 2014. « RESCUE OF HIPPO CO-ACTIVATOR YAP1 TRIGGERS DNA DAMAGE-INDUCED APOPTOSIS IN HEMATOLOGICAL CANCERS ». *Nature medicine* 20 (6): 599-606. <https://doi.org/10.1038/nm.3562>.
- Crosas-Molist, Eva, Remi Samain, Leonie Kohlhammer, Jose L. Orgaz, Samantha L. George, Oscar Maiques, Jaume Barcelo, et Victoria Sanz-Moreno. 2022. « Rho GTPase signaling in cancer progression and dissemination ». *Physiological Reviews* 102 (1): 455-510. <https://doi.org/10.1152/physrev.00045.2020>.
- Das, Arupratan, Robert S. Fischer, Duoqia Pan, et Clare M. Waterman. 2016. « YAP Nuclear Localization in the Absence of Cell-Cell Contact Is Mediated by a Filamentous Actin-dependent, Myosin II- and Phospho-

- YAP-independent Pathway during Extracellular Matrix Mechanosensing ». *The Journal of Biological Chemistry* 291 (12): 6096-6110. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.708313>.
- Dattani, Anish, Tao Huang, Corin Liddle, Austin Smith, et Ge Guo. 2022. « Suppression of YAP safeguards human naïve pluripotency ». *Development*, novembre, dev.200988. <https://doi.org/10.1242/dev.200988>.
- De Laporte, Laura, Jeffrey J. Rice, Federico Tortelli, et Jeffrey A. Hubbell. 2013. « Tenascin C Promiscuously Binds Growth Factors via Its Fifth Fibronectin Type III-like Domain ». *PLoS One* 8 (4): e62076. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062076>.
- Dechat, Thomas, Stephen A. Adam, Pekka Taimen, Takeshi Shimi, et Robert D. Goldman. 2010. « Nuclear Lamins ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2 (11): a000547. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000547>.
- Deschler, Barbara, et Michael Lübbert. 2006. « Acute Myeloid Leukemia: Epidemiology and Etiology ». *Cancer* 107 (9): 2099-2107. <https://doi.org/10.1002/cncr.22233>.
- DiNardo, C. D., I. S. Tiong, A. Quaglieri, S. MacRaild, S. Loghavi, F. C. Brown, R. Thijssen, et al. 2020. « Molecular patterns of response and treatment failure after frontline venetoclax combinations in older patients with AML ». *Blood* 135 (11): 791-803. <https://doi.org/10.1182/blood.2019003988>.
- DiNardo, Courtney D., Keith W. Pratz, Anthony Letai, Brian A. Jonas, Andrew H. Wei, Michael Thirman, Martha Arellano, et al. 2018. « Safety and Preliminary Efficacy of Venetoclax with Decitabine or Azacitidine in Elderly Patients with Previously Untreated Acute Myeloid Leukaemia: A Non-Randomised, Open-Label, Phase 1b Study ». *The Lancet Oncology* 19 (2): 216-28. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30010-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30010-X).
- Ding, Lei, et Sean J. Morrison. 2013. « Haematopoietic stem cells and early lymphoid progenitors occupy distinct bone marrow niches ». *Nature* 495 (7440): 231-35. <https://doi.org/10.1038/nature11885>.
- Ding, Lei, Thomas L. Saunders, Grigori Enikolopov, et Sean J. Morrison. 2012. « Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells ». *Nature* 481 (7382): 457-62. <https://doi.org/10.1038/nature10783>.
- Doan, Phuong L., Heather A. Himgurg, Katherine Helms, J. Lauren Russell, Emma Fixsen, Mamle Quarmyne, Jeffrey R. Harris, et al. 2013. « Epidermal Growth Factor Regulates Hematopoietic Regeneration Following Radiation Injury ». *Nature medicine* 19 (3): 295-304. <https://doi.org/10.1038/nm.3070>.
- Döhner, Hartmut, Andrew H. Wei, Frederick R. Appelbaum, Charles Craddock, Courtney D. DiNardo, Hervé Dombret, Benjamin L. Ebert, et al. 2022. « Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN ». *Blood* 140 (12): 1345-77. <https://doi.org/10.1182/blood.2022016867>.
- Dominguez, Roberto, et Kenneth C. Holmes. 2011. « Actin Structure and Function ». *Annual Review of Biophysics* 40: 169-86. <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-042910-155359>.
- Donato, Elisa, Francesca Biagioni, Andrea Bisso, Marieta Caganova, Bruno Amati, et Stefano Campaner. 2018. « YAP and TAZ are dispensable for physiological and malignant haematopoiesis ». *Leukemia* 32 (9): 2037-40. <https://doi.org/10.1038/s41375-018-0111-3>.
- Driscoll, Tristan P., Brian D. Cosgrove, Su-Jin Heo, Zach E. Shurden, et Robert L. Mauck. 2015. « Cytoskeletal to Nuclear Strain Transfer Regulates YAP Signaling in Mesenchymal Stem Cells ». *Biophysical Journal* 108 (12): 2783-93. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2015.05.010>.
- Du, Jing, Xiaofei Chen, Xudong Liang, Guangyao Zhang, Jia Xu, Linrong He, Qingyuan Zhan, Xi-Qiao Feng, Shu Chien, et Chun Yang. 2011. « Integrin activation and internalization on soft ECM as a mechanism of induction of stem cell differentiation by ECM elasticity ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (23): 9466-71. <https://doi.org/10.1073/pnas.1106467108>.
- Duarte, Delfim, Edwin D. Hawkins, Olufolake Akinduro, Heather Ang, Katia De Filippo, Isabella Y. Kong, Myriam Haltalli, et al. 2018. « Inhibition of Endosteal Vascular Niche Remodeling Rescues Hematopoietic Stem Cell Loss in AML ». *Cell Stem Cell* 22 (1): 64-77.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2017.11.006>.
- Dupont, Sirio, Leonardo Morsut, Mariaceleste Aragona, Elena Enzo, Stefano Giullitti, Michelangelo Cordenonsi, Francesca Zanconato, et al. 2011. « Role of YAP/TAZ in Mechanotransduction ». *Nature* 474 (7350): 179-83. <https://doi.org/10.1038/nature10137>.
- Dykstra, Brad, David Kent, Michelle Bowie, Lindsay McCaffrey, Melisa Hamilton, Kristin Lyons, Shang-Jung Lee, Ryan Brinkman, et Connie Eaves. 2007. « Long-Term Propagation of Distinct Hematopoietic Differentiation Programs in Vivo ». *Cell Stem Cell* 1 (2): 218-29. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2007.05.015>.

- Ege, Nil, Anna M. Dowbaj, Ming Jiang, Michael Howell, Steven Hooper, Charles Foster, Robert P. Jenkins, et Erik Sahai. 2018. « Quantitative Analysis Reveals That Actin and Src-Family Kinases Regulate Nuclear YAP1 and Its Export ». *Cell Systems* 6 (6): 692-708.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cels.2018.05.006>.
- Elbediwy, Ahmed, Zoé I. Vincent-Mistiaen, Bradley Spencer-Dene, Richard K. Stone, Stefan Boeing, Stefanie K. Wculek, Julia Cordero, et al. 2016. « Integrin signalling regulates YAP and TAZ to control skin homeostasis ». *Development (Cambridge, England)* 143 (10): 1674-87. <https://doi.org/10.1242/dev.133728>.
- Engler, Adam J., Ludovic Richert, Joyce Y. Wong, Catherine Picart, et Dennis E. Discher. 2004. « Surface Probe Measurements of the Elasticity of Sectioned Tissue, Thin Gels and Polyelectrolyte Multilayer Films: Correlations between Substrate Stiffness and Cell Adhesion ». *Surface Science, BIOSURF V: Functional Polymeric Surfaces in Biotechnology*, 570 (1): 142-54. <https://doi.org/10.1016/j.susc.2004.06.179>.
- Engler, Adam J., Shamik Sen, H. Lee Sweeney, et Dennis E. Discher. 2006. « Matrix Elasticity Directs Stem Cell Lineage Specification ». *Cell* 126 (4): 677-89. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.06.044>.
- Eroumé, Kerbaï Saïd, Rachel Cavill, Katerina Staňková, Jan de Boer, et Aurélie Carlier. 2021. « Exploring the influence of cytosolic and membrane FAK activation on YAP/TAZ nuclear translocation ». *Biophysical Journal* 120 (20): 4360-77. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2021.09.009>.
- Faivre, Magalie, Céline Renoux, Amel Bessaa, Lydie Da Costa, Philippe Joly, Alexandra Gauthier, et Philippe Connes. 2020. « Mechanical Signature of Red Blood Cells Flowing Out of a Microfluidic Constriction Is Impacted by Membrane Elasticity, Cell Surface-to-Volume Ratio and Diseases ». *Frontiers in Physiology* 11 (juin): 576. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00576>.
- Faucherre, Adèle, Karima Kissa, Joël Nargeot, Matteo E. Mangoni, et Chris Jopling. 2014. « Piezo1 plays a role in erythrocyte volume homeostasis ». *Haematologica* 99 (1): 70-75. <https://doi.org/10.3324/haematol.2013.086090>.
- Fehon, Richard G., Andrea I. McClatchey, et Anthony Bretscher. 2010. « Organizing the Cell Cortex: The role of ERM proteins ». *Nature reviews. Molecular cell biology* 11 (4): 276-87. <https://doi.org/10.1038/nrm2866>.
- Feng, Jiantao, Yong Tang, Yonggang Xu, Quanmei Sun, Fulong Liao, et Dong Han. 2013. « Substrate Stiffness Influences the Outcome of Antitumor Drug Screening in Vitro ». *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 55 (1): 121-31. <https://doi.org/10.3233/CH-131696>.
- Fernandez, Hugo F., Zhuoxin Sun, Xiaopan Yao, Mark R. Litzow, Selina M. Luger, Elisabeth M. Paietta, Janis Racevskis, et al. 2009. « Anthracycline Dose Intensification in Acute Myeloid Leukemia ». *New England Journal of Medicine* 361 (13): 1249-59. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0904544>.
- Flach, Johanna, Sietske T. Bakker, Mary Mohrin, Pauline C. Conroy, Eric M. Pietras, Damien Reynaud, Silvia Alvarez, et al. 2014. « Replication Stress Is a Potent Driver of Functional Decline in Ageing Haematopoietic Stem Cells ». *Nature* 512 (7513): 198-202. <https://doi.org/10.1038/nature13619>.
- Forzisi, Elena, et Federico Sesti. 2022. « Non-conducting functions of ion channels: The case of integrin-ion channel complexes ». *Channels* 16 (1): 185-97. <https://doi.org/10.1080/19336950.2022.2108565>.
- Fourel, Laure, Anne Valat, Eva Faurobert, Raphael Guillot, Ingrid Bourrin-Reynard, Kefeng Ren, Laurence Lafanechère, Emmanuelle Planus, Catherine Picart, et Corinne Albiges-Rizo. 2016. « $\beta 3$ integrin-mediated spreading induced by matrix-bound BMP-2 controls Smad signaling in a stiffness-independent manner ». *The Journal of Cell Biology* 212 (6): 693-706. <https://doi.org/10.1083/jcb.201508018>.
- Fusco, Pina, Elena Mattiuzzo, Chiara Frasson, Giampietro Viola, Elisa Cimetta, Maria Rosaria Esposito, et Gian Paolo Tonini. 2021. « Verteporfin Induces Apoptosis and Reduces the Stem Cell-like Properties in Neuroblastoma Tumour-Initiating Cells through Inhibition of the YAP/TAZ Pathway ». *European Journal of Pharmacology* 893 (février): 173829. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173829>.
- Gaidzik, V. I., V. Teleanu, E. Papaemmanuil, D. Weber, P. Paschka, J. Hahn, T. Wallrabenstein, et al. 2016. « RUNX1 Mutations in Acute Myeloid Leukemia Are Associated with Distinct Clinico-Pathologic and Genetic Features ». *Leukemia* 30 (11): 2160-68. <https://doi.org/10.1038/leu.2016.126>.
- Gallea, S., F. Lallemand, A. Atfi, G. Rawadi, V. Ramez, S. Spinella-Jaegle, S. Kawai, et al. 2001. « Activation of Mitogen-Activated Protein Kinase Cascades Is Involved in Regulation of Bone Morphogenetic Protein-2-Induced Osteoblast Differentiation in Pluripotent C2C12 Cells ». *Bone* 28 (5): 491-98. [https://doi.org/10.1016/s8756-3282\(01\)00415-x](https://doi.org/10.1016/s8756-3282(01)00415-x).
- Garcia-Escolano, Marta, Yoel G. Montoyo-Pujol, Fernando Ortiz-Martinez, Jose J. Ponce, Silvia Delgado-Garcia, Tina A. Martin, Hortensia Ballester, et al. 2021. « ID1 and ID4 Are Biomarkers of Tumor Aggressiveness and Poor Outcome in Immunophenotypes of Breast Cancer ». *Cancers* 13 (3): 492. <https://doi.org/10.3390/cancers13030492>.

- Geng, Jing, Shujuan Yu, Hao Zhao, Xiufeng Sun, Xun Li, Ping Wang, Xiaolin Xiong, et al. 2017. « The Transcriptional Coactivator TAZ Regulates Reciprocal Differentiation of TH17 Cells and Treg Cells ». *Nature Immunology* 18 (7): 800-812. <https://doi.org/10.1038/ni.3748>.
- Geyh, S., M. Rodríguez-Paredes, P. Jäger, C. Khandanpour, R.-P. Cadeddu, J. Gutekunst, C. M. Wilk, et al. 2016. « Functional Inhibition of Mesenchymal Stromal Cells in Acute Myeloid Leukemia ». *Leukemia* 30 (3): 683-91. <https://doi.org/10.1038/leu.2015.325>.
- Gilde, Flora, Laure Fourel, Raphael Guillot, Isabelle Pignot-Paintrand, Takaharu Okada, Vincent Fitzpatrick, Thomas Boudou, Corinne Albiges-Rizo, et Catherine Picart. 2016. « Stiffness-dependent cellular internalization of matrix-bound BMP-2 and its relation to Smad and non-Smad signaling ». *Acta biomaterialia* 46 (décembre): 55-67. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.09.014>.
- Gillis, Nancy K, Markus Ball, Qing Zhang, Zhenjun Ma, YuLong Zhao, Sean J Yoder, Maria E Balasis, et al. 2017. « Clonal haemopoiesis and therapy-related myeloid malignancies in elderly patients: a proof-of-concept, case-control study ». *The Lancet. Oncology* 18 (1): 112-21. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(16\)30627-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(16)30627-1).
- Gils, Noortje van, Fedor Denkers, et Linda Smit. 2021. « Escape From Treatment; the Different Faces of Leukemic Stem Cells and Therapy Resistance in Acute Myeloid Leukemia ». *Frontiers in Oncology* 11 (mai): 659253. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.659253>.
- Girard, Christophe A., Margaux Lecacheur, Rania Ben Jouira, Ilona Berestjuk, Serena Diazi, Virginie Prod'homme, Aude Mallavialle, et al. 2020. « A Feed-Forward Mechanosignaling Loop Confers Resistance to Therapies Targeting the MAPK Pathway in BRAF-Mutant Melanoma ». *Cancer Research* 80 (10): 1927-41. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-19-2914>.
- Godavarthy, Parimala Sonika, Christina B. Walter, Claudia Lengerke, et Gerd Klein. 2021. « The Laminin Receptors Basal Cell Adhesion Molecule/Lutheran and Integrin $\alpha 7\beta 1$ on Human Hematopoietic Stem Cells ». *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 9 (octobre): 675240. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.675240>.
- Goldman, Devorah C., Alexis S. Bailey, Dana L. Pfaffle, Azzah Al Masri, Jan L. Christian, et William H. Fleming. 2009. « BMP4 Regulates the Hematopoietic Stem Cell Niche ». *Blood* 114 (20): 4393-4401. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-02-206433>.
- Gonzales, Fanny, Adeline Barthélémy, Pauline Peyrouze, Laurène Fenwarth, Claude Preudhomme, Nicolas Duployez, et Meyling H. Cheok. 2021. « Targeting RUNX1 in acute myeloid leukemia: preclinical innovations and therapeutic implications ». *Expert Opinion on Therapeutic Targets* 25 (4): 299-309. <https://doi.org/10.1080/14728222.2021.1915991>.
- Goto, Kouichiro, Yuto Kamiya, Takeshi Imamura, Kohei Miyazono, et Keiji Miyazawa. 2007. « Selective Inhibitory Effects of Smad6 on Bone Morphogenetic Protein Type I Receptors ». *The Journal of Biological Chemistry* 282 (28): 20603-11. <https://doi.org/10.1074/jbc.M702100200>.
- Grady, Martha E., Russell J. Composto, et David M. Eckmann. 2016. « Cell Elasticity with Altered Cytoskeletal Architectures across Multiple Cell Types ». *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 61 (août): 197-207. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2016.01.022>.
- Grieve, Stacy, Gabriel Wajnberg, Miranda Lees, Simi Chacko, Jackson Weir, Nicolas Crapoulet, et Tony Reiman. 2019. « TAZ functions as a tumor suppressor in multiple myeloma by downregulating MYC ». *Blood Advances* 3 (22): 3613-25. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019000374>.
- Grimm, Juliane, Madlen Jentzsch, Marius Bill, Donata Backhaus, Dominic Brauer, Johannes Küpper, Julia Schulz, et al. 2021. « Clinical Implications of SRSF2 Mutations in AML Patients Undergoing Allogeneic Stem Cell Transplantation ». *American Journal of Hematology* 96 (10): 1287-94. <https://doi.org/10.1002/ajh.26298>.
- Grockowiak, Elodie, Bastien Laperrousaz, Sandrine Jeanpierre, Thibault Voeltzel, Boris Guyot, Stéphanie Gobert, Franck E. Nicolini, et Véronique Maguer-Satta. 2017. « Immature CML Cells Implement a BMP Autocrine Loop to Escape TKI Treatment ». *Blood*, janvier, blood-2017-08-801019. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-08-801019>.
- Groppe, Jay, Jason Greenwald, Ezra Wiater, Joaquin Rodriguez-Leon, Aris N. Economides, Witek Kwiatkowski, Markus Affolter, Wylie W. Vale, Juan Carlos Izpisua Belmonte, et Senyon Choe. 2002. « Structural Basis of BMP Signalling Inhibition by the Cystine Knot Protein Noggin ». *Nature* 420 (6916): 636-42. <https://doi.org/10.1038/nature01245>.
- Groysman, Maya, Irit Shoval, et Chaya Kalcheim. 2008. « A negative modulatory role for rho and rho-associated kinase signaling in delamination of neural crest cells ». *Neural Development* 3 (octobre): 27. <https://doi.org/10.1186/1749-8104-3-27>.

- Gruber, Tanja A., Amanda Larson Gedman, Jinghui Zhang, Cary S. Koss, Suresh Marada, Huy Q. Ta, Shann-Ching Chen, et al. 2012. « An inv(16)(p13.3q24.3)-encoded CBFA2T3-GLIS2 fusion protein defines an aggressive subtype of pediatric acute megakaryoblastic leukemia ». *Cancer cell* 22 (5): 683-97. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.10.007>.
- Gruszka, Alicja M., Debora Valli, Cecilia Restelli, et Myriam Alcalay. 2019. « Adhesion Deregulation in Acute Myeloid Leukaemia ». *Cells* 8 (1): 66. <https://doi.org/10.3390/cells8010066>.
- Gu, Y., L. Sorokin, M. Durbeej, T. Hjalt, J. I. Jönsson, et M. Ekblom. 1999. « Characterization of Bone Marrow Laminins and Identification of Alpha5-Containing Laminins as Adhesive Proteins for Multipotent Hematopoietic FDCP-Mix Cells ». *Blood* 93 (8): 2533-42.
- Guicheux, J., J. Lemonnier, C. Ghayor, A. Suzuki, G. Palmer, et J. Caverzasio. 2003. « Activation of P38 Mitogen-Activated Protein Kinase and c-Jun-NH2-Terminal Kinase by BMP-2 and Their Implication in the Stimulation of Osteoblastic Cell Differentiation ». *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 18 (11): 2060-68. <https://doi.org/10.1359/jbmr.2003.18.11.2060>.
- Guidi, Novella, Mehmet Sacma, Ludger Ständker, Karin Soller, Gina Marka, Karina Eiwien, Johannes M Weiss, et al. 2017. « Osteopontin attenuates aging-associated phenotypes of hematopoietic stem cells ». *The EMBO Journal* 36 (10): 1463-1463. <https://doi.org/10.15252/embj.201796968>.
- Guo, Ling, Rong Wang, Kuo Zhang, Jifan Yuan, Jiaxin Wang, Xiaoxia Wang, Jianfei Ma, et Chuanyue Wu. 2019. « A PINCH-1-Smurf1 Signaling Axis Mediates Mechano-Regulation of BMP2 and Stem Cell Differentiation ». *The Journal of Cell Biology*, octobre. <https://doi.org/10.1083/jcb.201902022>.
- Guo, Qiuchen, Duanchen Sun, Alexander S. Barrett, Sonali Jindal, Nathan D. Pennock, Matthew W. Conklin, Zheng Xia, et al. 2022. « Mammary Collagen Is under Reproductive Control with Implications for Breast Cancer ». *Matrix Biology* 105 (janvier): 104-26. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2021.10.006>.
- Guo, Yanping, Kathleen Köck, Christoph A. Ritter, Zhe-Sheng Chen, Markus Grube, Gabriele Jedlitschky, Thomas Illmer, et al. 2009. « Expression of ABCC-Type Nucleotide Exporters in Blasts of Adult Acute Myeloid Leukemia: Relation to Long-term Survival ». *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 15 (5): 1762-69. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-0442>.
- Gupta, Mukund, Bibhu Ranjan Sarangi, Joran Deschamps, Yasaman Nematbakhsh, Andrew Callan-Jones, Felix Margadant, René-Marc Mège, Chwee Teck Lim, Raphaël Voituriez, et Benoît Ladoux. 2015. « Adaptive rheology and ordering of cell cytoskeleton govern matrix rigidity sensing ». *Nature communications* 6 (juin): 7525. <https://doi.org/10.1038/ncomms8525>.
- Gurkan, Umut Atakan, et Ozan Akkus. 2008. « The Mechanical Environment of Bone Marrow: A Review ». *Annals of Biomedical Engineering* 36 (12): 1978-91. <https://doi.org/10.1007/s10439-008-9577-x>.
- Haan, Gerald de, et Seka Simone Lazare. 2018. « Aging of Hematopoietic Stem Cells ». *Blood* 131 (5): 479-87. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-06-746412>.
- Haubner, S., F. Perna, T. Köhnke, C. Schmidt, S. Berman, C. Augsberger, F. M. Schnorfeil, et al. 2019. « Coexpression Profile of Leukemic Stem Cell Markers for Combinatorial Targeted Therapy in AML ». *Leukemia* 33 (1): 64-74. <https://doi.org/10.1038/s41375-018-0180-3>.
- Home, Pratik, Biswarup Saha, Soma Ray, Debasree Dutta, Sumedha Gunewardena, Byunggil Yoo, Arindam Pal, et al. 2012. « Altered Subcellular Localization of Transcription Factor TEAD4 Regulates First Mammalian Cell Lineage Commitment ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109 (19): 7362-67. <https://doi.org/10.1073/pnas.1201595109>.
- Hospira. 2022. <https://labeling.pfizer.com/ShowLabeling.aspx?id=4397>.
- Hou, H. W., Q. S. Li, G. Y. H. Lee, A. P. Kumar, C. N. Ong, et C. T. Lim. 2009. « Deformability Study of Breast Cancer Cells Using Microfluidics ». *Biomedical Microdevices* 11 (3): 557-64. <https://doi.org/10.1007/s10544-008-9262-8>.
- Hsu, Sheng-Chieh, Ching-Yu Lin, Yen-Yi Lin, Colin C. Collins, Chia-Lin Chen, et Hsing-Jien Kung. 2022. « TEAD4 as an Oncogene and a Mitochondrial Modulator ». *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 10 (mai): 890419. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.890419>.
- Hsu, Yen-Michael S., Adam Greenbaum, Laura G. Schuettelpelz, Matthew Christopher, Joshua N. Bergerding, Ryan B. Day, Takashi Nagasawa, et Daniel C. Link. 2012. « CXCL12 Production by Early Mesenchymal Progenitors Is Required for Hematopoietic Stem Cell Maintenance ». *Blood* 120 (21): 510. <https://doi.org/10.1182/blood.V120.21.510.510>.
- Huang, Dashun, Xiaojiao Li, Li Sun, Ping Huang, Hao Ying, Hui Wang, Jiarui Wu, et Haiyun Song. 2016. « Regulation of Hippo signalling by p38 signalling ». *Journal of Molecular Cell Biology* 8 (4): 328-37. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjw036>.

- Huang, Jianbin, Shian Wu, Jose Barrera, Krista Matthews, et Duoqia Pan. 2005. « The Hippo Signaling Pathway Coordinately Regulates Cell Proliferation and Apoptosis by Inactivating Yorkie, the Drosophila Homolog of YAP ». *Cell* 122 (3): 421-34. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.06.007>.
- Huang, Peide, Anan Chen, Weiyi He, Zhen Li, Guanglin Zhang, Zhong Liu, Ge Liu, et al. 2017. « BMP-2 Induces EMT and Breast Cancer Stemness through Rb and CD44 ». *Cell Death Discovery* 3: 17039. <https://doi.org/10.1038/cddiscovery.2017.39>.
- Huang, Wei, Xianbo Lv, Chenying Liu, Zhengyu Zha, Heng Zhang, Ying Jiang, Yue Xiong, Qun-Ying Lei, et Kun-Liang Guan. 2012. « The N-terminal Phosphodegron Targets TAZ/WWTR1 Protein for SCF β -TrCP-dependent Degradation in Response to Phosphatidylinositol 3-Kinase Inhibition ». *The Journal of Biological Chemistry* 287 (31): 26245-53. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.382036>.
- Huber, Sandra, Torsten Haferlach, Manja Meggendorfer, Stephan Hutter, Gregor Hoermann, Constance Baer, Wolfgang Kern, et Claudia Haferlach. 2022. « SF3B1 Mutations in AML Are Strongly Associated with MECOM Rearrangements and May Be Indicative of an MDS Pre-Phase ». *Leukemia* 36 (12): 2927-30. <https://doi.org/10.1038/s41375-022-01734-7>.
- Humphries, Jonathan D., Adam Byron, et Martin J. Humphries. 2006. « INTEGRIN LIGANDS ». *Journal of cell science* 119 (Pt 19): 3901-3. <https://doi.org/10.1242/jcs.03098>.
- Imbert, M., D. Nguyen, et C. Sultan. 1992. « Myelodysplastic Syndromes (MDS) and Acute Myeloid Leukemias (AML) with Myelofibrosis ». *Leukemia Research* 16 (1): 51-54. [https://doi.org/10.1016/0145-2126\(92\)90100-l](https://doi.org/10.1016/0145-2126(92)90100-l).
- Ishikawa, Fumihiko, Shuro Yoshida, Yoriko Saito, Atsushi Hijikata, Hiroshi Kitamura, Satoshi Tanaka, Ryu Nakamura, et al. 2007. « Chemotherapy-Resistant Human AML Stem Cells Home to and Engraft within the Bone-Marrow Endosteal Region ». *Nature Biotechnology* 25 (11): 1315-21. <https://doi.org/10.1038/nbt1350>.
- Islam, A., D. Catovsky, J. M. Goldman, et D. A. Galton. 1984. « Bone Marrow Fibre Content in Acute Myeloid Leukaemia before and after Treatment ». *Journal of Clinical Pathology* 37 (11): 1259-63. <https://doi.org/10.1136/jcp.37.11.1259>.
- Islam, Muhymin, Hannah Brink, Syndey Blanche, Caleb DiPrete, Tom Bongiorno, Nicholas Stone, Anna Liu, et al. 2017. « Microfluidic Sorting of Cells by Viability Based on Differences in Cell Stiffness ». *Scientific Reports* 7 (mai): 1997. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01807-z>.
- Issa, Ghayas C., Jabra Zarka, Koji Sasaki, Wei Qiao, Daewoo Pak, Jing Ning, Nicholas J. Short, et al. 2021. « Predictors of Outcomes in Adults with Acute Myeloid Leukemia and KMT2A Rearrangements ». *Blood Cancer Journal* 11 (9): 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41408-021-00557-6>.
- Itkin, Tomer, Shiri Gur-Cohen, Joel A. Spencer, Amir Schajnovitz, Saravana K. Ramasamy, Anjali P. Kusumbe, Guy Ledergor, et al. 2016. « Distinct bone marrow blood vessels differentially regulate hematopoiesis ». *Nature* 532 (7599): 323-28. <https://doi.org/10.1038/nature17624>.
- Jabłońska-Trypuć, Agata, Marzena Matejczyk, et Stanisław Rosochacki. 2016. « Matrix metalloproteinases (MMPs), the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anticancer drugs ». *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 31 (sup1): 177-83. <https://doi.org/10.3109/14756366.2016.1161620>.
- Jacamo, Rodrigo, Ye Chen, Zhiqiang Wang, Wencai Ma, Min Zhang, Erika L. Spaeth, Ying Wang, et al. 2014a. « Reciprocal leukemia-stroma VCAM-1/VLA-4-dependent activation of NF- κ B mediates chemoresistance ». *Blood* 123 (17): 2691-2702. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-06-511527>.
- . 2014b. « Reciprocal leukemia-stroma VCAM-1/VLA-4-dependent activation of NF- κ B mediates chemoresistance ». *Blood* 123 (17): 2691-2702. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-06-511527>.
- Jansen, Lauren E., Nathan P. Birch, Jessica D. Schiffman, Alfred J. Crosby, et Shelly R. Peyton. 2015. « Mechanics of Intact Bone Marrow ». *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials* 50 (octobre): 299-307. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2015.06.023>.
- Jeanpierre, Sandrine, Kawtar Arizkane, Supat Thongjuea, Elodie Grockowiak, Kevin Geistlich, Lea Barral, Thibault Voeltzel, et al. 2021. « The Quiescent Fraction of Chronic Myeloid Leukemic Stem Cells Depends on BMPR1B, Stat3 and BMP4-Niche Signals to Persist in Patients in Remission ». *Haematologica* 106 (1): 111-22. <https://doi.org/10.3324/haematol.2019.232793>.
- Jeanpierre, Sandrine, Franck Emmanuel Nicolini, Bastien Kaniewski, Charles Dumontet, Ruth Rimokh, Alain Puisieux, et Véronique Maguer-Satta. 2008. « BMP4 Regulation of Human Megakaryocytic Differentiation Is Involved in Thrombopoietin Signaling ». *Blood* 112 (8): 3154-63. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-03-145326>.

- Jiang, Linjia, Xue Han, Jin Wang, Chen Wang, Xiaoqiang Sun, Jiayi Xie, Guojin Wu, et al. 2018. « SHP-1 regulates hematopoietic stem cell quiescence by coordinating TGF- β signaling ». *The Journal of Experimental Medicine* 215 (5): 1337-47. <https://doi.org/10.1084/jem.20171477>.
- Kadia, Tapan M., Preetesh Jain, Farhad Ravandi, Guillermo Garcia-Manero, Michael Andreef, Koichi Takahashi, Gautam Borthakur, et al. 2016. « TP53 mutations in newly diagnosed Acute Myeloid Leukemia – Clinico-molecular characteristics, response to therapy, and outcomes ». *Cancer* 122 (22): 3484-91. <https://doi.org/10.1002/cncr.30203>.
- Kaigler, Darnell, Paul H. Krebsbach, Erin R. West, Kim Horger, Yen-Chen Huang, et David J. Mooney. 2005. « Endothelial Cell Modulation of Bone Marrow Stromal Cell Osteogenic Potential ». *The FASEB Journal* 19 (6): 1-26. <https://doi.org/10.1096/fj.04-2529fje>.
- Kanai, Fumihiko, Paola A. Marignani, Dilara Sarbassova, Ryohei Yagi, Randy A. Hall, Mark Donowitz, Akihiko Hisaminato, et al. 2000. « TAZ: a novel transcriptional co-activator regulated by interactions with 14-3-3 and PDZ domain proteins ». *The EMBO Journal* 19 (24): 6778-91. <https://doi.org/10.1093/emboj/19.24.6778>.
- Kantarjian, Hagop. 2016. « Acute Myeloid Leukemia—Major Progress over Four Decades and Glimpses into the Future ». *American Journal of Hematology* 91 (1): 131-45. <https://doi.org/10.1002/ajh.24246>.
- Kanzaki, Shin, Wataru Ariyoshi, Tetsu Takahashi, Toshinori Okinaga, Takeshi Kaneuji, Sho Mitsugi, Keisuke Nakashima, Toshiyuki Tsujisawa, et Tatsuji Nishihara. 2011. « Dual Effects of Heparin on BMP-2-Induced Osteogenic Activity in MC3T3-E1 Cells ». *Pharmacological Reports: PR* 63 (5): 1222-30. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(11\)70642-9](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(11)70642-9).
- Kanzler, Charlotte R., Michael Donohue, Megan E. Dowdle, et Michael D. Sheets. 2022. « TurboID Functions as an Efficient Biotin Ligase for BioID Applications in Xenopus Embryos ». *Developmental Biology* 492 (décembre): 133-38. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2022.10.005>.
- Karaköse, Esra, Tamar Geiger, Kevin Flynn, Katrin Lorenz-Baath, Roy Zent, Matthias Mann, et Reinhard Fässler. 2015. « The focal adhesion protein PINCH-1 associates with EPLIN at integrin adhesion sites ». *Journal of Cell Science* 128 (5): 1023-33. <https://doi.org/10.1242/jcs.162545>.
- Karystinou, Alexandra, Anke J. Roelofs, Anna Neve, Francesco P. Cantatore, Henning Wackerhage, et Cosimo De Bari. 2015. « Yes-Associated Protein (YAP) Is a Negative Regulator of Chondrogenesis in Mesenchymal Stem Cells ». *Arthritis Research & Therapy* 17 (mai): 147. <https://doi.org/10.1186/s13075-015-0639-9>.
- Katayama, Yoshio, Michela Battista, Wei-Ming Kao, Andrés Hidalgo, Anna J. Peired, Steven A. Thomas, et Paul S. Frenette. 2006. « Signals from the Sympathetic Nervous System Regulate Hematopoietic Stem Cell Egress from Bone Marrow ». *Cell* 124 (2): 407-21. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.10.041>.
- Kayser, Sabine, et Mark J. Levis. 2022. « Updates on Targeted Therapies for Acute Myeloid Leukaemia ». *British Journal of Haematology* 196 (2): 316-28. <https://doi.org/10.1111/bjh.17746>.
- Kechagia, Jenny Z., Johanna Ivaska, et Pere Roca-Cusachs. 2019. « Integrins as Biomechanical Sensors of the Microenvironment ». *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 20 (8): 457-73. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0134-2>.
- Kersten, Bas, Matthijs Valkering, Rolf Wouters, Rosa van Amerongen, Diana Hanekamp, Zinia Kwidama, Peter Valk, et al. 2016. « CD45RA, a Specific Marker for Leukaemia Stem Cell Sub-Populations in Acute Myeloid Leukaemia ». *British Journal of Haematology* 173 (2): 219-35. <https://doi.org/10.1111/bjh.13941>.
- Khodr, Valia, Paul Machillot, Elisa Migliorini, Jean-Baptiste Reiser, et Catherine Picart. 2021. « High throughput measurements of bone morphogenetic protein (BMP)/BMP receptors interactions using bio-layer interferometry ». *Biointerphases* 16 (3): 031001. <https://doi.org/10.1116/6.0000926>.
- Khurana, Satish, Shannon Buckley, Sarah Schoutedden, Stephen Ekker, Anna Petryk, Michel Delforge, An Zwijsen, et Catherine M. Verfaillie. 2013. « A Novel Role of BMP4 in Adult Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Homing via Smad Independent Regulation of Integrin-A4 Expression ». *Blood* 121 (5): 781-90. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-07-446443>.
- Kiel, Mark J., Omer H. Yilmaz, Toshihide Iwashita, Osman H. Yilmaz, Cox Terhorst, et Sean J. Morrison. 2005. « SLAM Family Receptors Distinguish Hematopoietic Stem and Progenitor Cells and Reveal Endothelial Niches for Stem Cells ». *Cell* 121 (7): 1109-21. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.05.026>.
- Kihara, Takanori, Teru Matsumoto, Yoshihito Nakahashi, et Kouichi Tachibana. 2021. « Mechanical Stiffness Softening and Cell Adhesion Are Coordinately Regulated by ERM Dephosphorylation in KG-1 Cells ». *Human Cell* 34 (6): 1709-16. <https://doi.org/10.1007/s13577-021-00584-2>.
- Kim, Hong-Hee, Woon Jae Chung, Soo Woong Lee, Pah-Jin Chung, Jae Won You, Ho Jeong Kwon, Sakae Tanaka, et Zang Hee Lee. 2003. « Association of Sustained ERK Activity with Integrin B3 Induction during

- Receptor Activator of Nuclear Factor KappaB Ligand (RANKL)-Directed Osteoclast Differentiation ». *Experimental Cell Research* 289 (2): 368-77. [https://doi.org/10.1016/S0014-4827\(03\)00288-X](https://doi.org/10.1016/S0014-4827(03)00288-X).
- Kim, Kyung Mok, Anna Mura-Meszaros, Marie Tollot, Murali Shyam Krishnan, Marco Gründl, Laura Neubert, Marco Groth, et al. 2022. « Taz protects hematopoietic stem cells from an aging-dependent decrease in PU.1 activity ». *Nature Communications* 13 (septembre): 5187. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-32970-1>.
- Kim, Min Hwan, Jongshin Kim, Hyowon Hong, Si-Hyung Lee, June-Koo Lee, Eunji Jung, et Joon Kim. 2016. « Actin Remodeling Confers BRAF Inhibitor Resistance to Melanoma Cells through YAP/TAZ Activation ». *The EMBO Journal* 35 (5): 462-78. <https://doi.org/10.15252/embj.201592081>.
- Kim, Nam-Gyun, et Barry M. Gumbiner. 2015. « Adhesion to fibronectin regulates Hippo signaling via the FAK–Src–PI3K pathway ». *The Journal of Cell Biology* 210 (3): 503-15. <https://doi.org/10.1083/jcb.201501025>.
- Kim, Ok-Hyeon, Young Wook Choi, Jun Hyung Park, Soon Auck Hong, Mineui Hong, In Ho Chang, et Hyun Jung Lee. 2022. « Fluid Shear Stress Facilitates Prostate Cancer Metastasis through Piezo1-Src-YAP Axis ». *Life Sciences* 308 (novembre): 120936. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120936>.
- Klein, Gerd, Claudia A. Müller, Emmanuelle Tillet, Mon-Li Chu, et Rupert Timpl. 1995. « Collagen Type VI in the Human Bone Marrow Microenvironment: A Strong Cytoadhesive Component ». *Blood* 86 (5): 1740-48. <https://doi.org/10.1182/blood.V86.5.1740.bloodjournal8651740>.
- Koenigsmann, Michael, James D. Griffin, Jennifer DiCarlo, et Stephen A. Cannistra. 1992. « Myeloid and Erythroid Progenitor Cells From Normal Bone Marrow Adhere To Collagen Type I ». *Blood* 79 (3): 657-65. <https://doi.org/10.1182/blood.V79.3.657.657>.
- Koo, Ja Hyun, Steven W. Plouffe, Zhipeng Meng, Da-Hye Lee, Di Yang, Dae-Sik Lim, Cun-Yu Wang, et Kun-Liang Guan. 2020. « Induction of AP-1 by YAP/TAZ Contributes to Cell Proliferation and Organ Growth ». *Genes & Development* 34 (1-2): 72-86. <https://doi.org/10.1101/gad.331546.119>.
- Kopf, Jessica, Pia Paarmann, Christian Hiepen, Daniel Horbelt, et Petra Knaus. 2014a. « BMP Growth Factor Signaling in a Biomechanical Context ». *BioFactors (Oxford, England)* 40 (2): 171-87. <https://doi.org/10.1002/biof.1137>.
- . 2014b. « BMP Growth Factor Signaling in a Biomechanical Context ». *BioFactors* 40 (2): 171-87. <https://doi.org/10.1002/biof.1137>.
- Kulkarni, Rohan, et Vaijayanti Kale. 2020. « Physiological Cues Involved in the Regulation of Adhesion Mechanisms in Hematopoietic Stem Cell Fate Decision ». *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 8. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2020.00611>.
- Kulsoom, Bibi, Tahir Sultan Shamsi, et Nasir Ali Afsar. 2018. « Gene Expression of HENT1, DCK, CDA, DCMPD and Topoisomerase II α as an Indicator of Chemotherapy Response in AML Treated with Cytarabine and Daunorubicin ». *Cancer Management and Research* 10: 5573. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S181299>.
- Kumar, Ram P., Soma Ray, Pratik Home, Biswarup Saha, Bhaswati Bhattacharya, Heather M. Wilkins, Hemantkumar Chavan, et al. 2018. « Regulation of Energy Metabolism during Early Mammalian Development: TEAD4 Controls Mitochondrial Transcription ». *Development (Cambridge, England)* 145 (19): dev162644. <https://doi.org/10.1242/dev.162644>.
- Kunisaki, Yuya, Ingmar Bruns, Christoph Scheiermann, Jalal Ahmed, Sandra Pinho, Dachuan Zhang, Toshihide Mizoguchi, et al. 2013. « Arteriolar Niches Maintain Haematopoietic Stem Cell Quiescence ». *Nature* 502 (7473): 637-43. <https://doi.org/10.1038/nature12612>.
- Kusumbe, Anjali P., Saravana K. Ramasamy, Tomer Itkin, Maarja Andaloussi Mäe, Urs H. Langen, Christer Betsholtz, Tsvee Lapidot, et Ralf H. Adams. 2016. « Age-dependent modulation of vascular niches for haematopoietic stem cells ». *Nature* 532 (7599): 380-84. <https://doi.org/10.1038/nature17638>.
- Kuter, David J., Barbara Bain, Ghulam Mufti, Adam Bagg, et Robert P. Hasserjian. 2007. « Bone Marrow Fibrosis: Pathophysiology and Clinical Significance of Increased Bone Marrow Stromal Fibres ». *British Journal of Haematology* 139 (3): 351-62. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2007.06807.x>.
- Lai, Dulcie, et Xiaolong Yang. 2013. « BMP4 Is a Novel Transcriptional Target and Mediator of Mammary Cell Migration Downstream of the Hippo Pathway Component TAZ ». *Cellular Signalling* 25 (8): 1720-28. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2013.05.002>.
- Laperrousaz, Bastien, Sandrine Jeanpierre, Karen Sagorny, Thibault Voeltzel, Sophie Ramas, Bastien Kaniewski, Martine Ffrench, Stéphanie Salessse, Franck E. Nicolini, et Véronique Maguer-Satta. 2013. « Primitive CML Cell Expansion Relies on Abnormal Levels of BMPs Provided by the Niche and on BMPRIb Overexpression ». *Blood* 122 (23): 3767-77. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-05-501460>.

- Lapidot, Tsvee, Christian Sirard, Josef Vormoor, Barbara Murdoch, Trang Hoang, Julio Caceres-Cortes, Mark Minden, Bruce Paterson, Michael A. Caligiuri, et John E. Dick. 1994. « A Cell Initiating Human Acute Myeloid Leukaemia after Transplantation into SCID Mice ». *Nature* 367 (6464): 645-48. <https://doi.org/10.1038/367645a0>.
- Laurenti, Elisa, et Berthold Göttgens. 2018. « From haematopoietic stem cells to complex differentiation landscapes ». *Nature* 553 (7689): 418-26. <https://doi.org/10.1038/nature25022>.
- Layani-Bazar, Adi, Itai Skornick, Alain Berrebi, Maor H. Pauker, Elad Noy, Alon Silberman, Michael Albeck, Dan L. Longo, Yona Kalechman, et Benjamin Sredni. 2014. « Redox Modulation of Adjacent Thiols in VLA-4 by AS101 Converts Myeloid Leukemia Cells from a Drug-Resistant to Drug-Sensitive State ». *Cancer Research* 74 (11): 3092-3103. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-2159>.
- Lazzari, Elisa, et Jason M. Butler. 2018. « The Instructive Role of the Bone Marrow Niche in Aging and Leukemia ». *Current Stem Cell Reports* 4 (4): 291-98. <https://doi.org/10.1007/s40778-018-0143-7>.
- Le, Shimin, Miao Yu, Alexander Bershadsky, et Jie Yan. 2020. « Mechanical Regulation of Formin-Dependent Actin Polymerization ». *Seminars in Cell & Developmental Biology*, SI: Actin_15 June 2019, 102 (juin): 73-80. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2019.11.016>.
- Lee, Ting-Fang, Yu-Chi Tseng, Wei-Chin Chang, Yi-Chen Chen, Yu-Rung Kao, Teh-Ying Chou, Chao-Chi Ho, et Cheng-Wen Wu. 2017. « YAP1 is essential for tumor growth and is a potential therapeutic target for EGFR-dependent lung adenocarcinomas ». *Oncotarget* 8 (52): 89539-51. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.19647>.
- Lee-Thedieck, Cornelia, Peter Schertl, et Gerd Klein. 2022. « The extracellular matrix of hematopoietic stem cell niches ». *Advanced Drug Delivery Reviews* 181 (février): None. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.114069>.
- Legate, Kyle R., Eloi Montañez, Oliver Kudlacek, et Reinhard Füssler. 2006. « ILK, PINCH and Parvin: The TIPP of Integrin Signalling ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 7 (1): 20-31. <https://doi.org/10.1038/nrm1789>.
- Lei, Qun-Ying, Heng Zhang, Bin Zhao, Zheng-Yu Zha, Feng Bai, Xin-Hai Pei, Shimin Zhao, Yue Xiong, et Kun-Liang Guan. 2008. « TAZ Promotes Cell Proliferation and Epithelial-Mesenchymal Transition and Is Inhibited by the Hippo Pathway ». *Molecular and Cellular Biology* 28 (7): 2426-36. <https://doi.org/10.1128/MCB.01874-07>.
- Lewuillon, Clara, Aurélie Guillemette, Sofia Titah, Faruk Azam Shaik, Nathalie Jouy, Ossama Labiad, Valerio Farfariello, et al. 2022. « Involvement of ORAI1/SOCE in Human AML Cell Lines and Primary Cells According to ABCB1 Activity, LSC Compartment and Potential Resistance to Ara-C Exposure ». *International Journal of Molecular Sciences* 23 (10). <https://doi.org/10.3390/ijms23105555>.
- Li, Bochuan, Jinlong He, Huizhen Lv, Yajin Liu, Xue Lv, Chenghu Zhang, Yi Zhu, et Ding Ai. 2019. « C-Abl Regulates YAP^{Y357} Phosphorylation to Activate Endothelial Atherogenic Responses to Disturbed Flow ». *The Journal of Clinical Investigation* 129 (3): 1167-79. <https://doi.org/10.1172/JCI122440>.
- Li, Dandan, Tara L. Lin, Brea Lipe, Richard A. Hopkins, Heather Shinogle, et Omar S. Aljitiawi. 2018. « A Novel Extracellular Matrix-Based Leukemia Model Supports Leukemia Cells with Stem Cell-like Characteristics ». *Leukemia Research* 72 (septembre): 105-12. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2018.08.012>.
- Li, Hong-Ying, Dong-Hong Deng, Ying Huang, Fang-Hui Ye, Lu-Lu Huang, Qiang Xiao, Bing Zhang, et al. 2015. « Favorable Prognosis of Biallelic CEBPA Gene Mutations in Acute Myeloid Leukemia Patients: A Meta-Analysis ». *European Journal of Haematology* 94 (5): 439-48. <https://doi.org/10.1111/ejh.12450>.
- Li, Jing, Bing Hou, Sarka Tumova, Katsuhiko Muraki, Alexander Bruns, Melanie J. Ludlow, Alicia Sedo, et al. 2014. « Piezo1 Integration of Vascular Architecture with Physiological Force ». *Nature* 515 (7526): 279-82. <https://doi.org/10.1038/nature13701>.
- Li, Juan, Jun Wang, Yuanwen Zou, Yifan Zhang, Dan Long, Lei Lei, Lijun Tan, Rui Ye, Xuejin Wang, et Zhihe Zhao. 2012. « The Influence of Delayed Compressive Stress on TGF- β 1-Induced Chondrogenic Differentiation of Rat BMSCs through Smad-Dependent and Smad-Independent Pathways ». *Biomaterials* 33 (33): 8395-8405. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.08.019>.
- Li, Mingying, Jingjing Ye, Yuan Xia, Meng Li, Guosheng Li, Xiang Hu, Xiuhua Su, et al. 2022. « METTL3 mediates chemoresistance by enhancing AML homing and engraftment via ITGA4 ». *Leukemia* 36 (11): 2586-95. <https://doi.org/10.1038/s41375-022-01696-w>.
- Li, Q. S., G. Y. H. Lee, C. N. Ong, et C. T. Lim. 2008. « AFM Indentation Study of Breast Cancer Cells ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 374 (4): 609-13. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.07.078>.

- Li, Yan, Rotsiniaina Randriantsilefisoa, Jie Chen, Jose Luis Cuellar-Camacho, Wanjun Liang, et Wenzhong Li. 2020. « Matrix Stiffness Regulates Chemosensitivity, Stemness Characteristics, and Autophagy in Breast Cancer Cells ». *ACS Applied Bio Materials* 3 (7): 4474-85. <https://doi.org/10.1021/acsabm.0c00448>.
- Lian, Chengjie, Xudong Wang, Xianjian Qiu, Zizhao Wu, Bo Gao, Lei Liu, Guoyan Liang, et al. 2019. « Collagen type II suppresses articular chondrocyte hypertrophy and osteoarthritis progression by promoting integrin β 1-SMAD1 interaction ». *Bone Research* 7 (mars). <https://doi.org/10.1038/s41413-019-0046-y>.
- Lin, Kimberly C., Toshiro Moroishi, Zhipeng Meng, Han-Sol Jeong, Steven W. Plouffe, Yoshitaka Sekido, Jiahuai Han, Hyun Woo Park, et Kun-Liang Guan. 2017. « Regulation of Hippo pathway transcription factor TEAD by p38 MAPK-induced cytoplasmic translocation ». *Nature cell biology* 19 (8): 996-1002. <https://doi.org/10.1038/ncb3581>.
- Lin, Luping, Amit J Sabnis, Elton Chan, Victor Olivas, Lindsay Cade, Evangelos Pazarentzos, Saurabh Asthana, et al. 2015. « The Hippo effector YAP promotes resistance to RAF- and MEK-targeted cancer therapies ». *Nature genetics* 47 (3): 250-56. <https://doi.org/10.1038/ng.3218>.
- Link, Daniel C. 2000. « Mechanisms of Granulocyte Colony-Stimulating Factor-Induced Hematopoietic Progenitor-Cell Mobilization ». *Seminars in Hematology, The Biologic Basis of Stem-Cell Therapy*, 37 (janvier): 25-32. [https://doi.org/10.1016/S0037-1963\(00\)90086-6](https://doi.org/10.1016/S0037-1963(00)90086-6).
- Lipreri da Silva, Jean Carlos, Juan Luiz Coelho-Silva, Keli Lima, Hugo Passos Vicari, Mariana Lazarini, Leticia Veras Costa-Lotufo, Fabiola Traina, et João Agostinho Machado-Neto. 2021. « Comprehensive Analysis of Cytoskeleton Regulatory Genes Identifies Ezrin as a Prognostic Marker and Molecular Target in Acute Myeloid Leukemia ». *Cellular Oncology* 44 (5): 1105-17. <https://doi.org/10.1007/s13402-021-00621-0>.
- Liu, Chen-Ying, Zheng-Yu Zha, Xin Zhou, Heng Zhang, Wei Huang, Di Zhao, Tingting Li, et al. 2010. « The Hippo Tumor Pathway Promotes TAZ Degradation by Phosphorylating a Phosphodegron and Recruiting the SCF β -TrCP E3 Ligase ». *The Journal of Biological Chemistry* 285 (48): 37159-69. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.152942>.
- Liu, Chun, Miao Li, Zhao-Xia Dong, Dong Jiang, Xiaojing Li, Shuibin Lin, Demeng Chen, Xuenong Zou, Xing-Ding Zhang, et Gary D. Luker. 2021. « Heterogeneous Microenvironmental Stiffness Regulates Pro-Metastatic Functions of Breast Cancer Cells ». *Acta Biomaterialia* 131 (septembre): 326-40. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.07.009>.
- Liu, Xiaowen, Tao Yang, Koya Suzuki, Sachiko Tsukita, Masaru Ishii, Shuping Zhou, Gang Wang, et al. 2015. « Moesin and myosin phosphatase confine neutrophil orientation in a chemotactic gradient ». *The Journal of Experimental Medicine* 212 (2): 267-80. <https://doi.org/10.1084/jem.20140508>.
- Liu, Xin, Qing Ye, Xi-Pin Zhao, Peng-Bo Zhang, Si Li, Rong-Qing Li, et Xi-Long Zhao. 2019. « RAS Mutations in Acute Myeloid Leukaemia Patients: A Review and Meta-Analysis ». *Clinica Chimica Acta* 489 (février): 254-60. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.08.040>.
- Löffek, S., O. Schilling, et C.-W. Franzke. 2011. « Biological Role of Matrix Metalloproteinases: A Critical Balance ». *European Respiratory Journal* 38 (1): 191-208. <https://doi.org/10.1183/09031936.00146510>.
- Lombardi, Maria L., Diana E. Jaalouk, Catherine M. Shanahan, Brian Burke, Kyle J. Roux, et Jan Lammerding. 2011. « The Interaction between Nesprins and Sun Proteins at the Nuclear Envelope Is Critical for Force Transmission between the Nucleus and Cytoskeleton ». *Journal of Biological Chemistry* 286 (30): 26743-53. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.233700>.
- Loosdregt, I. A. E. W. van, M. A. F. Kamps, C. W. J. Oomens, S. Loerakker, J. L. V. Broers, et C. V. C. Bouten. 2017. « Lmna Knockout Mouse Embryonic Fibroblasts Are Less Contractile than Their Wild-Type Counterparts ». *Integrative Biology* 9 (8): 709-21. <https://doi.org/10.1039/C7IB00069C>.
- Lorthongpanich, Chanchao, Nittaya Jiamvoraphong, Phatchanat Klaihmon, Usaneeporn Lueangamornnara, Yaowalak U-Pratya, Chuti Laowtammathron, et Surapol Issaragrisil. 2020. « Effect of YAP/TAZ on Megakaryocyte Differentiation and Platelet Production ». *Bioscience Reports* 40 (8): BSR20201780. <https://doi.org/10.1042/BSR20201780>.
- Lotem, Joseph, et Leo Sachs. 2002. « Cytokine Control of Developmental Programs in Normal Hematopoiesis and Leukemia ». *Oncogene* 21 (21): 3284-94. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1205319>.
- Lu, Haowei, Hui Wang, Guohua Huang, Xuchao Wang, et Xiaolin Bu. 2022. « Therapeutic Targeting of Mechanical Stretch-Induced FAK/ERK Signaling by Fisetin in Hypertrophic Scars ». *European Journal of Pharmacology* 932 (octobre): 175228. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.175228>.

- Lucero, H. A., et H. M. Kagan. 2006. « Lysyl Oxidase: An Oxidative Enzyme and Effector of Cell Function ». *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS* 63 (19): 2304-16. <https://doi.org/10.1007/s00018-006-6149-9>.
- Luger, Selina M. 2017. « How Can One Optimize Induction Therapy in AML? » *Best Practice & Research Clinical Haematology, Acute Leukemia and Myelodysplasia: Advances and Controversies*, 30 (4): 301-5. <https://doi.org/10.1016/j.beha.2017.10.001>.
- Lv, Jiadi, Yaoping Liu, Feiran Cheng, Jiping Li, Yabo Zhou, Tianzhen Zhang, Nannan Zhou, et al. 2021. « Cell softness regulates tumorigenicity and stemness of cancer cells ». *The EMBO Journal* 40 (2): e106123. <https://doi.org/10.15252/embj.2020106123>.
- Mach, D. B, S. D Rogers, M. C Sabino, N. M Luger, M. J Schwei, J. D Pomonis, C. P Keyser, et al. 2002. « Origins of Skeletal Pain: Sensory and Sympathetic Innervation of the Mouse Femur ». *Neuroscience* 113 (1): 155-66. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(02\)00165-3](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(02)00165-3).
- Maggi, Federica, Maria Beatrice Morelli, Massimo Nabissi, Oliviero Marinelli, Laura Zeppa, Cristina Aguzzi, Giorgio Santoni, et Consuelo Amantini. 2021. « Transient Receptor Potential (TRP) Channels in Haematological Malignancies: An Update ». *Biomolecules* 11 (mai): 765. <https://doi.org/10.3390/biom11050765>.
- Maguer-Satta, Véronique, et Ruth Rimokh. 2004. « FLRG, Member of the Follistatin Family, a New Player in Hematopoiesis ». *Molecular and Cellular Endocrinology, Proceedings of the International Workshop on Inhibins, Activins and Follistatins*, 225 (1): 109-18. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2004.07.009>.
- Maître, Jean-Léon, Hervé Turlier, Rukshala Illukkumbura, Björn Eismann, Ritsuya Niwayama, François Nédélec, et Takashi Hiiragi. 2016. « Asymmetric division of contractile domains couples cell positioning and fate specification ». *Nature* 536 (7616): 344-48. <https://doi.org/10.1038/nature18958>.
- Majeti, Ravindra, Mark P. Chao, Ash A. Alizadeh, Wendy W. Pang, Siddhartha Jaiswal, Kenneth D. Gibbs, Nico van Rooijen, et Irving L. Weissman. 2009. « CD47 is an adverse prognostic factor and therapeutic antibody target on human acute myeloid leukemia stem cells ». *Cell* 138 (2): 286-99. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.05.045>.
- Malara, Alessandro, Manuela Currao, Cristian Gruppi, Giuseppe Celesti, Gianluca Viarengo, Chiara Buracchi, Luigi Laghi, David L. Kaplan, et Alessandra Balduini. 2014. « Megakaryocytes Contribute to the Bone Marrow-Matrix Environment by Expressing Fibronectin, Type IV Collagen, and Laminin ». *Stem Cells* 32 (4): 926-37. <https://doi.org/10.1002/stem.1626>.
- Marinkovic, Milos, Olivia N. Tran, Travis J. Block, Rubie Rakian, Aaron O. Gonzalez, David D. Dean, Chih-Ko Yeh, et Xiao-Dong Chen. 2020. « Native Extracellular Matrix, Synthesized Ex Vivo by Bone Marrow or Adipose Stromal Cells, Faithfully Directs Mesenchymal Stem Cell Differentiation ». *Matrix Biology Plus* 8 (novembre): 100044. <https://doi.org/10.1016/j.mbplus.2020.100044>.
- Marqués-Torrejón, María Ángeles, Charles A. C. Williams, Benjamin Southgate, Neza Alfazema, Melanie P. Clements, Claudia Garcia-Diaz, Carla Blin, et al. 2021. « LRIG1 Is a Gatekeeper to Exit from Quiescence in Adult Neural Stem Cells ». *Nature Communications* 12. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22813-w>.
- Maruyama, Junichi, Kazutoshi Inami, Fumiyoshi Michishita, Xinliang Jiang, Hiroaki Iwasa, Kentaro Nakagawa, Mari Ishigami-Yuasa, et al. 2018. « Novel YAP1 Activator, Identified by Transcription-Based Functional Screen, Limits Multiple Myeloma Growth ». *Molecular Cancer Research: MCR* 16 (2): 197-211. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-17-0382>.
- Maryanovich, Maria, Ali H. Zahalka, Halley Pierce, Sandra Pinho, Fumio Nakahara, Noboru Asada, Qiaozhi Wei, et al. 2018. « Adrenergic nerve degeneration in bone marrow drives aging of the hematopoietic stem cell niche ». *Nature medicine* 24 (6): 782-91. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0030-x>.
- Mason, Devon E., Joseph M. Collins, James H. Dawahare, Trung Dung Nguyen, Yang Lin, Sherry L. Voytik-Harbin, Pinar Zorlutuna, Mervin C. Yoder, et Joel D. Boerckel. 2019. « YAP and TAZ limit cytoskeletal and focal adhesion maturation to enable persistent cell motility ». *Journal of Cell Biology* 218 (4): 1369-89. <https://doi.org/10.1083/jcb.201806065>.
- Massagué, Joan, Joan Seoane, et David Wotton. 2005. « Smad Transcription Factors ». *Genes & Development* 19 (23): 2783-2810. <https://doi.org/10.1101/gad.1350705>.
- Matsunaga, T., F. Fukai, S. Miura, Y. Nakane, T. Owaki, H. Kodama, M. Tanaka, et al. 2008. « Combination Therapy of an Anticancer Drug with the FNIII14 Peptide of Fibronectin Effectively Overcomes Cell Adhesion-Mediated Drug Resistance of Acute Myelogenous Leukemia ». *Leukemia* 22 (2): 353-60. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2405017>.
- Matsunaga, Takuya, Naofumi Takemoto, Tsutomu Sato, Rishu Takimoto, Ikuta Tanaka, Akihito Fujimi, Takehide Akiyama, et al. 2003. « Interaction between Leukemic-Cell VLA-4 and Stromal Fibronectin Is a Decisive

- Factor for Minimal Residual Disease of Acute Myelogenous Leukemia ». *Nature Medicine* 9 (9): 1158-65. <https://doi.org/10.1038/nm909>.
- Megías-Vericat, Juan Eduardo, David Martínez-Cuadrón, Antonio Solana-Altabella, José Luis Poveda, et Pau Montesinos. 2022. « Systematic Review of Pharmacogenetics of ABC and SLC Transporter Genes in Acute Myeloid Leukemia ». *Pharmaceutics* 14 (4): 878. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14040878>.
- Méndez-Ferrer, Simón, Dominique Bonnet, David P. Steensma, Robert P. Hasserjian, Irene M. Ghobrial, John G. Gribben, Michael Andreeff, et Daniela S. Krause. 2020. « Bone Marrow Niches in Haematological Malignancies ». *Nature Reviews Cancer* 20 (5): 285-98. <https://doi.org/10.1038/s41568-020-0245-2>.
- Méndez-Ferrer, Simón, Daniel Lucas, Michela Battista, et Paul S. Frenette. 2008. « Haematopoietic Stem Cell Release Is Regulated by Circadian Oscillations ». *Nature* 452 (7186): 442-47. <https://doi.org/10.1038/nature06685>.
- Méndez-Ferrer, Simón, Tatyana Michurina, Francesca Ferraro, Amin Mazloom, Ben MacArthur, Sergio Lira, David Scadden, Avi Ma'ayan, Grigori Enikolopov, et Paul Frenette. 2010. « Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche ». *Nature* 466 (août): 829-34. <https://doi.org/10.1038/nature09262>.
- Metcalfe, Donald. 1998. « Regulatory Mechanisms Controlling Hematopoiesis: Principles and Problems ». *STEM CELLS* 16 (S2): 3-11. <https://doi.org/10.1002/stem.5530160804>.
- Michael, Kristin E., Varadraj N. Vernekar, Benjamin G. Keselowsky, J. Carson Meredith, Robert A. Latour, et Andrés J. García. 2003. « Adsorption-Induced Conformational Changes in Fibronectin Due to Interactions with Well-Defined Surface Chemistries ». *Langmuir* 19 (19): 8033-40. <https://doi.org/10.1021/la034810a>.
- Mishra, Yasaswi Gayatri, et Bramanandam Manavathi. 2021. « Focal Adhesion Dynamics in Cellular Function and Disease ». *Cellular Signalling* 85 (septembre): 110046. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2021.110046>.
- Miyazono, Kohei, Yuto Kamiya, et Masato Morikawa. 2010. « Bone morphogenetic protein receptors and signal transduction ». *The Journal of Biochemistry* 147 (1): 35-51. <https://doi.org/10.1093/jb/mvp148>.
- Mizutani, Tetsuya, Makoto Orisaka, Yumiko Miyazaki, Ririko Morichika, Miki Uesaka, Kaoru Miyamoto, et Yoshio Yoshida. 2022. « Inhibition of YAP/TAZ-TEAD activity induces cytotrophoblast differentiation into syncytiotrophoblast in human trophoblast ». *Molecular Human Reproduction* 28 (10): gaac032. <https://doi.org/10.1093/molehr/gaac032>.
- Moerman, Elena J., Kui Teng, David A. Lipschitz, et Beata Lecka-Czernik. 2004. « Aging activates adipogenic and suppresses osteogenic programs in mesenchymal marrow stroma/stem cells: the role of PPAR- γ 2 transcription factor and TGF- β /BMP signaling pathways ». *Aging cell* 3 (6): 379-89. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9728.2004.00127.x>.
- Molinie, Nicolas, et Alexis Gautreau. 2018. « The Arp2/3 Regulatory System and Its Dereglulation in Cancer ». *Physiological Reviews* 98 (1): 215-38. <https://doi.org/10.1152/physrev.00006.2017>.
- Muller-Sieburg, Christa E., Rebecca H. Cho, Lars Karlsson, Jing-F. Huang, et Hans B. Sieburg. 2004. « Myeloid-Biased Hematopoietic Stem Cells Have Extensive Self-Renewal Capacity but Generate Diminished Lymphoid Progeny with Impaired IL-7 Responsiveness ». *Blood* 103 (11): 4111-18. <https://doi.org/10.1182/blood-2003-10-3448>.
- Naci, Dalila, Sofiane Berrazouane, Frédéric Barabé, et Fawzi Aoudjit. 2019. « Cell adhesion to collagen promotes leukemia resistance to doxorubicin by reducing DNA damage through the inhibition of Rac1 activation ». *Scientific Reports* 9 (décembre): 19455. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55934-w>.
- Nam, Hyung-song, et Robert Benezra. 2009. « High Levels of Id1 Expression Define B1 Type Adult Neural Stem Cells ». *Cell stem cell* 5 (5): 515-26. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2009.08.017>.
- Nardone, Giorgia, Jorge Oliver-De La Cruz, Jan Vrbsky, Cecilia Martini, Jan Pribyl, Petr Skládal, Martin Pešl, et al. 2017. « YAP regulates cell mechanics by controlling focal adhesion assembly ». *Nature Communications* 8 (mai). <https://doi.org/10.1038/ncomms15321>.
- Naveiras, Olaia, Valentina Nardi, Pamela L. Wenzel, Frederic Fahey, et George Q. Daley. 2009. « Bone marrow adipocytes as negative regulators of the hematopoietic microenvironment ». *Nature* 460 (7252): 259-63. <https://doi.org/10.1038/nature08099>.
- Nehme, Ali, Hassan Dakik, Frédéric Picou, Meyling Cheok, Claude Preudhomme, Hervé Dombret, Juliette Lambert, et al. 2020. « Horizontal Meta-Analysis Identifies Common Deregulated Genes across AML Subgroups Providing a Robust Prognostic Signature ». *Blood Advances* 4 (20): 5322-35. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020002042>.

- Neininger, Abigail C., Xiaozhaun Dai, Qi Liu, et Dylan T. Burnette. 2021. « The Hippo pathway regulates density-dependent proliferation of iPSC-derived cardiac myocytes ». *Scientific Reports* 11 (septembre): 17759. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-97133-6>.
- Nervi, Bruno, Pablo Ramirez, Michael P. Rettig, Geoffrey L. Uy, Matthew S. Holt, Julie K. Ritchey, Julie L. Prior, et al. 2009. « Chemosensitization of acute myeloid leukemia (AML) following mobilization by the CXCR4 antagonist AMD3100 ». *Blood* 113 (24): 6206-14. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-06-162123>.
- Nie, Ping, Yao Li, Hairui Suo, Ning Jiang, Dedong Yu, et Bing Fang. 2019. « Dasatinib Promotes Chondrogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells via the Src/Hippo-YAP Signaling Pathway ». *ACS Biomaterials Science & Engineering* 5 (10): 5255-65. <https://doi.org/10.1021/acsbomaterials.9b00618>.
- Nistala, Harikiran, Sui Lee-Arteaga, Silvia Smaldone, Gabriella Siciliano, Luca Carta, Robert N. Ono, Gerhard Sengle, et al. 2010. « Fibrillin-1 and -2 differentially modulate endogenous TGF- β and BMP bioavailability during bone formation ». *The Journal of Cell Biology* 190 (6): 1107-21. <https://doi.org/10.1083/jcb.201003089>.
- Noland, Cameron L., Sarah Gierke, Paul D. Schnier, Jeremy Murray, Wendy N. Sandoval, Meredith Sagolla, Anwasha Dey, Rami N. Hannoush, Wayne J. Fairbrother, et Christian N. Cunningham. 2016. « Palmitoylation of TEAD Transcription Factors Is Required for Their Stability and Function in Hippo Pathway Signaling ». *Structure (London, England: 1993)* 24 (1): 179-86. <https://doi.org/10.1016/j.str.2015.11.005>.
- Nombela-Arrieta, César, Gregory Pivarnik, Beatrice Winkel, Kimberly J. Canty, Brendan Harley, John E. Mahoney, Shin-Young Park, Jiayun Lu, Alexei Protopopov, et Leslie E. Silberstein. 2013. « Quantitative Imaging of Hematopoietic Stem and Progenitor Cell localization and hypoxic status in the Bone Marrow microenvironment ». *Nature cell biology* 15 (5): 533-43. <https://doi.org/10.1038/ncb2730>.
- O'Brien, Catherine A., Antonija Kreso, Paul Ryan, Karin G. Hermans, Lianne Gibson, Yadong Wang, Andrew Tsatsanis, Steven Gallinger, et John E. Dick. 2012. « ID1 and ID3 Regulate the Self-Renewal Capacity of Human Colon Cancer-Initiating Cells through P21 ». *Cancer Cell* 21 (6): 777-92. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.04.036>.
- Ogawa, Makio. 1993. « Differentiation and Proliferation of Hematopoietic Stem Cells ». *Blood* 81 (11): 2844-53. <https://doi.org/10.1182/blood.V81.11.2844.2844>.
- Ohkawara, Bisei, Shun-ichiro Iemura, Peter ten Dijke, et Naoto Ueno. 2002. « Action Range of BMP Is Defined by Its N-Terminal Basic Amino Acid Core ». *Current Biology* 12 (3): 205-9. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(01\)00684-4](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(01)00684-4).
- Oliver-De La Cruz, Jorge, Giorgia Nardone, Jan Vrbsky, Antonio Pompeiano, Ana Rubina Perestrelo, Francesco Capradossi, Katarína Melajová, Petr Filipensky, et Giancarlo Forte. 2019. « Substrate Mechanics Controls Adipogenesis through YAP Phosphorylation by Dictating Cell Spreading ». *Biomaterials* 205 (juin): 64-80. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.03.009>.
- Olsson, Per-Anders, Laura Korhonen, Eric A. Mercer, et Dan Lindholm. 1999. « MIR Is a Novel ERM-like Protein That Interacts with Myosin Regulatory Light Chain and Inhibits Neurite Outgrowth * ». *Journal of Biological Chemistry* 274 (51): 36288-92. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.51.36288>.
- Omatsu, Yoshiki, Tatsuki Sugiyama, Hiroshi Kohara, Gen Kondoh, Nobutaka Fujii, Kenji Kohno, et Takashi Nagasawa. 2010. « The Essential Functions of Adipo-Osteogenic Progenitors as the Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Niche ». *Immunity* 33 (3): 387-99. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.08.017>.
- Onichtchouk, D., Y. G. Chen, R. Dosch, V. Gawantka, H. Delius, J. Massagué, et C. Niehrs. 1999. « Silencing of TGF-Beta Signalling by the Pseudoreceptor BAMBI ». *Nature* 401 (6752): 480-85. <https://doi.org/10.1038/46794>.
- Oswald, Joachim, Sabine Boxberger, Birgitte Jørgensen, Silvia Feldmann, Gerhard Ehninger, Martin Bornhäuser, et Carsten Werner. 2004. « Mesenchymal Stem Cells Can Be Differentiated Into Endothelial Cells In Vitro ». *Stem Cells* 22 (3): 377-84. <https://doi.org/10.1634/stemcells.22-3-377>.
- Pancierà, Tito, Luca Azzolin, Michelangelo Cordenonsi, et Stefano Piccolo. 2017. « Mechanobiology of YAP and TAZ in physiology and disease ». *Nature reviews. Molecular cell biology* 18 (12): 758-70. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.87>.
- Pang, Wendy W., Elizabeth A. Price, Debashis Sahoo, Isabel Beerman, William J. Maloney, Derrick J. Rossi, Stanley L. Schrier, et Irving L. Weissman. 2011. « Human bone marrow hematopoietic stem cells are increased in frequency and myeloid-biased with age ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (50): 20012-17. <https://doi.org/10.1073/pnas.1116110108>.

- Park, Hyun Woo, Young Chul Kim, Bo Yu, Toshiro Moroishi, Jung-Soon Mo, Steven W. Plouffe, Zhipeng Meng, et al. 2015. « Alternative Wnt Signaling Activates YAP/TAZ ». *Cell* 162 (4): 780-94. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.07.013>.
- Passaro, Diana, Alessandro Di Tullio, Ander Abarrategi, Kevin Rouault-Pierre, Katie Foster, Linda Ariza-McNaughton, Beatriz Montaner, et al. 2017. « Increased Vascular Permeability in the Bone Marrow Microenvironment Contributes to Disease Progression and Drug Response in Acute Myeloid Leukemia ». *Cancer Cell* 32 (3): 324-341.e6. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.08.001>.
- Patteson, Alison E., Katarzyna Pogoda, Fitzroy J. Byfield, Kalpana Mandal, Zofia Ostrowska-Podhorodecka, Elisabeth E. Charrier, Peter A. Galie, et al. 2019. « Loss of vimentin enhances cell motility through small confining spaces ». *Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* 15 (50): e1903180. <https://doi.org/10.1002/sml.201903180>.
- Pearson, Joel D., Katherine Huang, Marek Pacal, Sean R. McCurdy, Suying Lu, Arthur Aubry, Tao Yu, et al. 2021. « Binary pan-cancer classes with distinct vulnerabilities defined by pro- or anti-cancer YAP/TEAD activity ». *Cancer cell* 39 (8): 1115-1134.e12. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2021.06.016>.
- Perry, John M., Omid F. Harandi, et Robert F. Paulson. 2007. « BMP4, SCF, and hypoxia cooperatively regulate the expansion of murine stress erythroid progenitors ». *Blood* 109 (10): 4494-4502. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-04-016154>.
- Petrakis, Nicholas L. 1954. « Bone Marrow Pressure in Leukemic and Non-Leukemic Patients ». *Journal of Clinical Investigation* 33 (1): 27-34.
- Piccolo, S., E. Agius, B. Lu, S. Goodman, L. Dale, et E. M. De Robertis. 1997. « Cleavage of Chordin by Xolloid Metalloprotease Suggests a Role for Proteolytic Processing in the Regulation of Spemann Organizer Activity ». *Cell* 91 (3): 407-16. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80424-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80424-9).
- Piccolo, Stefano, Sirio Dupont, et Michelangelo Cordenonsi. 2014. « The Biology of YAP/TAZ: Hippo Signaling and Beyond ». *Physiological Reviews* 94 (4): 1287-1312. <https://doi.org/10.1152/physrev.00005.2014>.
- Pinho, Sandra, et Paul S. Frenette. 2019. « Haematopoietic stem cell activity and interactions with the niche ». *Nature reviews. Molecular cell biology* 20 (5): 303-20. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0103-9>.
- Plouffe, Steven W., Kimberly C. Lin, Jerrell L. Moore, Frederick E. Tan, Shenghong Ma, Zhen Ye, Yunjiang Qiu, Bing Ren, et Kun-Liang Guan. 2018. « The Hippo pathway effector proteins YAP and TAZ have both distinct and overlapping functions in the cell ». *The Journal of Biological Chemistry* 293 (28): 11230-40. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.002715>.
- Pogoda, Katarzyna, Justyna Jaczewska, Joanna Wiltowska-Zuber, Olesya Klymenko, Kazimierz Zuber, Maria Fornal, et Małgorzata Lekka. 2012. « Depth-Sensing Analysis of Cytoskeleton Organization Based on AFM Data ». *European Biophysics Journal: EBJ* 41 (1): 79-87. <https://doi.org/10.1007/s00249-011-0761-9>.
- Pollard, Thomas D. 2016. « Actin and Actin-Binding Proteins ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 8 (8): a018226. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018226>.
- Ponce, Laia Pascual, Nadja C. Fenn, Nadine Moritz, Christina Krupka, Jan-Hendrik Kozik, Kirsten Lauber, Marion Subklewe, et Karl-Peter Hopfner. 2017. « SIRP α -antibody fusion proteins stimulate phagocytosis and promote elimination of acute myeloid leukemia cells ». *Oncotarget* 8 (7): 11284-301. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14500>.
- Poulos, Michael G., Pradeep Ramalingam, Michael C. Gutkin, Pierre Llanos, Katherine Gilleran, Sina Y. Rabbany, et Jason M. Butler. 2017. « Endothelial transplantation rejuvenates aged hematopoietic stem cell function ». *The Journal of Clinical Investigation* 127 (11): 4163-78. <https://doi.org/10.1172/JCI93940>.
- Provenzano, Paolo P, David R Inman, Kevin W Eliceiri, Justin G Knittel, Long Yan, Curtis T Rueden, John G White, et Patricia J Keely. 2008. « Collagen density promotes mammary tumor initiation and progression ». *BMC Medicine* 6 (avril): 11. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-6-11>.
- Prunet, A., S. Lefort, H. Delanoë-Ayari, B. Laperrousaz, G. Simon, C. Barentin, S. Saci, et al. 2020. « A New Agarose-Based Microsystem to Investigate Cell Response to Prolonged Confinement ». *Lab on a Chip* 20 (21): 4016-30. <https://doi.org/10.1039/d0lc00732c>.
- Qian, Xuan, Linlin He, Meng Hao, Yuan Li, Xizhi Li, Yiqi Liu, Hong Jiang, et al. 2021. « YAP Mediates the Interaction between the Hippo and PI3K/Akt Pathways in Mesangial Cell Proliferation in Diabetic Nephropathy ». *Acta Diabetologica* 58 (1): 47-62. <https://doi.org/10.1007/s00592-020-01582-w>.
- Qin, Zhaoping, Wei Xia, Gary J. Fisher, John J. Voorhees, et Taihao Quan. 2018. « YAP/TAZ Regulates TGF- β /Smad3 Signaling by Induction of Smad7 via AP-1 in Human Skin Dermal Fibroblasts ». *Cell Communication and Signaling: CCS* 16 (1): 18. <https://doi.org/10.1186/s12964-018-0232-3>.
- Quintás-Cardama, Alfonso, Farhad Ravandi, Theresa Liu-Dumlao, Mark Brandt, Stefan Faderl, Sherry Pierce, Gautam Borthakur, Guillermo Garcia-Manero, Jorge Cortes, et Hagop Kantarjian. 2012. « Epigenetic

- Therapy Is Associated with Similar Survival Compared with Intensive Chemotherapy in Older Patients with Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia ». *Blood* 120 (24): 4840-45.
<https://doi.org/10.1182/blood-2012-06-436055>.
- Ramasamy, Saravana K. 2017. « Structure and Functions of Blood Vessels and Vascular Niches in Bone ». *Stem Cells International* 2017 (septembre): e5046953. <https://doi.org/10.1155/2017/5046953>.
- Ramasamy, Saravana K., Anjali P. Kusumbe, Lin Wang, et Ralf H. Adams. 2014. « Endothelial Notch activity promotes angiogenesis and osteogenesis in bone ». *Nature* 507 (7492): 376-80.
<https://doi.org/10.1038/nature13146>.
- Ranade, Sanjeev S., Zhaozhu Qiu, Seung-Hyun Woo, Sung Sik Hur, Swetha E. Murthy, Stuart M. Cahalan, Jie Xu, et al. 2014. « Piezo1, a mechanically activated ion channel, is required for vascular development in mice ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111 (28): 10347-52. <https://doi.org/10.1073/pnas.1409233111>.
- Raymond, Aaron, Bin Liu, Hong Liang, Ciamaio Wei, Michele Guindani, Yue Lu, Shoudan Liang, Lisa S. St. John, Jeff Molldrem, et Lalitha Nagarajan. 2014. « A role for BMP-induced homeobox gene MIXL1 in acute myelogenous leukemia and identification of type I BMP receptor as a potential target for therapy ». *Oncotarget* 5 (24): 12675-93.
- Rezende, Luisa, Natalia Fernanda Do Couto, Wesley Fernandes-Braga, Yulia Epshtein, Jacqueline Isaura Alvarez-Leite, Irena Levitan, et Luciana de Oliveira Andrade. 2022. « OxLDL Induces Membrane Structure Rearrangement Leading to Biomechanics Alteration and Migration Deficiency in Macrophage ». *Biochimica Et Biophysica Acta. Biomembranes* 1864 (9): 183951.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2022.183951>.
- Richardson, Daniel R., David M. Swoboda, Dominic T. Moore, Steven M. Johnson, Onyee Chan, Jonathan Galeotti, Sonia Esparza, et al. 2021. « Genomic Characteristics and Prognostic Significance of Co-Mutated ASXL1/SRSF2 Acute Myeloid Leukemia ». *American Journal of Hematology* 96 (4): 462-70.
<https://doi.org/10.1002/ajh.26110>.
- Rompolas, Panteleimon, Kailin R Mesa, et Valentina Greco. 2013. « Spatial Organization within a Niche as a Determinant of Stem-Cell Fate ». *Nature* 502 (7472): 513-18. <https://doi.org/10.1038/nature12602>.
- Sabra, Hiba, Molly Brunner, Vinay Mandati, Bernhard Wehrle-Haller, Dominique Lallemand, Anne-Sophie Ribba, Genevieve Chevalier, Philippe Guardiola, Marc R. Block, et Daniel Bouvard. 2017. « B1 Integrin-Dependent Rac/Group I PAK Signaling Mediates YAP Activation of Yes-Associated Protein 1 (YAP1) via NF2/Merlin ». *Journal of Biological Chemistry* 292 (47): 19179-97.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M117.808063>.
- Sales, Adrià, Valia Khodr, Paul Machillot, Line Chaar, Laure Fourel, Amaris Guevara-Garcia, Elisa Migliorini, Corinne Albigès-Rizo, et Catherine Picart. 2022. « Differential bioactivity of four BMP-family members as function of biomaterial stiffness ». *Biomaterials* 281 (février): 121363.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2022.121363>.
- Sapkota, Gopal, Claudio Alarcón, Francesca M. Spagnoli, Ali H. Brivanlou, et Joan Massagué. 2007. « Balancing BMP Signaling through Integrated Inputs into the Smad1 Linker ». *Molecular Cell* 25 (3): 441-54.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.01.006>.
- Sato, Noriko, Christophe Caux, Toshio Kitamura, Yoshinari Watanabe, Ken-ichi Arai, Jacques Banchereau, et Atsushi Miyajima. 1993. « Expression and Factor-Dependent Modulation of the Interleukin-3 Receptor Subunits on Human Hematopoietic Cells ». *Blood* 82 (3): 752-61.
<https://doi.org/10.1182/blood.V82.3.752.752>.
- Saxena, Monika, Nitin Agnihotri, et Jonaki Sen. 2018. « Perturbation of Canonical and Non-Canonical BMP Signaling Affects Migration, Polarity and Dendritogenesis of Mouse Cortical Neurons ». *Development (Cambridge, England)* 145 (1): dev147157. <https://doi.org/10.1242/dev.147157>.
- Schiller, Herbert B., Michaela-Rosemarie Hermann, Julien Polleux, Timothée Vignaud, Sara Zanivan, Caroline C. Friedel, Zhiqi Sun, et al. 2013. « B1- and Av-Class Integrins Cooperate to Regulate Myosin II during Rigidity Sensing of Fibronectin-Based Microenvironments ». *Nature Cell Biology* 15 (6): 625-36.
<https://doi.org/10.1038/ncb2747>.
- Schofield, R. 1978. « The Relationship between the Spleen Colony-Forming Cell and the Haemopoietic Stem Cell ». *Blood Cells* 4 (1-2): 7-25.
- Schreibvogel, Sophie, Virinchi Kuchibhotla, Petra Knaus, Georg N. Duda, et Ansgar Petersen. 2019. « Load-Induced Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stromal Cells Is Caused by Mechano-Regulated Autocrine Signaling ». *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* 13 (11): 1992-2008.
<https://doi.org/10.1002/term.2948>.

- Sefkow-Werner, Julius, Paul Machillot, Adria Sales, Elaine Castro-Ramirez, Melissa Degardin, Didier Boturyn, Elisabetta Ada Cavalcanti-Adam, Corinne Albiges-Rizo, Catherine Picart, et Elisa Migliorini. 2020. « Heparan Sulfate Co-Immobilized with CRGD Ligands and BMP2 on Biomimetic Platforms Promotes BMP2-Mediated Osteogenic Differentiation ». *Acta Biomaterialia* 114 (septembre): 90-103. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.07.015>.
- Segeren, C. M., et M. B. van 't Veer. 1996. « The FAB Classification for Acute Myeloid Leukaemia--Is It Outdated? » *The Netherlands Journal of Medicine* 49 (3): 126-31. [https://doi.org/10.1016/0300-2977\(96\)00024-1](https://doi.org/10.1016/0300-2977(96)00024-1).
- Shafat, Manar S., Thomas Oellerich, Sebastian Mohr, Stephen D. Robinson, Dylan R. Edwards, Christopher R. Marlein, Rachel E. Piddock, et al. 2017. « Leukemic blasts program bone marrow adipocytes to generate a protumoral microenvironment ». *Blood* 129 (10): 1320-32. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-08-734798>.
- Shen, Xiao-qing, Yuan-ming Geng, Ping Liu, Xiang-yu Huang, Shu-yi Li, Chun-dong Liu, Zheng Zhou, et Ping-ping Xu. 2017. « Magnitude-dependent response of osteoblasts regulated by compressive stress ». *Scientific Reports* 7 (mars): 44925. <https://doi.org/10.1038/srep44925>.
- Shentu, Tzu Pin, Igor Titushkin, Dev K. Singh, Keith J. Gooch, Papasani V. Subbaiah, Michael Cho, et Irena Levitan. 2010. « oxLDL-induced decrease in lipid order of membrane domains is inversely correlated with endothelial stiffness and network formation ». *American Journal of Physiology - Cell Physiology* 299 (2): C218-29. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00383.2009>.
- Shi, Mingyue, Ruijun J. Su, Kamal-Preet Parmar, Rahman Chaudhry, Kai Sun, Jianyu Rao, et Mingyi Chen. 2019. « CD123: A Novel Biomarker for Diagnosis and Treatment of Leukemia ». *Cardiovascular & Hematological Disorders Drug Targets* 19 (3): 195-204. <https://doi.org/10.2174/1871529X19666190627100613>.
- Shlush, Liran I., Amanda Mitchell, Lawrence Heisler, Sagi Abelson, Stanley W. K. Ng, Aaron Trotman-Grant, Jessie J. F. Medeiros, et al. 2017. « Tracing the Origins of Relapse in Acute Myeloid Leukaemia to Stem Cells ». *Nature* 547 (7661): 104-8. <https://doi.org/10.1038/nature22993>.
- Song, Fanglong, Xiaoyu Mao, Jun Dai, Bingchen Shan, Zhentao Zhou, et Yifan Kang. 2022. « Integrin AV β Signaling in the Progression of Osteoarthritis Induced by Excessive Mechanical Stress ». *Inflammation*, décembre. <https://doi.org/10.1007/s10753-022-01770-6>.
- Sorokin, L. M., F. Pausch, M. Frieser, S. Kröger, E. Ohage, et R. Deutzmann. 1997. « Developmental Regulation of the Laminin A5 Chain Suggests a Role in Epithelial and Endothelial Cell Maturation ». *Developmental Biology* 189 (2): 285-300. <https://doi.org/10.1006/dbio.1997.8668>.
- Speth, Jennifer M., Jonathan Hoggatt, Pratibha Singh, et Louis M. Pelus. 2014. « Pharmacologic Increase in HIF1 α Enhances Hematopoietic Stem and Progenitor Homing and Engraftment ». *Blood* 123 (2): 203-7. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-07-516336>.
- SPF. 2021. « Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine 1989-2018 - Leucémies aigües myeloïdes ». 2021. <https://www.santepubliquefrance.fr/import/survie-des-personnes-atteintes-de-cancer-en-france-metropolitaine-1989-2018-leucemies-aigues-myeloides>.
- Spudich, J. A., J. Finer, B. Simmons, K. Ruppel, B. Patterson, et T. Uyeda. 1995. « Myosin Structure and Function ». *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 60: 783-91. <https://doi.org/10.1101/sqb.1995.060.01.084>.
- Stein, Claudia, Anaïs Flore Bardet, Guglielmo Roma, Sebastian Bergling, Ieuan Clay, Alexandra Ruchti, Claudia Agarinis, et al. 2015. « YAP1 Exerts Its Transcriptional Control via TEAD-Mediated Activation of Enhancers ». *PLoS Genetics* 11 (8): e1005465. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005465>.
- Stier, Sebastian, Yon Ko, Randolf Forkert, Christoph Lutz, Thomas Neuhaus, Elisabeth Grünewald, Tao Cheng, et al. 2005. « Osteopontin is a hematopoietic stem cell niche component that negatively regulates stem cell pool size ». *The Journal of Experimental Medicine* 201 (11): 1781-91. <https://doi.org/10.1084/jem.20041992>.
- Storms, R. W., A. P. Trujillo, J. B. Springer, L. Shah, O. M. Colvin, S. M. Ludeman, et C. Smith. 1999. « Isolation of Primitive Human Hematopoietic Progenitors on the Basis of Aldehyde Dehydrogenase Activity ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96 (16): 9118-23. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.16.9118>.
- Stowers, Ryan S., Shane C. Allen, Karla Sanchez, Courtney L. Davis, Nancy D. Ebel, Carla Van Den Berg, et Laura J. Suggs. 2016. « Extracellular Matrix Stiffening Induces a Malignant Phenotypic Transition in Breast Epithelial Cells ». *Cellular and Molecular Bioengineering* 10 (1): 114-23. <https://doi.org/10.1007/s12195-016-0468-1>.

- Sudo, Takao, Takafumi Yokota, Tomohiko Ishibashi, Michiko Ichii, Yukiko Doi, Kenji Oritani, et Yuzuru Kanakur. 2013. « Canonical HSC Markers and Recent Achievements ». In *Stem Cell Biology in Normal Life and Diseases*, édité par Kamran Alimoghaddam. InTech. <https://doi.org/10.5772/54474>.
- Suh, Hyung Chan, Ming Ji, John Gooya, Michael Lee, Kimberly D. Klarmann, et Jonathan R. Keller. 2009. « Cell-nonautonomous function of Id1 in the hematopoietic progenitor cell niche ». *Blood* 114 (6): 1186-95. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-09-179788>.
- Sun, Qian, Yong Hou, Zhiqin Chu, et Qiang Wei. 2022. « Soft Overcomes the Hard: Flexible Materials Adapt to Cell Adhesion to Promote Cell Mechanotransduction ». *Bioactive Materials* 10 (avril): 397-404. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.08.026>.
- Sun, Zhenqiang, Ruiwei Xu, Xiayu Li, Weiguo Ren, Chunlin Ou, Qisan Wang, Han Zhang, et al. 2015. « Prognostic Value of Yes-Associated Protein 1 (YAP1) in Various Cancers: A Meta-Analysis ». *PLoS One* 10 (8): e0135119. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135119>.
- Susek, Katharina Helene, Eva Korpos, Jula Huppert, Chuan Wu, Irina Savelyeva, Frank Rosenbauer, Carsten Müller-Tidow, Steffen Koschmieder, et Lydia Sorokin. 2018. « Bone marrow laminins influence hematopoietic stem and progenitor cell cycling and homing to the bone marrow ». *Matrix biology : journal of the International Society for Matrix Biology* 67 (avril): 47-62. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2018.01.007>.
- Swiatlowska, Pamela, Jose L. Sanchez-Alonso, Peter T. Wright, Pavel Novak, et Julia Gorelik. 2020. « Microtubules regulate cardiomyocyte transversal Young's modulus ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117 (6): 2764-66. <https://doi.org/10.1073/pnas.1917171117>.
- Syeda, Ruhma, Maria. N. Florendo, Charles. D. Cox, Jennifer Kefauver, Jose. S. Santos, Boris Martinac, et Ardem Patapoutian. 2016. « Piezo1 channels are inherently mechanosensitive ». *Cell reports* 17 (7): 1739-46. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.10.033>.
- Szeto, Stephen G., Masahiro Narimatsu, Mingliang Lu, Xiaolin He, Ahmad M. Sidiqi, Monica F. Tolosa, Lauren Chan, et al. 2016. « YAP/TAZ Are Mechanoregulators of TGF- β -Smad Signaling and Renal Fibrogenesis ». *Journal of the American Society of Nephrology*, mars, ASN.2015050499. <https://doi.org/10.1681/ASN.2015050499>.
- Tabé, Yoko, Yue Xi Shi, Zhihong Zeng, Linhua Jin, Masato Shikami, Yasuhito Hatanaka, Takashi Miida, Frank J. Hsu, Michael Andreeff, et Marina Konopleva. 2013. « TGF- β -Neutralizing Antibody 1D11 Enhances Cytarabine-Induced Apoptosis in AML Cells in the Bone Marrow Microenvironment ». *PLoS ONE* 8 (6): e62785. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062785>.
- Tachibana, Kouichi, Hiroe Ohnishi, Seyed Mohammad Ali Haghparast, Takanori Kihara, et Jun Miyake. 2020. « Activation of PKC Induces Leukocyte Adhesion by the Dephosphorylation of ERM ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 523 (1): 177-82. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.12.044>.
- Taichman, Russell S., Marcelle J. Reilly, et Stephen G. Emerson. 1999. « Osteoblasts and The Hematopoietic Microenvironment ». *Hematology* 4 (5): 421-26. <https://doi.org/10.1080/10245332.1999.11746468>.
- Taylor, Justin, et Stanley C. Lee. 2019. « Mutations in Spliceosome Genes and Therapeutic Opportunities in Myeloid Malignancies ». *Genes, Chromosomes and Cancer* 58 (12): 889-902. <https://doi.org/10.1002/gcc.22784>.
- Testa, Ugo, Elvira Pelosi, et Arthur Frankel. 2014. « CD 123 is a membrane biomarker and a therapeutic target in hematologic malignancies ». *Biomarker Research* 2 (février): 4. <https://doi.org/10.1186/2050-7771-2-4>.
- Testa, Ugo, Roberta Riccioni, Stefania Militi, Eliana Coccia, Emilia Stellacci, Paola Samoggia, Roberto Latagliata, et al. 2002. « Elevated expression of IL-3R α in acute myelogenous leukemia is associated with enhanced blast proliferation, increased cellularity, and poor prognosis ». *Blood* 100 (8): 2980-88. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-03-0852>.
- Thakar, Dhruv, Fabien Dalonneau, Elisa Migliorini, Hugues Lortat-Jacob, Didier Boturyn, Corinne Albiges-Rizo, Liliane Coche-Guerente, Catherine Picart, et Ralf P. Richter. 2017. « Binding of the chemokine CXCL12 α to its natural extracellular matrix ligand heparan sulfate enables myoblast adhesion and facilitates cell motility ». *Biomaterials* 123 (avril): 24-38. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.01.022>.
- Tian, Boren, Qing Luo, Yang Ju, et Guanbin Song. 2019. « A Soft Matrix Enhances the Cancer Stem Cell Phenotype of HCC Cells ». *International Journal of Molecular Sciences* 20 (11): 2831. <https://doi.org/10.3390/ijms20112831>.
- Toofan, Parto, David Irvine, Lisa Hopcroft, Mhairi Copland, et Helen Wheadon. 2014. « The role of the bone morphogenetic proteins in leukaemic stem cell persistence ». *Biochemical Society Transactions* 42 (4): 809-15. <https://doi.org/10.1042/BST20140037>.

- Toofan, Parto, et Helen Wheadon. 2016. « Role of the Bone Morphogenic Protein Pathway in Developmental Haemopoiesis and Leukaemogenesis ». *Biochemical Society Transactions* 44 (5): 1455-63. <https://doi.org/10.1042/BST20160104>.
- Usuki, Kensuke, Saiko Kurosawa, Naoyuki Uchida, Kazuaki Yakushiji, Fusako Waki, Eijo Matsuishi, Kumiko Kagawa, et al. 2012. « Comparison of Autologous Hematopoietic Cell Transplantation and Chemotherapy as Postremission Treatment in Non-M3 Acute Myeloid Leukemia in First Complete Remission ». *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia* 12 (6): 444-51. <https://doi.org/10.1016/j.clml.2012.07.004>.
- Vasileva, Valeria, Elena Morachevskaya, Anastasia Sudarikova, Yuri Negulyaev, et Vladislav Chubinskiy-Nadezhdin. 2021. « Selective Chemical Activation of Piezo1 in Leukemia Cell Membrane: Single Channel Analysis ». *International Journal of Molecular Sciences* 22 (15): 7839. <https://doi.org/10.3390/ijms22157839>.
- Vassilev, Alex, Kotaro J. Kaneko, Hongjun Shu, Yingming Zhao, et Melvin L. DePamphilis. 2001. « TEAD/TEF transcription factors utilize the activation domain of YAP65, a Src/Yes-associated protein localized in the cytoplasm ». *Genes & Development* 15 (10): 1229-41. <https://doi.org/10.1101/gad.888601>.
- Vasudevan, Jyothsna, Kuan Jiang, Javier. G. Fernandez, et Chwee Teck Lim. 2022. « Extracellular Matrix Mechanobiology in Cancer Cell Migration ». *Acta Biomaterialia*, octobre. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.10.016>.
- Velten, Lars, Simon F. Haas, Simon Raffel, Sandra Blaszkiwicz, Saiful Islam, Bianca P. Hennig, Christoph Hirche, et al. 2017. « Human haematopoietic stem cell lineage commitment is a continuous process ». *Nature cell biology* 19 (4): 271-81. <https://doi.org/10.1038/ncb3493>.
- Viñado, Ana C., Isabel A. Calvo, Itziar Cenzano, Danel Olaverri, Miguel Cocera, Patxi San Martin-Uriz, Juan P. Romero, et al. 2022. « The Bone Marrow Niche Regulates Redox and Energy Balance in MLL::AF9 Leukemia Stem Cells ». *Leukemia* 36 (8): 1969-79. <https://doi.org/10.1038/s41375-022-01601-5>.
- Visnjic, Dora, Zana Kalajzic, David W. Rowe, Vedran Katavic, Joseph Lorenzo, et Hector L. Aguila. 2004. « Hematopoiesis Is Severely Altered in Mice with an Induced Osteoblast Deficiency ». *Blood* 103 (9): 3258-64. <https://doi.org/10.1182/blood-2003-11-4011>.
- Voeltzel, Thibault, Mario Flores-Violante, Florence Zylbersztejn, Sylvain Lefort, Marion Billandon, Sandrine Jeanpierre, Stéphane Joly, et al. 2018. « A New Signaling Cascade Linking BMP4, BMPR1A, Δ Np73 and NANOG Impacts on Stem-like Human Cell Properties and Patient Outcome ». *Cell Death & Disease* 9 (10): 1011. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-1042-7>.
- Voeltzel, Thibault, Gaëlle Fossard, Michaël Degaud, Kevin Geistlich, Nicolas Gadot, Sandrine Jeanpierre, Ivan Mikaelian, et al. 2021. « A Minimal Standardized Human Bone Marrow Microphysiological System to Assess Resident Cell Behavior during Normal and Pathological Processes ». *Biomaterials Science*, décembre. <https://doi.org/10.1039/d1bm01098k>.
- . 2022. « A Minimal Standardized Human Bone Marrow Microphysiological System to Assess Resident Cell Behavior during Normal and Pathological Processes ». *Biomaterials Science* 10 (2): 485-98. <https://doi.org/10.1039/d1bm01098k>.
- Wagner, Wolfgang, Frederik Wein, Anja Seckinger, Maria Frankhauser, Ute Wirkner, Ulf Krause, Jonathon Blake, et al. 2005. « Comparative Characteristics of Mesenchymal Stem Cells from Human Bone Marrow, Adipose Tissue, and Umbilical Cord Blood ». *Experimental Hematology* 33 (11): 1402-16. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2005.07.003>.
- Wakatsuki, Tetsuro. 2000. « Actin Polymerization and Cell Mechanics », 12.
- Wang, Chao, Xiaoyong Zhu, Weiwei Feng, Yinhuo Yu, Kangjin Jeong, Wei Guo, Yiling Lu, et Gordon B Mills. 2015. « Verteporfin inhibits YAP function through up-regulating 14-3-3 σ sequestering YAP in the cytoplasm ». *American Journal of Cancer Research* 6 (1): 27-37.
- Wang, Hao, Gordon M. Riha, Shaoyu Yan, Min Li, Hong Chai, Hui Yang, Qizhi Yao, et Changyi Chen. 2005. « Shear Stress Induces Endothelial Differentiation From a Murine Embryonic Mesenchymal Progenitor Cell Line ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 25 (9): 1817-23. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000175840.90510.a8>.
- Wang, Jean C. Y., et John E. Dick. 2005. « Cancer Stem Cells: Lessons from Leukemia ». *Trends in Cell Biology* 15 (9): 494-501. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2005.07.004>.
- Wang, Lan, Na Man, Xiao-Jian Sun, Yurong Tan, Marta García-Cao, Fan Liu, Megan Hatlen, et al. 2015. « Regulation of AKT Signaling by Id1 Controls t(8;21) Leukemia Initiation and Progression ». *Blood* 126 (5): 640-50. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-03-635532>.
- Wang, Xiaomeng, Robin E. Harris, Laura J. Bayston, et Hilary L. Ashe. 2008. « Type IV Collagens Regulate BMP Signalling in *Drosophila* ». *Nature* 455 (7209): 72-77. <https://doi.org/10.1038/nature07214>.

- 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>.
- Wei, Honglong, Fuhai Wang, Yong Wang, Tao Li, Peng Xiu, Jingtao Zhong, Xueying Sun, et Jie Li. 2017. « Verteporfin suppresses cell survival, angiogenesis and vasculogenic mimicry of pancreatic ductal adenocarcinoma via disrupting the YAP-TEAD complex ». *Cancer Science* 108 (3): 478-87. <https://doi.org/10.1111/cas.13138>.
- Weick, James K., Kenneth J. Kopecky, Frederick R. Appelbaum, David R. Head, Laura L. Kingsbury, Stanley P. Balcerzak, John N. Bickers, et al. 1996. « A Randomized Investigation of High-Dose Versus Standard-Dose Cytosine Arabinoside With Daunorubicin in Patients With Previously Untreated Acute Myeloid Leukemia: A Southwest Oncology Group Study ». *Blood* 88 (8): 2841-51. <https://doi.org/10.1182/blood.V88.8.2841.bloodjournal8882841>.
- Weickert, Marie-Theresa, Judith S. Hecker, Michèle C. Buck, Christina Schreck, Jennifer Rivière, Matthias Schiemann, Katharina Schallmoser, et al. 2021. « Bone marrow stromal cells from MDS and AML patients show increased adipogenic potential with reduced Delta-like-1 expression ». *Scientific Reports* 11 (mars): 5944. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85122-8>.
- Weiss, R. B. 1992. « The Anthracyclines: Will We Ever Find a Better Doxorubicin? » *Seminars in Oncology* 19 (6): 670-86.
- Wilcockson, Scott G., et Hilary L. Ashe. 2019. « Drosophila Ovarian Germline Stem Cell Cytocensor Projections Dynamically Receive and Attenuate BMP Signaling ». *Developmental Cell* 50 (3): 296-312.e5. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2019.05.020>.
- Wirth, Franziska, Alexander Lubosch, Stefan Hamelmann, et Inaam A. Nakchbandi. 2020. « Fibronectin and Its Receptors in Hematopoiesis ». *Cells* 9 (12): 2717. <https://doi.org/10.3390/cells9122717>.
- Wong, Terrence N., Giridharan Ramsingh, Andrew L. Young, Christopher A. Miller, Waseem Touma, John S. Welch, Tamara L. Lamprecht, et al. 2015. « The Role of TP53 Mutations in the Origin and Evolution of Therapy-Related AML ». *Nature* 518 (7540): 552-55. <https://doi.org/10.1038/nature13968>.
- Wu, Ming-Chung, Helen Wenshin Yu, Yin-Quan Chen, Meng-Hsin Ou, Ricardo Serrano, Guan-Lin Huang, Yang-Kao Wang, et al. 2022. « Early Committed Polarization of Intracellular Tension in Response to Cell Shape Determines the Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stromal Cells ». *Acta Biomaterialia*, novembre. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.10.052>.
- Xia, Maosheng, et Yue Zhu. 2011. « Fibronectin Fragment Activation of ERK Increasing Integrin A5 and B1 Subunit Expression to Degenerate Nucleus Pulposus Cells ». *Journal of Orthopaedic Research* 29 (4): 556-61. <https://doi.org/10.1002/jor.21273>.
- Yamazaki, Satoshi, Hideo Ema, Göran Karlsson, Tomoyuki Yamaguchi, Hiroyuki Miyoshi, Seiji Shioda, Makoto M. Taketo, Stefan Karlsson, Atsushi Iwama, et Hiromitsu Nakauchi. 2011. « Nonmyelinating Schwann Cells Maintain Hematopoietic Stem Cell Hibernation in the Bone Marrow Niche ». *Cell* 147 (5): 1146-58. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.09.053>.
- Yanada, M., N. Emi, T. Naoe, H. Sakamaki, T. Iseki, N. Hirabayashi, T. Karasuno, et al. 2004. « Allogeneic Myeloablative Transplantation for Patients Aged 50 Years and Over ». *Bone Marrow Transplantation* 34 (1): 29-35. <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1704518>.
- Yang, Chun, Mark W. Tibbitt, Lena Basta, et Kristi S. Anseth. 2014. « Mechanical Memory and Dosing Influence Stem Cell Fate ». *Nature Materials* 13 (6): 645-52. <https://doi.org/10.1038/nmat3889>.
- Yang, Feng-Chun, Sumiko Watanabe, Kohichiro Tsuji, Ming-jiang Xu, Azusa Kaneko, Yasuhiro Ebihara, et Tatsutoshi Nakahata. 1998. « Human Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF) Stimulates the In Vitro and In Vivo Development But Not Commitment of Primitive Multipotential Progenitors From Transgenic Mice Expressing the Human G-CSF Receptor ». *Blood* 92 (12): 4632-40. <https://doi.org/10.1182/blood.V92.12.4632>.
- Yang, Jing, Dong-Ming Yao, Ji-Chun Ma, Lei Yang, Hong Guo, Xiang-Mei Wen, Gao-Fei Xiao, Zhen Qian, Jiang Lin, et Jun Qian. 2016. « The Prognostic Implication of SRSF2 Mutations in Chinese Patients with Acute Myeloid Leukemia ». *Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* 37 (8): 10107-14. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-4716-0>.
- Yang, Kaixiang, Yingxing Wu, Peng Cheng, Jinming Zhang, Chengyuan Yang, Bin Pi, Yaping Ye, et al. 2016. « YAP and ERK Mediated Mechanical Strain-Induced Cell Cycle Progression through RhoA and Cytoskeletal Dynamics in Rat Growth Plate Chondrocytes ». *Journal of Orthopaedic Research* 34 (7): 1121-29. <https://doi.org/10.1002/jor.23138>.

- Yano, Shuya, Kiyoto Takehara, Hiroshi Tazawa, Hiroyuki Kishimoto, Yasuo Urata, Shunsuke Kagawa, Toshiyoshi Fujiwara, et Robert M. Hoffman. 2016. « Cell-cycle-dependent drug-resistant quiescent cancer cells induce tumor angiogenesis after chemotherapy as visualized by real-time FUCCL imaging ». *Cell Cycle* 16 (5): 406-14. <https://doi.org/10.1080/15384101.2016.1220461>.
- Yao, Minghui, Yadong Wang, Peng Zhang, Hong Chen, Zhiheng Xu, Jianwei Jiao, et Zengqiang Yuan. 2014. « BMP2-SMAD Signaling Represses the Proliferation of Embryonic Neural Stem Cells through YAP ». *Journal of Neuroscience* 34 (36): 12039-48. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0486-14.2014>.
- Yin, Amy H., Sheri Miraglia, Esmail D. Zanjani, Graca Almeida-Porada, Makio Ogawa, Anne G. Leary, Johanna Olweus, John Kearney, et David W. Buck. 1997. « AC133, a Novel Marker for Human Hematopoietic Stem and Progenitor Cells ». *Blood* 90 (12): 5002-12. <https://doi.org/10.1182/blood.V90.12.5002>.
- Yoshida, Kenichi, Masashi Sanada, Yuichi Shiraishi, Daniel Nowak, Yasunobu Nagata, Ryo Yamamoto, Yusuke Sato, et al. 2011. « Frequent Pathway Mutations of Splicing Machinery in Myelodysplasia ». *Nature* 478 (7367): 64-69. <https://doi.org/10.1038/nature10496>.
- Yoshihara, Hiroki, Fumio Arai, Kentaro Hosokawa, Tetsuya Hagiwara, Keiyo Takubo, Yuka Nakamura, Yumiko Gomei, et al. 2007. « Thrombopoietin/MPL Signaling Regulates Hematopoietic Stem Cell Quiescence and Interaction with the Osteoblastic Niche ». *Cell Stem Cell* 1 (6): 685-97. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2007.10.020>.
- You, Bin, Yi-Lin Yang, Zhidong Xu, Yuyuan Dai, Shu Liu, Jian-Hua Mao, Osamu Tetsu, Hui Li, David M. Jablons, et Liang You. 2015. « Inhibition of ERK1/2 down-Regulates the Hippo/YAP Signaling Pathway in Human NSCLC Cells ». *Oncotarget* 6 (6): 4357-68. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2974>.
- Yu, Fa-Xing, Bin Zhao, et Kun-Liang Guan. 2015. « Hippo Pathway in Organ Size Control, Tissue Homeostasis, and Cancer ». *Cell* 163 (4): 811-28. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.10.044>.
- Yu, Jifeng, Yingmei Li, Danfeng Zhang, Dingming Wan, et Zhongxing Jiang. 2020. « Clinical implications of recurrent gene mutations in acute myeloid leukemia ». *Experimental Hematology & Oncology* 9 (1): 4. <https://doi.org/10.1186/s40164-020-00161-7>.
- Yu, Yang, Xiao'an Wu, Sisi Liu, Hongping Zhao, Bo Li, Hucheng Zhao, et Xiqiao Feng. 2021. « Piezo1 regulates migration and invasion of breast cancer cells via modulating cell mechanobiological properties ». *Acta Biochimica et Biophysica Sinica* 53 (1): 10-18. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmaa112>.
- Zahr, Abdallah Abou, Mohamed E. Salama, Nicole Carreau, Douglas Tremblay, Srdan Verstovsek, Ruben Mesa, Ronald Hoffman, et John Mascarenhas. 2016. « Bone marrow fibrosis in myelofibrosis: pathogenesis, prognosis and targeted strategies ». *Haematologica* 101 (6): 660-71. <https://doi.org/10.3324/haematol.2015.141283>.
- Zaidi, Sayyed K., Andrew J. Sullivan, Ricardo Medina, Yoshiaki Ito, Andre J. van Wijnen, Janet L. Stein, Jane B. Lian, et Gary S. Stein. 2004. « Tyrosine Phosphorylation Controls Runx2-Mediated Subnuclear Targeting of YAP to Repress Transcription ». *The EMBO Journal* 23 (4): 790-99. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600073>.
- Zha, Jie, Mengya Zhong, Guangchao Pan, Qinwei Chen, Yuelong Jiang, Qian Lai, Jinshui Tan, Hui Zhou, Hua Wu, et Bing Xu. 2023. « Stratification and Therapeutic Potential of ELL in Cytogenetic Normal Acute Myeloid Leukemia ». *Gene* 856 (mars): 147110. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2022.147110>.
- Zhang, Jiwang, Chao Niu, Ling Ye, Haiyang Huang, Xi He, Wei-Gang Tong, Jason Ross, et al. 2003. « Identification of the Haematopoietic Stem Cell Niche and Control of the Niche Size ». *Nature* 425 (6960): 836-41. <https://doi.org/10.1038/nature02041>.
- Zhang, Lin, Shuping Yang, Xingcheng Chen, Seth Stauffer, Fang Yu, Subodh M. Lele, Kai Fu, et al. 2015. « The Hippo Pathway Effector YAP Regulates Motility, Invasion, and Castration-Resistant Growth of Prostate Cancer Cells ». *Molecular and Cellular Biology* 35 (8): 1350-62. <https://doi.org/10.1128/MCB.00102-15>.
- Zhang, Weiguo, Gautam Borthakur, Chen Gao, Ye Chen, Hong Mu, Vivian Ruvolo, Kenichi Nomoto, Nanding Zhao, Marina Konopleva, et Michael Andreeff. 2016. « The dual MEK/FLT3 inhibitor E6201 exerts cytotoxic activity against acute myeloid leukemia cells harboring resistance-conferring FLT3 mutations ». *Cancer research* 76 (6): 1528-37. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-1580>.
- Zhang, Wenjing, Yijun Gao, Peixue Li, Zhubing Shi, Tong Guo, Fei Li, Xiangkun Han, et al. 2014. « VGLL4 Functions as a New Tumor Suppressor in Lung Cancer by Negatively Regulating the YAP-TEAD Transcriptional Complex ». *Cell Research* 24 (3): 331-43. <https://doi.org/10.1038/cr.2014.10>.
- Zhang, Xia, Fang Wang, Jifeng Yu, et Zhongxing Jiang. 2022. « Significance of bone marrow fibrosis in acute myeloid leukemia for survival in the real-world ». *Frontiers in Oncology* 12 (octobre): 971082. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.971082>.

- Zhang, Xiaotian, Xinyu Wang, Xue Qing David Wang, Jianzhong Su, Nagireddy Putluri, Ting Zhou, Ying Qu, et al. 2020. « Dnmt3a loss and Idh2 neomorphic mutations mutually potentiate malignant hematopoiesis ». *Blood* 135 (11): 845-56. <https://doi.org/10.1182/blood.2019003330>.
- Zhao, Bei, Jun Xie, Xiyuan Zhou, Lixia Zhang, Xiankui Cheng, et Chenglin Liang. 2021. « YAP Activation in Melanoma Contributes to Anoikis Resistance and Metastasis ». *Experimental Biology and Medicine* 246 (8): 888. <https://doi.org/10.1177/1535370220977101>.
- Zhao, Bin, Li Li, Lloyd Wang, Cun-Yu Wang, Jindan Yu, et Kun-Liang Guan. 2012. « Cell detachment activates the Hippo pathway via cytoskeleton reorganization to induce anoikis ». *Genes & Development* 26 (1): 54-68. <https://doi.org/10.1101/gad.173435.111>.
- Zhao, Bin, Xiaomu Wei, Weiquan Li, Ryan S. Udan, Qian Yang, Joungmok Kim, Joe Xie, et al. 2007. « Inactivation of YAP Oncoprotein by the Hippo Pathway Is Involved in Cell Contact Inhibition and Tissue Growth Control ». *Genes & Development* 21 (21): 2747-61. <https://doi.org/10.1101/gad.1602907>.
- Zhao, Fuqiang, Lei Zhang, Mankun Wei, Wei Duan, Shourong Wu, et Vivi Kasim. 2022. « Mechanosensitive Ion Channel PIEZO1 Signaling in the Hall-Marks of Cancer: Structure and Functions ». *Cancers* 14 (19): 4955. <https://doi.org/10.3390/cancers14194955>.
- Zhao, Meng, John M. Perry, Heather Marshall, Aparna Venkatraman, Pengxu Qian, Xi C. He, Jasimuddin Ahamed, et Linheng Li. 2014. « Megakaryocytes Maintain Homeostatic Quiescence and Promote Post-Injury Regeneration of Hematopoietic Stem Cells ». *Nature Medicine* 20 (11): 1321-26. <https://doi.org/10.1038/nm.3706>.
- Zhao, Yulei, Tess Montminy, Taha Azad, Elizabeth Lightbody, Yawei Hao, Sandip SenGupta, Eric Asselin, Christopher Nicol, et Xiaolong Yang. 2018. « PI3K Positively Regulates YAP and TAZ in Mammary Tumorigenesis Through Multiple Signaling Pathways ». *Molecular Cancer Research* 16 (6): 1046-58. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-17-0593>.
- Zhao, Zhengxiao, Zhiyuan Bo, Weiyei Gong, et Yong Guo. 2020. « Inhibitor of Differentiation 1 (Id1) in Cancer and Cancer Therapy ». *International Journal of Medical Sciences* 17 (8): 995-1005. <https://doi.org/10.7150/ijms.42805>.
- Zhou, Bo O., Hua Yu, Rui Yue, Zhiyu Zhao, Jonathan J. Rios, Olaia Naveiras, et Sean J. Morrison. 2017. « Bone marrow adipocytes promote the regeneration of stem cells and hematopoiesis by secreting SCF ». *Nature cell biology* 19 (8): 891-903. <https://doi.org/10.1038/ncb3570>.
- Zhou, Zhixia, Qi Gong, Yin Wang, Mengkun Li, Lu Wang, Hongfei Ding, et Peifeng Li. 2020. « The biological function and clinical significance of SF3B1 mutations in cancer ». *Biomarker Research* 8 (septembre): 38. <https://doi.org/10.1186/s40364-020-00220-5>.
- Zhu, Rong-Jia, Meng-Qing Wu, Zi-Jian Li, Yao Zhang, et Kai-Yan Liu. 2013. « Hematopoietic Recovery Following Chemotherapy Is Improved by BADGE-Induced Inhibition of Adipogenesis ». *International Journal of Hematology* 97 (1): 58-72. <https://doi.org/10.1007/s12185-012-1233-4>.
- Zylbersztejn, Florence, Mario Flores-Violante, Thibault Voeltzel, Franck-Emmanuel Nicolini, Sylvain Lefort, et Véronique Maguer-Satta. 2018. « The BMP Pathway: A Unique Tool to Decode the Origin and Progression of Leukemia ». *Experimental Hematology* 0 (0). <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2018.02.005>.