

**Faculté de pharmacie et  
des sciences biomédicales**

# **Utilisation des modulateurs de l'activité du protéasome dans le traitement contre les cancers**

Mémoire de fin d'études présenté en vue de l'obtention du diplôme de  
Master [60] en sciences biomédicales (option : pathophysiologie)

Auteur : NDANGANG JEANNE D'ARC

Promotrice : Prof. NATHALIE VIGNERON

Lecteur : Prof. JULIE STOCKIS et Prof. CHARLES DE SMET

Année académique  
2025/2026

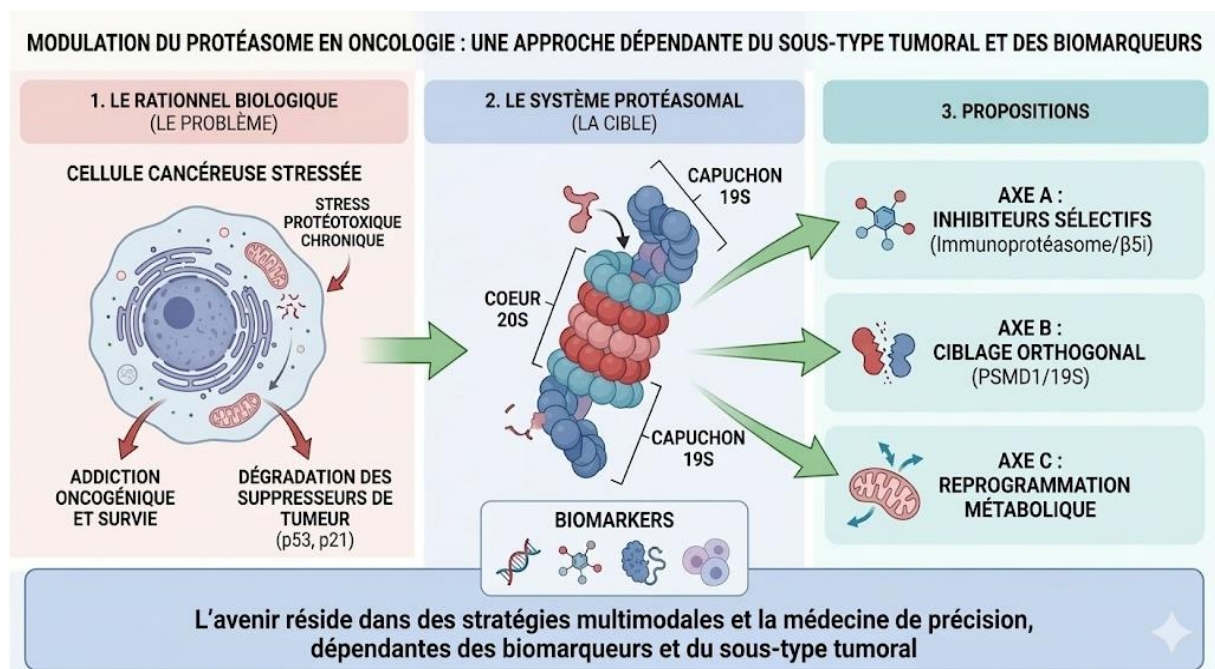
## REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à rendre grâce à Dieu Tout-Puissant, sans qui rien de tout cela n'aurait été possible. C'est Sa force et Sa grâce qui m'ont soutenue tout au long de ce parcours.

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude à ma promotrice, la Professeure Nathalie Vigneron, pour sa disponibilité, ses précieux conseils et la rigueur avec laquelle elle a guidé ce travail. Son expertise et sa bienveillance ont été des atouts essentiels dans l'accomplissement de ce mémoire. Je remercie également ses deux doctorantes, Margaux Wéry et Anaïs Behaderovic pour leur accompagnement bienveillant et leur soutien tout au long de la rédaction de ce mémoire. Mes sincères remerciements vont au Professeur Charles De Smet pour les séances de séminaire consacrées à la méthodologie de rédaction d'un mémoire, qui m'ont été d'une aide précieuse. Je remercie également mon lecteur Professeur Julie Stockis pour le temps qu'elle a bien voulu consacrer à l'évaluation de ce travail.

À mon conjoint Cyrille, merci pour ton soutien indéfectible, ta patience et ton amour au quotidien. Tu as été mon pilier dans les moments de doute comme dans les moments de joie. À mes enfants Ephrem, Maël, Othniel, vous êtes ma plus grande motivation. Chaque effort fourni dans ce travail, je le dédie à votre avenir. À mes parents, mes frères et sœurs, merci pour votre amour, vos encouragements et votre présence constante à mes côtés, quelle que soit la distance. À mes camarades de classe, merci pour l'entraide, les échanges et les souvenirs partagés tout au long de ces années d'études.

## RESUME GRAPHIQUE



## TABLE DES MATIERES

|          |                                                                             |           |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUCTION.....</b>                                                    | <b>4</b>  |
| 1.1      | Contexte général du cancer et les défis thérapeutiques majeurs .....        | 4         |
| 1.2      | Le protéasome : structure, sous-types et fonctions spécialisées .....       | 5         |
| 1.2.1    | Le protéasome constitutif 26S : architecture et activités catalytiques..... | 5         |
| 1.2.2    | L'immunoprotéasome : un sous-type inductible aux fonctions distinctes ..... | 7         |
| 1.2.3    | Les régulateurs alternatifs du 20S modulent l'activité protéasomale .....   | 9         |
| 1.3      | Le système ubiquitine-protéasome : gardien de l'homéostasie protéique ..... | 9         |
| 1.4      | Le protéasome au cœur de la biologie tumorale .....                         | 11        |
| 1.5      | Preuves précliniques et résistances aux inhibiteurs du protéasome .....     | 12        |
| <b>2</b> | <b>OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES.....</b>                                         | <b>14</b> |
| <b>3</b> | <b>MÉTHODES .....</b>                                                       | <b>15</b> |
| 3.1      | Bases de données et sources consultées.....                                 | 15        |
| 3.2      | Stratégie de recherche par mots clés utilisés .....                         | 15        |
| 3.3      | Méthode de sélection et d'analyse des études .....                          | 15        |
| <b>4</b> | <b>DÉVELOPPEMENT.....</b>                                                   | <b>16</b> |
| 4.1      | Ciblage de l'immunoprotéasome.....                                          | 16        |
| 4.1.1    | ONX-0914 dans les leucémies à réarrangement KMT2A .....                     | 17        |
| 4.1.2    | M3258, inhibiteur sélectif de $\beta 5i$ .....                              | 19        |
| 4.1.3    | Effets épigénétiques de l'inhibition du protéasome.....                     | 21        |
| 4.1.4    | Résistance aux thérapies ciblées dans les hémopathies B .....               | 23        |
| 4.2      | Nouvelles cibles dans le protéasome .....                                   | 25        |
| 4.2.1    | PSMD1 et pronostic dans le myélome multiple.....                            | 25        |
| 4.2.2    | Ciblage de PSMD1 par nanoparticules siRNA .....                             | 27        |
| 4.3      | Métabolisme tumoral et inhibiteurs du protéasome.....                       | 29        |
| 4.3.1    | Métabolisme et sensibilité au bortézomib .....                              | 29        |
| 4.3.2    | Rôle de la metformine .....                                                 | 30        |
| <b>5</b> | <b>SYNTHÈSE CRITIQUE CONVERGENCE ET LIMITES .....</b>                       | <b>31</b> |
| <b>6</b> | <b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>                                     | <b>33</b> |
| <b>7</b> | <b>BIBLIOGRAPHIE : .....</b>                                                | <b>34</b> |

## 1 INTRODUCTION

### 1.1 Contexte général du cancer et les défis thérapeutiques majeurs

Le cancer représente l'une des principales causes de mortalité à l'échelle mondiale, avec plus de 19 millions de nouveaux cas diagnostiqués et près de 10 millions de décès recensés en 2022 (**Bray *et al.*, 2024**). Il se définit par une prolifération cellulaire anarchique et incontrôlée de cellules ayant échappé aux mécanismes normaux de régulation du cycle cellulaire, de la différenciation et de l'apoptose. Cette maladie est dite multifactorielle, car son développement implique l'accumulation successive d'altérations génétiques et épigénétiques affectant les proto-oncogènes dont l'activation anormale stimule la prolifération cellulaire, et les gènes suppresseurs de tumeurs dont l'inaction lève les freins naturels du cycle cellulaire et des voies de signalisation associées.

Hanahan (2022), dans une mise à jour majeure de son article fondateur, a étendu les hallmarks du cancer à 14 caractéristiques biologiques acquises par les cellules tumorales. Aux 8 caractéristiques historiques (autosuffisance en signaux de croissance, insensibilité aux signaux anti-prolifératifs, résistance à l'apoptose, potentiel réplicatif illimité, angiogenèse soutenue, invasion et métastase, reprogrammation métabolique, échappement immunitaire) s'ajoutent désormais des caractéristiques émergentes et facilitatrices : l'instabilité génomique, l'inflammation pro-tumorale, la dérégulation de la sénescence, la reprogrammation épigénétique non-mutationnelle, le polymorphisme du microbiote et la plasticité cellulaire (**Hanahan & Weinberg, 2011; Hanahan, 2022**).

Face à cette complexité, les approches thérapeutiques actuelles sont multiples et complémentaires. Premièrement, la chirurgie et la radiothérapie constituent les piliers des traitements locorégionaux. Ensuite, la chimiothérapie conventionnelle bien qu'encore largement utilisée, souffre d'une faible sélectivité entraînant des toxicités systémiques importantes. De plus, les thérapies ciblées (inhibiteurs de tyrosine kinase, anticorps monoclonaux) ont transformé la prise en charge de certains cancers en ciblant des altérations moléculaires spécifiques. Plus récemment l'approche d'immunothérapie par inhibiteurs de checkpoints immunitaires (anti-PD-1/PD-L1 et anti-CTLA-4) a permis des rémissions durables dans des pathologies auparavant incurables, bien que leur taux de réponse global dépasse rarement 20-40% (**Ribas & Wolchok, 2018**). Enfin, viennent les inhibiteurs du protéasome (IP) : bortézomib, carfilzomib, ixazomib.

Ceux-ci constituent une classe thérapeutique à part entière approuvée dans les hémopathies malignes, ciblant spécifiquement le système de dégradation protéique intracellulaire.

Cependant, un obstacle majeur et commun à la quasi-totalité de ces approches thérapeutiques demeure : l'apparition de résistances aux traitements, qu'elles soient intrinsèques ou acquises. Ces résistances impliquent des mécanismes moléculaires variés : surexpression de pompes à efflux multidrogues, mutations des cibles thérapeutiques, activation de voies de signalisation alternatives, altération des mécanismes apoptotiques, ou encore modifications du microenvironnement tumoral (**Vasan *et al.*, 2019**). Ces résistances conduisent inévitablement à des rechutes et soulignent la nécessité impérieuse d'identifier de nouvelles cibles moléculaires et de développer des stratégies thérapeutiques innovantes. C'est dans ce contexte que le système ubiquitine-protéasome (SUP) a émergé comme une cible thérapeutique d'un intérêt particulier, à l'intersection de l'homéostasie cellulaire et de la modulation de la réponse immunitaire.

## **1.2 Le protéasome : structure, sous-types et fonctions spécialisées**

Le protéasome n'est pas un complexe enzymatique uniforme. Il existe sous plusieurs formes moléculaires distinctes, ou sous-types, dont la composition modulaire détermine les substrats dégradés, les peptides produits et la sensibilité aux inhibiteurs (**Collins & Goldberg, 2017**). Cette diversité structurale est au cœur des stratégies thérapeutiques développées dans ce mémoire.

### **1.2.1 Le protéasome constitutif 26S : architecture et activités catalytiques**

Le protéasome 26S est un complexe multi-catalytique de 2,5 MDa composé de deux entités structurales majeures. Le cœur catalytique 20S est formé de quatre anneaux heptamériques empilés coaxialement ( $\alpha_7\beta_7\beta_7\alpha_7$ ) (fig. 1). Les deux anneaux  $\alpha$  externes forment les portes d'entrée et de sortie de la chambre de dégradation, dont l'ouverture est régulée par les particules régulatrices, empêchant ainsi toute dégradation non spécifique de protéines natives. Les deux anneaux  $\beta$  internes portent les trois activités protéolytiques, toutes situées dans la chambre interne du 20S et toutes fondées sur le même mécanisme catalytique : une thréonine N-terminale (Thr1) conservée qui agit comme nucléophile pour couper la liaison peptidique. Ce résidu Thr1 porte l'hydroxyle  $\gamma$  de la thréonine en position 1 de chaque sous-unité catalytique active après maturation protéolytique ; c'est précisément lui qui constitue la cible moléculaire de tous les inhibiteurs cliniquement approuvés. Les trois activités comprennent : l'activité  $\beta 5$  chymotrypsine-like

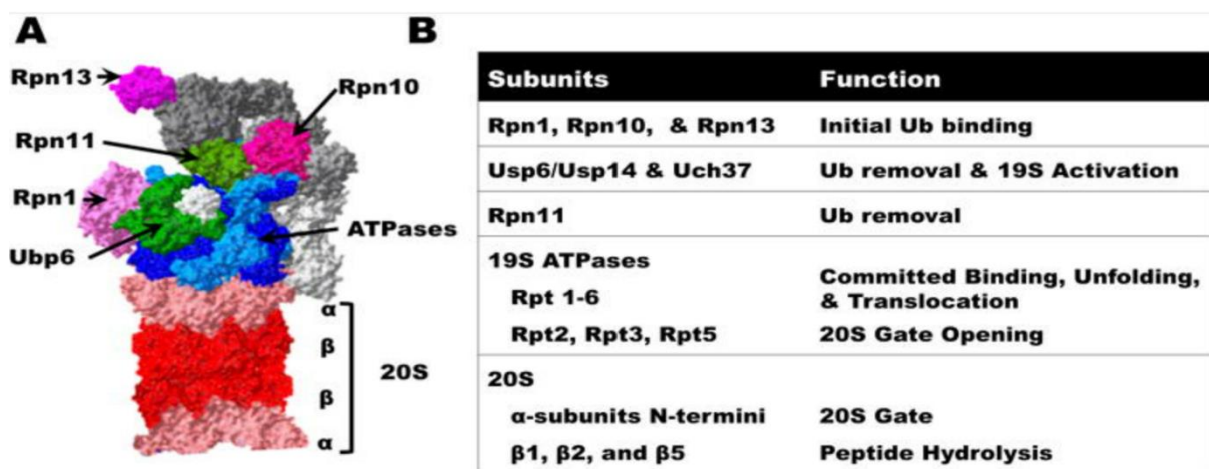
(clivage après résidus hydrophobes larges : leucine, phénylalanine, tyrosine ; activité prédominante et principale cible des IP cliniques), l'activité  $\beta 2$  trypsine-like (clivage après résidus basiques : arginine, lysine) et l'activité  $\beta 1$  caspase-like (clivage après résidus acides : acide aspartique, acide glutamique) (Adams, 2004; Collins & Goldberg, 2017). Trois agents ont ainsi été développés et approuvés en clinique : le bortézomib (Velcade®), le carfilzomib (Kyprolis®) et l'ixazomib (Ninlaro®). Bien que ciblant tous la sous-unité  $\beta 5$  du cœur 20S via la Thr1, ils se distinguent par leur classe chimique, leur type de liaison et leurs propriétés pharmacologiques (tableau 1), expliquant pourquoi les mutations de PSMB5 (notamment la substitution Ala49Thr) constituent un mécanisme de résistance commun aux trois agents (Kozalak *et al.*, 2023).

| Inhibiteurs        | Génération               | Structure chimique       | Liaison à Thr1- $\beta 5$                   | Sous-unités ciblées                                | Administration        |
|--------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------|
| <b>Bortézomib</b>  | 1 <sup>er</sup> (2003)   | Dipeptide boronate       | Covalente réversible<br>Ki/IC50~0,6 nM      | $\beta 5 > \beta 1$                                | IV/SC bi-hebdomadaire |
| <b>Carfilzomib</b> | 2 <sup>ième</sup> (2012) | Tétrapeptide époxykétone | Covalente irréversible (2 points d'ancrage) | $\beta 5, \beta 5i > \beta 1$<br>haute sélectivité | IV hebdomadaire       |
| <b>Ixazomib</b>    | 2 <sup>ième</sup> (2015) | Dipeptide boronate       | Covalente réversible                        | $\beta 5$                                          | Orale hebdomadaire    |

**Tableau 1. Comparaison des trois inhibiteurs du protéasome cliniquement approuvés.**

La particule régulatrice 19S (ou PA700) se fixe à une ou aux deux extrémités du 20S pour former le protéasome 26S complet, constituant une entité structurale et fonctionnelle entièrement distincte du 20S. Elle comprend deux sous-complexes fonctionnels : le couvercle (lid), qui reconnaît et désubiquitine les protéines substrats via les déubiquitinasés RPN11 (protéase à zinc, activité constitutive), USP14 (désubiquitinase cystéine, régulée) et UCH37 ; et la base, qui assure le dépliement ATP-dépendant via six AAA-ATPases (RPT1-6) et la translocation dans la chambre du 20S. Parmi les sous-unités non-ATPasiques du complexe, PSMD1/Rpn2

est la plus grande et sert de plateforme d'assemblage (scaffolding) pour les récepteurs de l'ubiquitine PSMD4/Rpn10 et ADRM1/Rpn13, qui reconnaissent les chaînes K48-polyUb et les dirigent vers la chambre catalytique. Il est fondamental de comprendre que PSMD1 appartient à la 19S, et non au 20S, et n'intervient donc pas dans la protéolyse elle-même. C'est un régulateur architectural du complexe et du flux de substrats vers la chambre catalytique. Cibler PSMD1 est donc mécanistiquement orthogonal au ciblage de  $\beta 5$  par le bortézomib. Ces deux stratégies perturbent le protéasome, mais à des niveaux structuraux et fonctionnels totalement différents, ce qui explique l'absence de résistance croisée (Finley, 2009; Collins & Goldberg, 2017).



**Figure 1. Organisation structurale du protéasome 26S.** Le cœur catalytique 20S (anneaux  $\alpha 7\beta 7\beta 7\alpha 7$ ) est flanqué d'une ou deux particules régulatrices 19S comprenant la base (AAA-ATPases RPT1-6) et le couvercle (lid). Les trois sites actifs  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  et  $\beta 5$  sont localisés dans la chambre interne du 20S. La thréonine N-terminale (Thr1) de  $\beta 5$  constitue la cible moléculaire des inhibiteurs cliniquement approuvés. D'après (Collins & Goldberg, 2017).

### 1.2.2 L'immunoprotéasome : un sous-type inductible aux fonctions distinctes

L'immunoprotéasome est une forme spécialisée du protéasome 20S, caractérisée par le remplacement des trois sous-unités catalytiques constitutives ( $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 5$ ) par leurs homologues inducibles :  $\beta 1i$ /LMP2,  $\beta 2i$ /MECL-1 et  $\beta 5i$ /LMP7 (codés par les gènes PSMB9, PSMB10 et PSMB8 respectivement, localisés dans le locus du CMH de classe II). Cette substitution modifie le profil de clivage des peptides générés, avec plusieurs conséquences fonctionnelles majeures (Ferington & Gregerson, 2012).

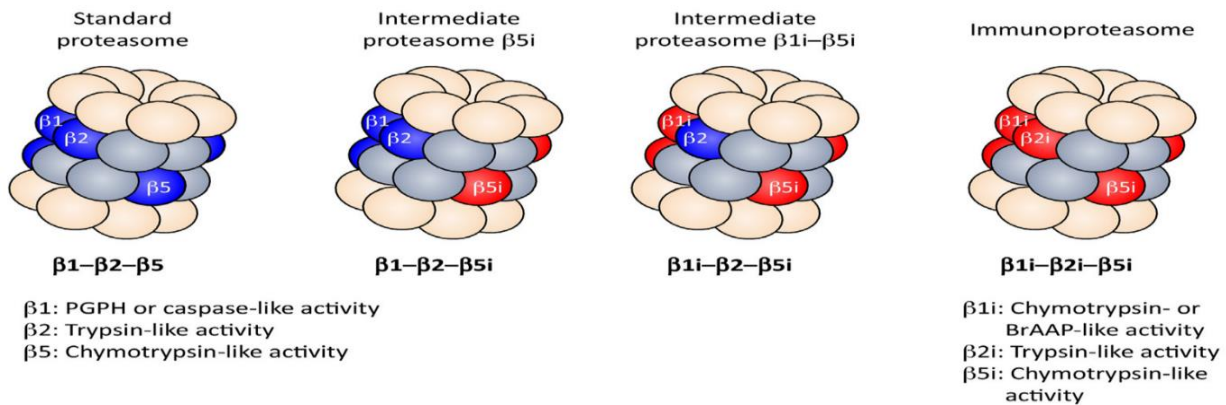
Premièrement, l'immunoprotéasome génère préférentiellement des peptides à terminaison hydrophobe mieux adaptés au chargement sur les molécules du CMH de classe I, optimisant ainsi la présentation antigénique aux lymphocytes T CD8<sup>+</sup> cytotoxiques, fonction cruciale dans la

réponse immunitaire anti-tumorale (**Jhunjunwala et al., 2021**). Deuxièmement, l'immunoprotéasome est plus efficace pour dégrader les protéines oxydées et endommagées, en particulier dans les conditions de stress oxydatif (**Ferrington & Gregerson, 2012**). De plus, il intervient dans la régulation de la réponse inflammatoire : l'inhibition sélective de  $\beta 5i$ /LMP7 réduit la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-23) dans les modèles de maladies auto-immunes (**Muchamuel et al., 2009**).

Sur le plan de la distribution tissulaire, l'immunoprotéasome est constitutif dans les cellules hématopoïétiques (lymphocytes B et T, cellules dendritiques, macrophages) et inducible par l'IFN- $\gamma$  dans les autres types cellulaires. Cette expression différentielle forte dans les lignées hématopoïétiques, mais faible dans les tissus non lymphoïdes (cœur, foie, nerfs périphériques, intestin), constitue le fondement biologique du développement d'inhibiteurs sélectifs de l'immunoprotéasome (IPI). En ciblant spécifiquement  $\beta 5i$ /LMP7 sans toucher la sous-unité  $\beta 5$  du protéasome constitutif des tissus sains, les IPI visent à maintenir une efficacité anti-tumorale dans les hémopathies malignes tout en réduisant les effets indésirables extra-hématopoïétiques (neuropathie périphérique, toxicité cardiaque) observés avec les IP classiques (**Niewerth et al., 2013**). De plus, il a été démontré dans certaines leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) portant le réarrangement KMT2A : AFF1 (anciennement dénommé MLL-AF4), que LMP7 ( $\beta 5i$ ) représente 75 à 90 % de l'activité  $\beta 5$  totale. Cette surexpression constitutive créant une dépendance sélective à l'immunoprotéasome et justifiant le développement clinique des IPI dans cette indication (**Jenkins et al., 2021**).

Il convient enfin de mentionner l'existence de protéasomes intermédiaires, formes hybrides contenant à la fois des sous-unités constitutives et inducibles (par exemple  $\beta 1i/\beta 2/\beta 5i$  ou  $\beta 1/\beta 2/\beta 5i$ ). Identifiés *in vivo* dans de nombreux tissus de mammifères, ces protéasomes intermédiaires présentent des propriétés biochimiques et un profil de clivage distinct des deux formes pures. Ils enrichissent considérablement la diversité du répertoire peptidique présenté par les molécules du CMH de classe I, selon les conditions cellulaires et le niveau d'induction par l'IFN- $\gamma$  (**Guillaume et al., 2010**). La prise en compte de l'existence de ces quatre sous types de protéasome selon le type cellulaire (fig. 2) est essentielle pour comprendre la complexité de la présentation antigénique en contexte tumoral.

### Proteasome subtypes



**Figure 2.** Les quatre sous-types du protéasome dans les cellules de mammifères. Le protéasome standard ( $\beta 1/\beta 2/\beta 5$ ), l'immunoprotéasome ( $\beta 1i/\beta 2i/\beta 5i$ ) et les deux formes intermédiaires ( $\beta 1i/\beta 2/\beta 5i$  et  $\beta 1/\beta 2/\beta 5i$ ) sont représentés avec leurs sous-unités catalytiques respectives. L'immunoprotéasome et les formes intermédiaires sont inductibles par l'IFN- $\gamma$  et constitutifs dans les cellules hématopoïétiques. Adapté d'après (Vigneron et al., 2017).

### 1.2.3 Les régulateurs alternatifs du 20S modulent l'activité protéasomale

Au-delà de la 19S, d'autres régulateurs peuvent s'associer au cœur 20S pour former des complexes protéasomiaux fonctionnellement distincts. La particule PA28/11S (composée de sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$ ) stimule la dégradation de petits peptides de façon indépendante de l'ATP et d'ubiquitine. La particule PA200/Bim10 est quant à elle impliquée dans la réponse aux dommages à l'ADN et dans la régulation du cycle cellulaire. Ces régulateurs alternatifs illustrent la plasticité du protéasome et la diversité de ses fonctions biologiques selon le contexte cellulaire (Collins & Goldberg, 2017).

Par ailleurs, l'activité protéasomale peut être modulée dans le sens d'une activation : l'inhibition de la déubiquitinase USP14 par de petites molécules (exemple : IU1) augmente la capacité de dégradation du protéasome. Cela représente une stratégie thérapeutique inverse pour les maladies où l'accumulation de protéines agrégées est délétère, comme les maladies neurodégénératives (Lee et al., 2010).

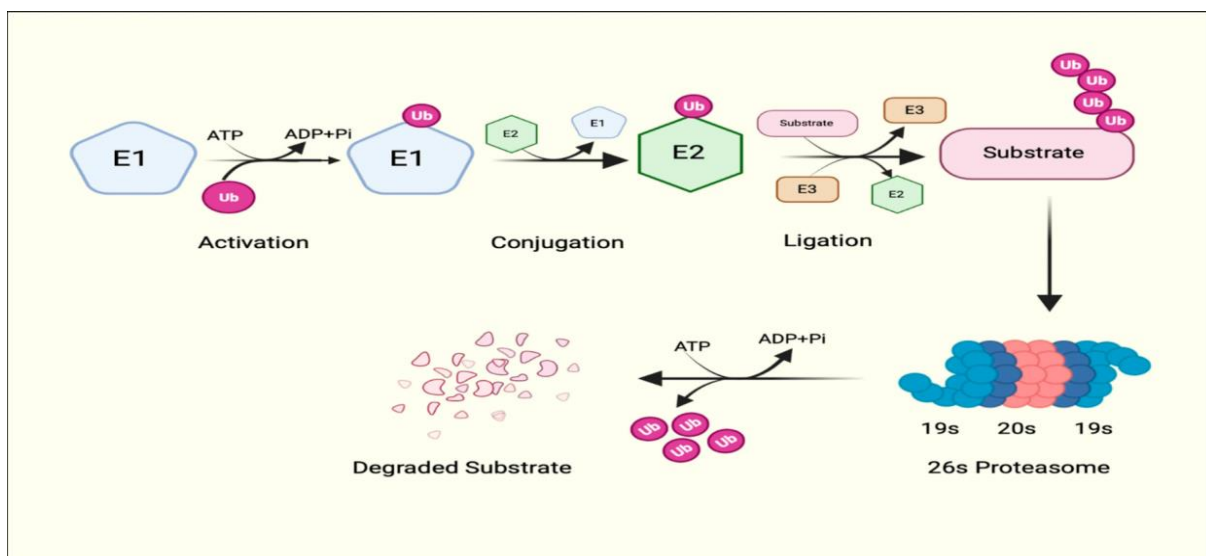
### 1.3 Le système ubiquitine-protéasome : gardien de l'homéostasie protéique

La vie cellulaire repose sur un équilibre précis entre la synthèse et la dégradation des protéines, un processus global désigné sous le terme de protéostasie (ou homéostasie protéique). La protéostasie assure la qualité du protéome cellulaire en éliminant les protéines endommagées, mal repliées, oxydées ou devenues inutiles, tout en régulant finement l'abondance des protéines régulatrices du cycle cellulaire, de l'apoptose et de la réponse au stress. Le système ubiquitine-protéasome (SUP) est le principal mécanisme de dégradation protéique intracellulaire chez les

eucaryotes, responsable de l'élimination d'environ 80 % des protéines intracellulaires (**Ciechanover, 2005**). Son dysfonctionnement est impliqué dans de nombreuses pathologies, notamment les cancers, les maladies neurodégénératives et les maladies inflammatoires. Son importance est soulignée par le Prix Nobel de Chimie 2004 décerné à Ciechanover, Hershko et Rose pour la découverte de la dégradation protéique médiée par l'ubiquitine.

Le SUP fonctionne selon un processus en deux étapes distinctes. La première étape consiste en la polyubiquitination de la protéine substrat, c'est-à-dire l'attachement covalent d'une chaîne de molécules d'ubiquitine (protéine hautement conservée de 76 acides aminés) sur un résidu de lysine de la protéine substrat. Ce processus implique une cascade enzymatique séquentielle : l'enzyme E1 active l'ubiquitine de manière ATP-dépendante, puis l'enzyme de conjugaison E2 reçoit l'ubiquitine activée et la transfère à une ubiquitine-ligase E3. Enfin, l'enzyme E3 assure la spécificité de la réaction en reconnaissant le substrat et en catalysant le transfert de la chaîne d'ubiquitine sur celui-ci (fig. 3). Plus de 600 E3 ligases existent chez l'humain, conférant une extrême spécificité au système. Les chaînes de polyubiquitines formées via des liaisons sur la lysine 48 (K48) de l'ubiquitine constituent le signal canonique adressant les protéines vers la dégradation protéasomale (**Finley, 2009; Collins & Goldberg, 2017**).

La deuxième étape est la dégradation protéolytique proprement dite, assurée par le protéasome 26S. Ce système régule ainsi la dégradation des régulateurs clés du cycle cellulaire (cyclines, inhibiteurs des CDK tels que p21, p27, p16), des facteurs de transcription (NF- $\kappa$ B, HIF-1 $\alpha$ , c-Myc, p53), des régulateurs de l'apoptose (Bcl-2, Bax, PUMA, Mcl-1) et des protéines de la réponse au stress (**Dikic, 2017**).



**Figure 3. Représentation schématique du système ubiquitine-protéasome (SUP).** La cascade enzymatique E1 (activation ATP-dépendante) → E2 (conjugaison) → E3 (ligation substrat-spécifique) aboutit à la polyubiquitination de la protéine cible. La protéine polyubiquitinée est ensuite reconnue, dépliée et dégradée par le protéasome 26S en peptides. D'après (Awan *et al.*, 2025).

#### 1.4 Le protéasome au cœur de la biologie tumorale

Dans le contexte oncologique, les cellules tumorales présentent des caractéristiques biologiques particulières qui les rendent exceptionnellement dépendantes du bon fonctionnement du SUP. En effet, la prolifération cellulaire accélérée, l'instabilité génomique et les conditions hypoxiques du microenvironnement tumoral génèrent un stress protéotoxique intense et chronique : les protéines mal repliées, oxydées ou mutées s'accumulent en quantité anormale. Pour maintenir leur homéostasie protéique et survivre dans cet environnement hostile, les cellules tumorales développent une dépendance accrue au protéasome, dont l'activité est fréquemment surexprimée par rapport aux cellules normales (Tsvetkov *et al.*, 2018). Cette dépendance a été conceptualisée sous le terme d'addiction oncogénique au protéasome : les cellules tumorales, contrairement aux cellules normales, ne peuvent tolérer l'inhibition de ce système sans subir des conséquences létales. C'est cette différence de sensibilité entre cellules saines et cellules cancéreuses qui justifie le développement clinique des inhibiteurs du protéasome.

Au-delà de ce rôle de survie face au stress, le protéasome joue un rôle pro-tumorigénique grâce à la dégradation ciblée de protéines suppresseurs de tumeurs. Parmi les cibles les mieux caractérisées, on trouve la protéine p53, gardien du génome, dont la dégradation par le protéasome via la ligase MDM2 (*Mouse Double Minute 2*) compromet les réponses à l'arrêt du cycle cellulaire et à l'apoptose induites par les dommages à l'ADN (Wade *et al.*, 2013). De même, les inhibiteurs du cycle cellulaire p21 (CDKN1A) et p27 (CDKN1B), ainsi que la protéine du rétinoblastome Rb, sont dégradés par le protéasome dans de nombreux types de cancers, levant les freins naturels à la progression du cycle cellulaire. Les protéines pro-apoptotiques Bax et PUMA sont également des substrats du protéasome, ce qui contribue à la résistance à l'apoptose (Adams, 2004).

Un mécanisme particulièrement important est l'activation constitutive du facteur de transcription NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor kappa B) via le protéasome. Dans les conditions physiologiques, NF- $\kappa$ B est retenu dans le cytoplasme sous forme inactive par son inhibiteur I $\kappa$ B $\alpha$ . En réponse à des signaux d'activation, la kinase IKK phosphoryle I $\kappa$ B $\alpha$ , qui est alors polyubiquitiné et dégradé par le protéasome, libérant NF- $\kappa$ B qui transloque vers le noyau pour activer la transcription de gènes cibles anti-apoptotiques (Bcl-2, Bcl-xL, XIAP), pro-inflammatoires (IL-6, TNF-

$\alpha$ ) et pro-angiogéniques (VEGF) (**Karin & Lin, 2002**). Dans de nombreux cancers, et particulièrement dans le myélome multiple (MM), cette voie est constitutivement activée, conférant aux cellules tumorales un avantage de survie majeur et une résistance aux traitements. De plus, les cellules plasmatiques malignes du MM présentent une caractéristique biologique unique qui explique leur sensibilité accrue (ou vulnérabilité sélective) aux IP.

Elles produisent massivement des immunoglobulines monoclonales (jusqu'à plusieurs grammes par jour), ce qui génère une charge protéique extraordinaire dans le réticulum endoplasmique. Le protéasome est absolument indispensable pour éliminer l'excès de chaînes légères et de protéines mal repliées résultant de cette production intense. Par conséquent, les cellules de MM opèrent en permanence au seuil de leur capacité protéasomale, les rendant sensibles à toute inhibition supplémentaire (**Hideshima *et al.*, 2001**). Des études cliniques et expérimentales ont également démontré une corrélation directe entre le niveau d'activité protéasomale et l'agressivité tumorale. Notamment dans le MM, le cancer du sein, les leucémies et certains carcinomes pulmonaires, une surexpression des sous-unités catalytiques du protéasome a été associée à un mauvais pronostic clinique (**Kumatori *et al.*, 1990**).

### **1.5 Preuves précliniques et résistances aux inhibiteurs du protéasome**

La compréhension du rôle central du protéasome dans la biologie tumorale a ouvert la voie au développement d'agents pharmacologiques capables d'en moduler l'activité. Les premières études précliniques *in vitro* fondatrices ont montré que le traitement de lignées cellulaires cancéreuses par des inhibiteurs du protéasome, notamment les peptides aldéhydes et le composé MG-132, induisait une accumulation massive de protéines polyubiquitinées, un stress du réticulum endoplasmique (par activation de la réponse UPR, *Unfolded Protein Response*), et l'activation des voies apoptotiques intrinsèques et extrinsèques, conduisant à la mort sélective des cellules cancéreuses (**Rock *et al.*, 1994; Adams, 2004**).

Des expériences de comparaison directe entre cellules tumorales et cellules normales ont montré que les inhibiteurs du protéasome induisaient une apoptose préférentielle dans les cellules cancéreuses, épargnant relativement les cellules saines. Cette fenêtre thérapeutique s'explique précisément par l'addiction oncogénique décrite précédemment : les cellules normales qui présentent un niveau de stress protéotoxique basal plus faible, peuvent tolérer une inhibition partielle du protéasome sans en mourir, contrairement aux cellules tumorales déjà proches de leur

seuil de tolérance (**Hideshima *et al.*, 2001**). Ces observations confirmées par des modèles murins de MM et de lymphome, ont fourni la justification biologique et expérimentale nécessaire au lancement des premiers essais cliniques.

C'est dans ce contexte que le bortézomib a été développé. Ce dernier, dont le mécanisme d'action sur la Thr1 N-terminale de  $\beta 5$  a été détaillé en section 1.2.1, agit de façon multimodale. Ainsi, en bloquant la dégradation d'I $\kappa$ B $\alpha$ , il inhibe constitutivement la voie NF- $\kappa$ B (gènes anti-apoptotiques, pro-angiogéniques, pro-inflammatoires) ; il entraîne une accumulation de protéines polyubiquitinées qui surcharge le réticulum endoplasmique en activant l'UPR (BiP/GRP78, CHOP, clivage des caspases) ; il stabilise p53 ainsi que les inhibiteurs du cycle cellulaire p21/p27 ; et il inhibe la production d'IL-6 dans le microenvironnement médullaire, supprimant un signal de survie critique pour les cellules MM. Les essais cliniques de phases I et II ont rapidement confirmé, grâce à ces effets combinés, son efficacité remarquable dans le MM et le lymphome à cellules du manteau, conduisant à son approbation par la FDA en 2003, une première mondiale pour un inhibiteur du protéasome en oncologie clinique. Les essais cliniques pivots (phase III) ont rapidement validé l'efficacité des IP dans le MM (Tableau 2).

| Essai            | Agent(s)                    | Population             | Résultat clé  | Références                        |
|------------------|-----------------------------|------------------------|---------------|-----------------------------------|
| APEX             | Bortézomib vs dexaméthasone | Rechute                | RG 38% vs 18% | (Richardson <i>et al.</i> , 2005) |
| VISTA            | VMP vs MP                   | 1 <sup>ère</sup> ligne | RC 30% vs 4%  | (San Miguel <i>et al.</i> , 2008) |
| ENDEAVOR         | Carfilzomib vs bortézomib   | Rechute                | SSP améliorée | (Dimopoulos <i>et al.</i> , 2016) |
| TOURMA-LINE- MM1 | Ixazomib oral               | Rechute                | SSP améliorée | (Moreau <i>et al.</i> , 2016)     |

**Tableau 2. Résultats des essais cliniques pivots des inhibiteurs du protéasome dans le myélome multiple.**

Malgré ces succès cliniques incontestables, des questions fondamentales demeurent en suspens. L'efficacité des inhibiteurs du protéasome reste largement limitée aux hémopathies malignes et s'avère décevante dans les tumeurs solides, en raison d'une moindre addiction oncogénique au

protéasome et de différences de pharmacocinétique, comme une pénétration tissulaire insuffisante (**Patiño-Escobar *et al.*, 2023; Schwestermann *et al.*, 2022**). De plus, des résistances acquises se développent inéluctablement chez la majorité des patients initialement répondeurs. Les mécanismes en cause sont multiples : mutations des sous-unités catalytiques  $\beta 5$ /PSMB5, qui modifient la poche de liaison de la Thr1 et réduisent l'affinité de tous les boronates et époxydes. S'ajoutent d'autres mécanismes de résistance convergents : la surexpression des chaperonnes HSP70/HSP90 qui prennent en charge les protéines mal repliées normalement destinées au protéasome, l'activation compensatoire de l'autophagie (voie alternative de dégradation des agrégats protéiques), et des adaptations du microenvironnement médullaire (IL-6 stromale, signalisation VLA-4/fibronectine) protégeant les cellules MM de l'apoptose induite par les IP (**Manasanch & Orlowski, 2017; Kozalak *et al.*, 2023**). Ces limites ont conduit la communauté scientifique à explorer de nouvelles stratégies de modulation du protéasome, au-delà de la simple inhibition des sites catalytiques du 20S, incluant le ciblage de sous-unités régulatrices du 19S, la reprogrammation métabolique, et le développement d'inhibiteurs sélectifs de l'immunoprotéasome. Ces avancées font l'objet du présent mémoire.

## 2 OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES

Au regard des éléments présentés dans l'introduction, ce mémoire bibliographique se propose d'analyser de façon critique et exhaustive l'état actuel des connaissances relatives à l'utilisation des modulateurs de l'activité du protéasome comme stratégie thérapeutique dans le traitement des cancers. Trois objectifs spécifiques sont poursuivis :

- (1) Caractériser les mécanismes biologiques et moléculaires par lesquels le protéasome contribue au développement, à la progression et au maintien du phénotype tumoral, afin d'établir et de justifier le rationnel scientifique de son ciblage thérapeutique dans différents types de cancers.
- (2) Analyser les évidences précliniques et les résultats cliniques actuels des inhibiteurs du protéasome, en évaluant les mécanismes d'action, les indications validées, les limites d'efficacité et les mécanismes moléculaires de résistance qui en compromettent l'utilisation à long terme.
- (3) Évaluer les nouvelles stratégies de modulation de l'activité du protéasome, notamment les activateurs du protéasome, les associations thérapeutiques et le ciblage du protéasome

immunologique, et discuter leurs perspectives cliniques dans une approche de médecine de précision.

La question de recherche centrale à laquelle ce mémoire cherche à répondre est la suivante : ***dans quelle mesure l'utilisation des modulateurs de l'activité du protéasome constitue-t-elle une stratégie thérapeutique pertinente, efficace et durable pour le traitement des cancers, et quelles en sont les principales limites biologiques et cliniques ainsi que les perspectives d'évolution ?***

### 3 MÉTHODES

Ce mémoire est un travail de synthèse bibliographique. Il ne repose pas sur des expériences de laboratoire originales, mais sur l'analyse critique et systématique de la littérature scientifique disponible relative à la modulation du protéasome dans le traitement des cancers. La démarche méthodologique adoptée est décrite ci-dessous de façon précise afin de garantir la reproductibilité et la transparence de la recherche documentaire.

#### 3.1 Bases de données et sources consultées

La recherche bibliographique a été amorcée par une exploration de la littérature générale, puis conduite de manière systématique à partir de bases de données scientifiques suivantes : PubMed/MEDLINE, Scopus, Cochrane Library, ClinicalTrials.gov et Google Scholar.

#### 3.2 Stratégie de recherche par mots clés utilisés

Les équations de recherche ont été construites en combinant des termes contrôlés (MeSH terms) et des mots-clés libres en anglais : « proteasome inhibitor », « ubiquitin-proteasome system », « multiple myeloma », « acute lymphoblastic leukemia », « immunoproteasome », « bortezomib », « carfilzomib », « ixazomib », « PSMD1 », « M3258 », « ONX-0914 », « proteasome resistance mechanisms », « mitochondrial metabolism proteasome », « KMT2A rearrangement leukemia », « proteasome activator ».

#### 3.3 Méthode de sélection et d'analyse des études

Les critères d'inclusion comprennent les articles en anglais ou en français publiés entre 1994 et 2026, les études *in vitro* et précliniques (modèles cellulaires et murins), les essais cliniques de phases I à III, ainsi que les revues systématiques et méta-analyses. Les articles fondateurs antérieurs à 2000 ont été inclus lorsqu'ils constituent des références historiques incontournables.

Les critères d'exclusion concernant les articles non disponibles en texte intégral, les publications sans comité de lecture, prépublications non validées, et les études portant exclusivement sur des pathologies non cancéreuses. L'ensemble des références a été retenu pour la rédaction de ce mémoire, selon une hiérarchie des preuves privilégiant les essais cliniques randomisés, puis les études de cohorte, puis les études *in vitro*.

## 4 DÉVELOPPEMENT

Le développement qui suit repose sur l'analyse critique de certaines études récentes. Ces travaux explorent trois axes complémentaires et interdépendants pour améliorer l'efficacité thérapeutique des modulateurs du protéasome dans le MM et les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) : (i) ciblage sélectif de l'immunoprotéasome, en exploitant sa surexpression constitutive dans les cellules hématopoïétiques tumorales ; (ii) l'identification de nouvelles sous-unités structurales du protéasome, comme PSMD1, dont le ciblage contourne les mécanismes de résistance aux inhibiteurs classiques ; et (iii) la reprogrammation métabolique, qui conditionne la sensibilité au protéasome selon l'état mitochondrial de la cellule. Un fil conducteur relie ces trois axes : la vulnérabilité fondamentale des cellules tumorales au stress protéotoxique, que chaque étude exploite sous un angle différent mais convergent. L'ensemble de ces travaux répond à la question centrale : dans quelle mesure peut-on augmenter l'efficacité des inhibiteurs du protéasome dans les hémopathies malignes, tout en surmontant les limitations des inhibiteurs classiques ?

### 4.1 Ciblage de l'immunoprotéasome

Comme détaillé en section 1.2.2, l'expression de l'immunoprotéasome au sein des cellules hématopoïétiques permet d'envisager une inhibition plus sélective (ciblant notamment  $\beta 5i$ /LMP7) que celle exercée par les inhibiteurs classiques du protéasome. Les travaux récents, allant des LAL aux lymphomes B en rechute, s'attachent à valider cette preuve de concept en précisant les mécanismes d'action des nouvelles molécules, leurs effets indirects et leur capacité à surmonter les résistances aux traitements conventionnels.

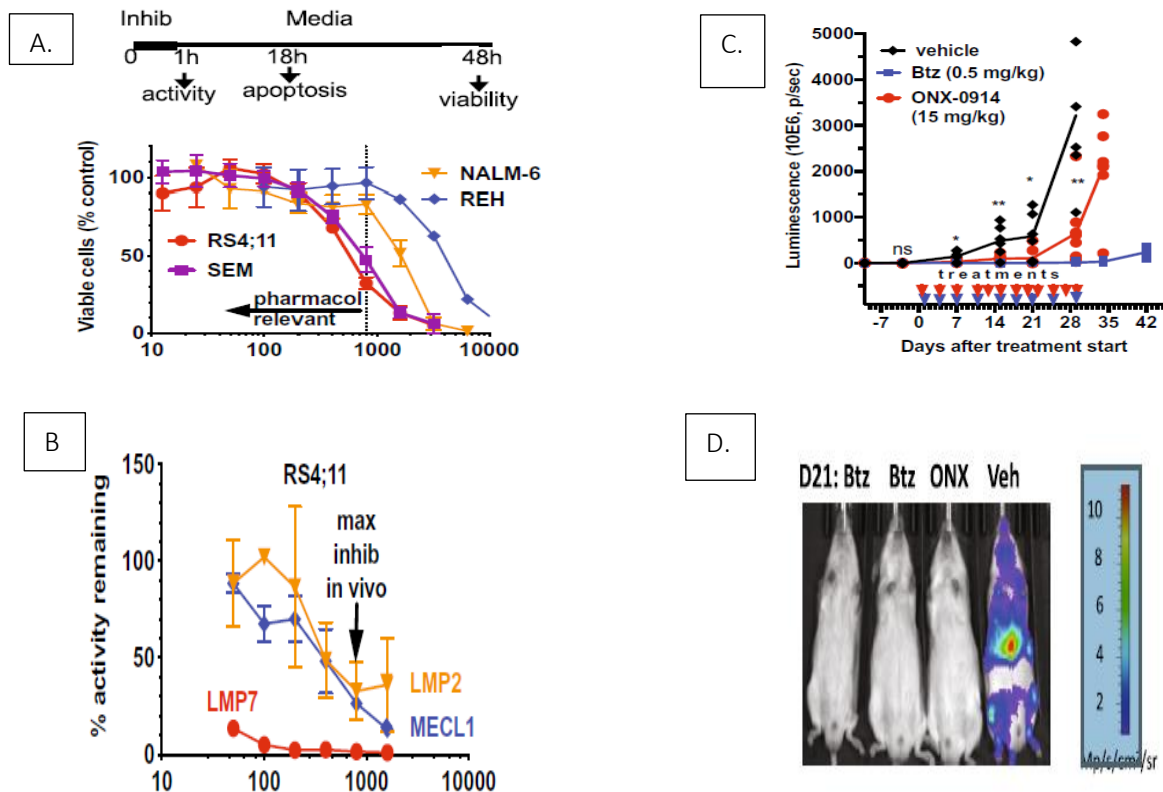
#### 4.1.1 **ONX-0914 dans les leucémies à réarrangement KMT2A**

Les LAL du nourrisson présentant la fusion de gènes *KMT2A::AFF1* constituent l'un des défis majeurs de l'oncologie pédiatrique. Le pronostic reste sombre, comme en témoignent les résultats de l'essai international Interfant-06, où la survie sans événement à cinq ans n'excède pas 38 % (Pieters *et al.*, 2019). Face à cet échec thérapeutique, Jenkins *et al.* (2021) ont postulé que l'origine hématopoïétique de ces cellules, combinée à leur forte dépendance à l'homéostasie protéique, offrait une opportunité thérapeutique via le ciblage sélectif de l'immunoprotéasome. Pour valider cette hypothèse, les auteurs ont d'abord quantifié la contribution de l'immunoprotéasome à l'activité protéolytique globale de la cellule. En utilisant des sondes fluorescentes spécifiques permettant de distinguer en temps réel l'activité des sous-unités  $\beta 5$  (constitutive) et  $\beta 5i$  (inductible) au sein d'un même lysat cellulaire, ils ont démontré que la sous-unité LMP7 ( $\beta 5i$ ) concentrait à elle seule 90 % de l'activité  $\beta 5$  totale dans la lignée RS4;11 et 75 % dans la lignée SEM (Jenkins *et al.*, 2021). Ce ratio supérieur à 10 : 1 confirme une dépendance sélective de ces cellules leucémiques envers l'immunoprotéasome, rejoignant les observations antérieures de Niewerth *et al.* sur les leucémies pédiatriques (Niewerth *et al.*, 2013).

Sur la base de ce rationnel biologique, l'équipe a évalué l'inhibiteur sélectif ONX-0914. C'est un peptidique époxycétone présentant une sélectivité 100 fois supérieure pour les sous-unités  $\beta 5i$  et  $\beta 1i$  par rapport à leurs homologues constitutifs. *In vitro*, cette molécule induit une apoptose dose-dépendante à des concentrations pharmacologiques ( $EC_{50}$  100nM–0,5 $\mu$ M) (fig. 4A), avec une efficacité cytotoxique équivalente à celle du bortézomib (100nM). Un avantage clinique majeur de l'ONX-0914 réside dans sa capacité à contourner la résistance induite par le microenvironnement. En effet, contrairement au bortézomib dont l'action cytotoxique est bloquée par les signaux de survie des cellules stromales médullaires (lignée HS-5), l'ONX-0914 maintient son efficacité pro-apoptotique en co-culture (fig. 4B). Cette sensibilité remarquable s'étend par ailleurs aux lignées de LAL de type T (LOUCY, ALL-SIL), élargissant le spectre thérapeutique potentiel de cette molécule (Jenkins *et al.*, 2021).

*In vivo*, l'efficacité de l'ONX-0914 (15 mg/kg, 3×/semaine) a été confirmée dans un modèle de xénogreffe murine NSG utilisant des cellules SEM-*luc* (lignée cellulaire humaine de LAL-B à réarrangement *KMT2A::AFF1*, stablement transfectée avec le gène de la luciférase, permettant le suivi en temps réel de la charge tumorale par bioluminescence *in vivo*). Le suivi de la charge tumorale par imagerie de bioluminescence en temps réel montre un retard significatif de la croissance tumorale au cours des trois premières semaines ( $p < 0,01$ ), égalant les performances du bortézomib (fig. 4C-D).

Néanmoins, deux limites majeures nuancent ces résultats précliniques : premièrement un pulse sub-toxique d'ONX-0914 est suivi d'une récupération de 60 % de l'activité enzymatique dès la 24<sup>e</sup> heure, ce qui suggère qu'un schéma d'administration intermittent serait insuffisant en clinique et nécessiterait une inhibition continue. Deuxièmement, l'existence d'une synergie pharmacologique forte avec LU-102 (anti- $\beta$ 2i) démontre que le blocage simultané de plusieurs sites catalytiques de l'immunoprotéasome est indispensable pour maximiser la cytotoxicité tumorale (Jenkins *et al.*, 2021). Bien que l'ONX-0914 prouve l'intérêt de cibler l'immunoprotéasome dans les LAL réarrangées, une question fondamentale persiste : l'inhibition exclusive et continue de la seule sous-unité  $\beta$ 5i est-elle suffisante, ou faut-il impérativement bloquer plusieurs sous-unités simultanément pour induire la mort cellulaire ? C'est précisément pour résoudre ce dilemme thérapeutique que Jenkins *et al.*, ont publié une seconde étude en 2025, évaluant un inhibiteur de nouvelle génération.



**Figure 4. Sensibilité des cellules LAL KMT2A::AFF1 à ONX-0914 in vitro et in vivo.** (A) Viabilité cellulaire des lignées RS4;11 et SEM après un traitement d'1h par ONX-0914 (suivi de 2 jours de culture). (B) Quantification par substrats fluorogéniques de l'activité résiduelle des sous-unités LMP7 et LMP2. (C) Charge tumorale mesurée par bioluminescence dans des souris NSG xénotreffées, traitées par ONX-0914 (n=8), bortézomib (n=8) ou véhicule (n=6) en fonction du temps (jours après le début du traitement). (D) Image représentative des animaux à J21 pour chaque groupe de traitement. Les barres d'erreur représentent la SEM. \*0,01 < p < 0,05 ; \*\*p < 0,01. Adapté d'après (Jenkins *et al.*, 2021).

#### 4.1.2 **M3258, inhibiteur sélectif de $\beta 5i$**

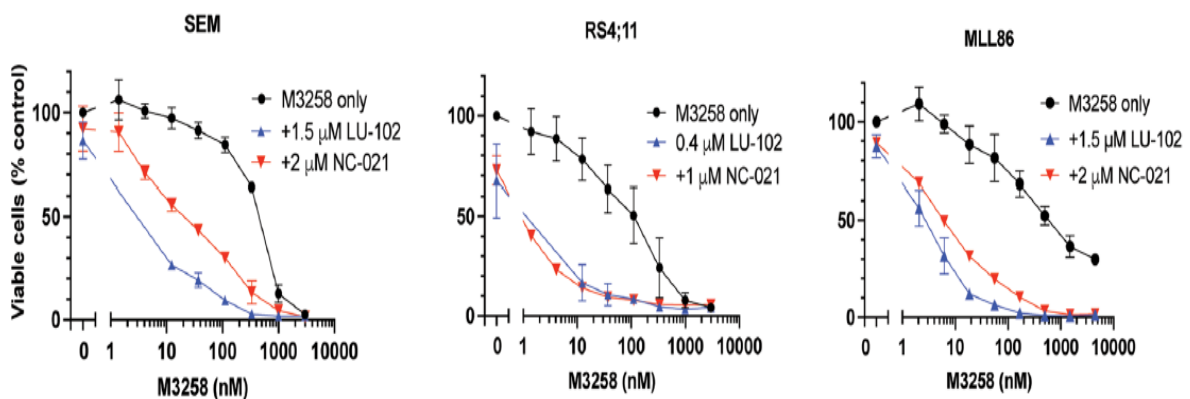
Le M3258 est un inhibiteur dipeptide boronate, développé par Merck KGaA, pour cibler spécifiquement la sous-unité  $\beta 5i$  (LMP7). Il affiche une sélectivité biochimique remarquable ( $IC_{50} = 10nM$  dans les cellules RS4;11) et une absence totale d'activité croisée sur les sous-unités  $\beta 1i$ ,  $\beta 2i$ ,  $\beta 5$  constitutives, ainsi que sur les protéases mitochondriales telles que ClpP, LonP, HtrA2 (**Klein *et al.*, 2021**). Sa formulation par voie orale constitue un avantage pratique majeur, permettant de maintenir une inhibition continue de  $\beta 5i$  *in vivo* à des concentrations plasmatiques comprises entre 0,1 et  $6\mu M$  pour une dose de 10 mg/kg/jour. Ce profil pharmacocinétique stable surpasse l'inhibition transitoire du protéasome constitutif induite par le bortézomib, qui décline en moins de 24 heures. De plus, le M3258 répond à la limite majeure de l'ONX-0914, dont l'activité résiduelle sur les sous-unités constitutives  $\beta 5$  et  $\beta 1$  restreignait la sélectivité pour l'immunoprotéasome (**Klein *et al.*, 2021**).

Pour évaluer l'efficacité de cette nouvelle molécule, Jenkins *et al.* (2025) ont utilisé les lignées cellulaires de LAL KMT2A::AFF1 (RS4;11, SEM), un panel de lignées de contrôle, ainsi qu'un modèle de patient-derived xenograft (PDX MLL-86) chez les souris NSG. Les auteurs ont analysé la viabilité cellulaire, l'accumulation de protéines K48-polyUb (marqueur de l'inhibition du protéasome), l'activation des voies d'apoptose et le profil transcriptomique global par RNA-séquençage (RNA-Seq), afin d'identifier les voies d'expression différentiellement activées par M3258 (**Jenkins *et al.*, 2025**).

Les résultats démontrent qu'une inhibition prolongée de  $\beta 5i$  par M3258 ( $EC_{50} \approx 100nM$ ) suffit à déclencher une apoptose marquée, bien qu'une co-inhibition des autres sites catalytiques augmente de manière synergique la mort cellulaire (fig.5). *In vivo*, le M3258 induit une réduction de la charge tumorale comparable à celle du bortézomib. De plus, sa combinaison avec le protocole de chimiothérapie standard de la LAL (vincristine, daunorubicine, dexaméthasone, L-asparaginase) provoque une régression tumorale durable d'environ 21 jours dans le modèle NSG SEM-luc, surpassant l'efficacité de chaque agent utilisé en monothérapie et justifiant les associations de traitements dans les protocoles cliniques actuels.

L'apport mécanistique le plus novateur de cette étude repose sur l'utilisation du cycloheximide (un inhibiteur de la synthèse protéique) à dose subtoxique. Son administration bloque quasi complètement l'apoptose induite par le M3258 ou le bortézomib, réduit l'accumulation de protéines K48-polyubiquitinées et empêche l'induction des chaperonnes HSPA1A et HSPA1B, ainsi que du facteur pro-apoptotique NOXA (**Jenkins *et al.*, 2025**). Cette expérience démontre

que le stress protéotoxique létal ne découle pas de l'accumulation de protéines anormales pré-existantes, mais résulte directement du déséquilibre aigu entre une synthèse protéique active et une capacité de dégradation compromise. Ce phénomène établit un parallèle mécanistique direct avec le MM : les cellules de LAL produisant massivement la protéine de fusion oncogénique KMT2A::AFF1 présentent une dépendance absolue au protéasome pour gérer le flux continu de leur néosynthèse protéique, reproduisant la vulnérabilité des plasmocytes du MM vis-à-vis des immunoglobulines (Hideshima *et al.*, 2001).



**Figure 5.** La co-inhibition de sites actifs de l'immunoprotéasome potentialise la cytotoxicité de M3258 dans les cellules LAL KMT2A::AFF1. La viabilité cellulaire des lignées RS4;11, SEM et des cellules PDX MLL-86 traitées pendant 48h (RS4;11 et SEM) ou 24h (MLL-86) avec des concentrations croissantes de M3258 en combinaison avec l'inhibiteur du site trypsine-like LU-102. Les données représentent la moyenne de deux réplicats biologiques ; les barres d'erreur indiquent l'erreur standard. Adapté d'après (Jenkins *et al.*, 2025).

L'analyse par RNA-seq confirme cette convergence biologique : les voies de l'UPR et de l'axe BAG2/Hsp70 s'avèrent être les cascades transcriptionnelles les plus fortement stimulées par le M3258 et le bortézomib, montrant un profil similaire entre les cellules LAL et de MM. Cette similarité renforce le rationnel clinique consistant à transposer l'usage des inhibiteurs sélectifs de l'immunoprotéasome (IPI) vers les leucémies aiguës. Deux limites doivent cependant être soulignées. D'une part, l'évaluation dans le modèle PDX MLL-86 ne montre qu'un bénéfice modeste en monothérapie, ce qui souligne l'hétérogénéité de la réponse et la nécessité d'identifier des biomarqueurs prédictifs, tels que le ratio LMP7/β5 constitutif. D'autre part, cette étude nuance le modèle épigénétique H2Bub1/H3K79me2 décrit par Kamens *et al.* (Voir section suivante) ; la désubiquitination de l'histone H2B apparaissant ici comme une conséquence tardive de la cascade apoptotique plutôt que comme sa cause principale.

Indépendamment du stress protéotoxique direct, une troisième étude met en lumière un mécanisme d'action inattendu des inhibiteurs du protéasome dans les LAL KMT2A : leur capacité à

perturber spécifiquement un programme épigénétique dont dépend la survie des blastes réarrangés.

#### 4.1.3 Effets épigénétiques de l'inhibition du protéasome

L'épigénétique désigne l'ensemble des modifications réversibles de la chromatine qui modulent l'expression génique sans altérer la séquence d'ADN. Ces mécanismes incluent notamment les modifications post-traductionnelles des histones (acétylation, méthylation, ubiquitination), dont l'état détermine l'accessibilité de la chromatine et l'activité transcriptionnelle. Dans les LAL portant le réarrangement KMT2A, la protéine de fusion KMT2A::AFF1 programme une identité transcriptionnelle oncogénique spécifique. Elle induit notamment la surexpression des gènes HOX et de leurs cofacteurs, dont dépendent étroitement la survie et la prolifération des blastes. Dans ce contexte, Kamens *et al.* (2023) ont cherché à déterminer si les inhibiteurs du protéasome pouvaient perturber ce programme épigénétique oncogénique, au-delà de leur effet protéotoxique direct.

Pour répondre à cette question, les auteurs ont réalisé un criblage phénotypique de 1116 composés approuvés ou en développement clinique sur une collection de 6 patient-derived xenograft (PDX) de LAL infantile KMT2A::AFF1. Les mesures de viabilité cellulaire à différentes concentrations ont permis de calculer les IC<sub>50</sub> et de classer les agents par efficacité. Cette approche s'avère particulièrement puissante pour identifier des vulnérabilités biologiques sans a priori mécanistique. Les résultats positionnent le bortézomib (IC<sub>50</sub> = 0,007 μM) et le carfilzomib (0,0014 μM) dans le top 3 des composés les plus actifs, aux côtés des anthracyclines et les inhibiteurs des histones désacétylases (HDACi) (fig. 6A). Crucialement, les cellules KMT2A::AFF1 se révèlent 10 à 100 fois plus sensibles au bortézomib que les cellules de LAL dépourvues de ce réarrangement, démontrant une vulnérabilité génotype-spécifique majeure (Pieters *et al.*, 2019; Kamens *et al.*, 2023).

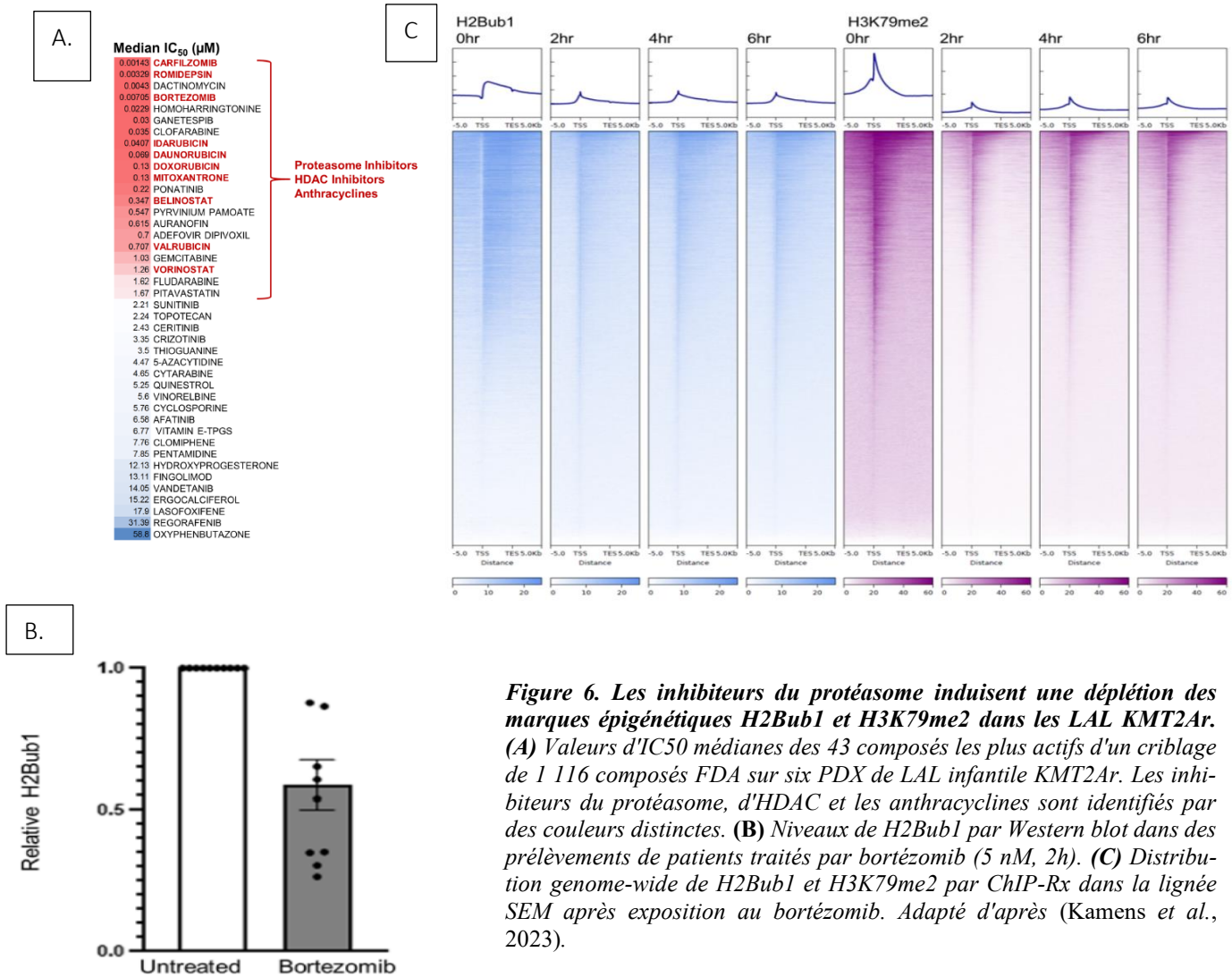
Afin d'élucider l'origine de cette sensibilité différentielle, ils analysent les modifications d'histones après une brève exposition (2 à 6 h) au bortézomib à faible dose (5 nM). Ils observent une déplétion rapide et sélective de la marque H2Bub1 (monoubiquitination de l'histone H2B sur son résidu lysine120 par la ligase E3 RNF20/RNF40) (fig. 6B). Il s'en suit une perte de la marque H3K79me2 (déposée par l'histone méthyl transférase DOT1L) sur les gènes cibles de KMT2A (fig. 6C). Des expériences d'immunoprécipitation de la chromatine (ChIP) ont confirmé la perte d'ancrage de KMT2A::AFF1 et de DOT1L sur les promoteurs de HOXA10,

MEIS1, CDK6, MYC et LMO2, provoquant l'effondrement du programme transcriptionnel oncogénique des blastes.

Ce mécanisme apporte une explication complémentaire à la vulnérabilité sélective des LAL KMT2A::AFF1. Bien que la chronologie exacte de cet évènement chromatinien reste discutée Jenkins et al. (2025) y voyant plutôt un effet tardif de la cascade apoptotique, le modèle Kamens suggère que le programme de survie transcriptionnelle est activement démantelé par les IP via la perturbation de la dynamique de H2Bub1. Ces effets épigénétiques et le stress protéotoxique classique s'avèreraient donc additifs (Kamens *et al.*, 2023). Ce rationnel sous-tend d'ailleurs la synergie observée entre le bortézomib et le vorinostat (HDACi) : tandis que le bortézomib bloque la dégradation protéasomale, le vorinostat empêche la formation d'aggrésomes (structures de stockage alternatives des protéines polyubiquitinées permettant d'échapper à la mort cellulaire), amplifiant l'accumulation de protéines toxiques.

Sur le plan clinique, 10 patients pédiatriques LAL/LAM KMT2A::AFF1 réfractaires traités en usage compassionnel (bortézomib + vorinostat + mitoxantrone) ont présenté un taux de réponse complète (CR + CRi) de **80 %** et un taux de réponse globale de **90 %**, surpassant significativement les taux historiques de 40–65 %. Ces données préliminaires sont confortées par l'essai multicentrique prospectif NCT02553460, qui confirme un taux de négativité de la maladie résiduelle mesurable(MRM) de 72 % à la fin de l'induction chez 36 patients LAL infantiles nouvellement diagnostiqués (Messinger *et al.*, 2012; Pieters *et al.*, 2019; Kamens *et al.*, 2023).

L'ensemble de ces travaux valide l'intérêt des modulateurs du protéasome dans les leucémies KMT2A::AFF1. Une quatrième étude permet d'élargir le spectre des hémopathies malignes et aborde une problématique clinique majeure : l'émergence de résistances aux thérapies ciblées de première intention dans les lymphomes B et la leucémie lymphoïde chronique. Les inhibiteurs du protéasome peuvent-ils constituer une stratégie de rattrapage efficace, exempte de résistance croisée ?



**Figure 6.** Les inhibiteurs du protéasome induisent une déplétion des marques épigénétiques H2Bub1 et H3K79me2 dans les LAL KMT2Ar. (A) Valeurs d'IC<sub>50</sub> médianes des 43 composés les plus actifs d'un criblage de 1 116 composés FDA sur six PDX de LAL infantile KMT2Ar. Les inhibiteurs du protéasome, d'HDAC et les anthracyclines sont identifiés par des couleurs distinctes. (B) Niveaux de H2Bub1 par Western blot dans des prélèvements de patients traités par bortézomib (5 nM, 2h). (C) Distribution genome-wide de H2Bub1 et H3K79me2 par ChIP-Rx dans la lignée SEM après exposition au bortézomib. Adapté d'après (Kamens et al., 2023).

#### 4.1.4 Résistance aux thérapies ciblées dans les hémopathies B

Les hémopathies malignes à cellules B, incluant les lymphomes diffus à grands groupes de cellules B, les lymphomes folliculaires et la leucémie lymphoïde chronique (LLC), sont traitées en première intention par des thérapies ciblées. Celles-ci comprennent des inhibiteurs de kinases tels que l'idélalisib (anti-PI3Kδ) ou l'ibrutinib (anti-BTK) ainsi que des agents pro-apoptotiques comme le vénétoclax (anti-BCL-2). Bien que ces molécules aient transformé le pronostic des patients, l'émergence de résistances acquises demeure un écueil clinique majeur. Face à ces mécanismes d'échappement souvent spécifiques d'une voie de signalisation, il s'avère crucial de déterminer si le protéasome, en tant que cible biologique indépendante, reste efficacement vulnérable dans les cellules devenues réfractaires.

Afin de répondre à cette problématique, des modèles cellulaires de lymphome B (KARPAS1718 & VL51) ainsi que des cellules LLC primaires ont été rendus résistants à l'idélalisib. Les auteurs ont ensuite utilisé une plateforme de criblage combinatoire de précision appelée Target Addiction Scoring (TAS). Cet outil évalue en parallèle 93 agents thérapeutiques seuls et 87 combinaisons double sur cellules parentales et résistantes, permettant d'identifier les dépendances oncogéniques persistantes dont l'inhibition reste létale pour la cellule tumorale malgré ses adaptations (**Hermansen *et al.*, 2025**). L'analyse du TAS positionne le protéasome dans le top 3 des cibles critiques, aux côtés de Bcl-2 et des HDAC, et ce, indépendamment du statut de résistance à l'idélalisib. De plus, les niveaux d'ARNm des sous-unités du protéasome ne sont pas modifiés lors de l'acquisition de la résistance à l'idélalisib, confirmant l'absence de résistance croisée transcriptionnelle entre ces deux agents. Validé *in vitro*, l'ixazomib maintient une efficacité cytotoxique équivalente dans les lignées parentales et résistantes à l'idélalisib, ainsi que dans les cellules LLC primaires réfractaires (n = 8) (**Hermansen *et al.*, 2025**).

Sur le plan mécanistique, l'ixazomib induit simultanément une surrégulation de la protéine pro-apoptotique BIM et de la protéine anti-apoptotique MCL-1 via l'activation de la réponse UPR. Cette situation moléculaire est opportunément exploitée par une co-administration de vénétoclax. En bloquant BCL-2, le vénétoclax libère la protéine BIM, ce qui restaure la cascade apoptotique et crée une synergie rationnelle dans les modèles résistants. Ce rationnel mécanistique fort plaide pour l'évaluation clinique de la combinaison ixazomib + vénétoclax dans les hémopathies B en échappement thérapeutique (**Hermansen *et al.*, 2025**).

Enfin, dans l'essai clinique IMPRESS-Norway (NCT04817956), un patient atteint de LLC multi-réfractaire, traité par bortézomib + vénétoclax + ibrutinib, a présenté une rémission marquée avant de rechuter à 12 semaines. L'analyse immunophénotypique réalisée au moment de la progression a révélé une déplétion sévère des lymphocytes TCD8<sup>+</sup> et des cellules NK dans le microenvironnement. Cette observation suggère qu'un mécanisme d'échappement immunitaire de l'hôte, plutôt qu'une résistance intrinsèque de la cellule tumorale, sous-tend la résistance à cette triple combinaison. Cette découverte ouvre des perspectives majeures pour l'association de modulateurs du protéasome avec des immunothérapies (telles que les anticorps anti-PD-1 ou anti-CD38).

Ces approches s'avèrent d'autant plus prometteuses que les données récentes, détaillées en section 4.2, révèlent un effet immunomodulateur insoupçonné du ciblage protéasomal via la voie cGAS-STING (**Hermansen *et al.*, 2025**) (**Skånland & Mato, 2021**) (**Arseni *et al.*, 2025**). En

conclusion, le ciblage du système ubiquitine-protéasome constitue une opportunité thérapeutique persistante, exempte de résistance croisée avec les inhibiteurs de kinases conventionnels. Toutefois, le blocage des sous-unités catalytiques du cœur 20S ne représente qu'un volet des stratégies disponibles. Une approche alternative consiste à viser la sous-unité structurale PSMD1 afin d'entraver l'assemblage de la particule régulatrice 19S, bloquant ainsi mécaniquement le flux de dégradation des protéines ubiquitinées.

## 4.2 Nouvelles cibles dans le protéasome

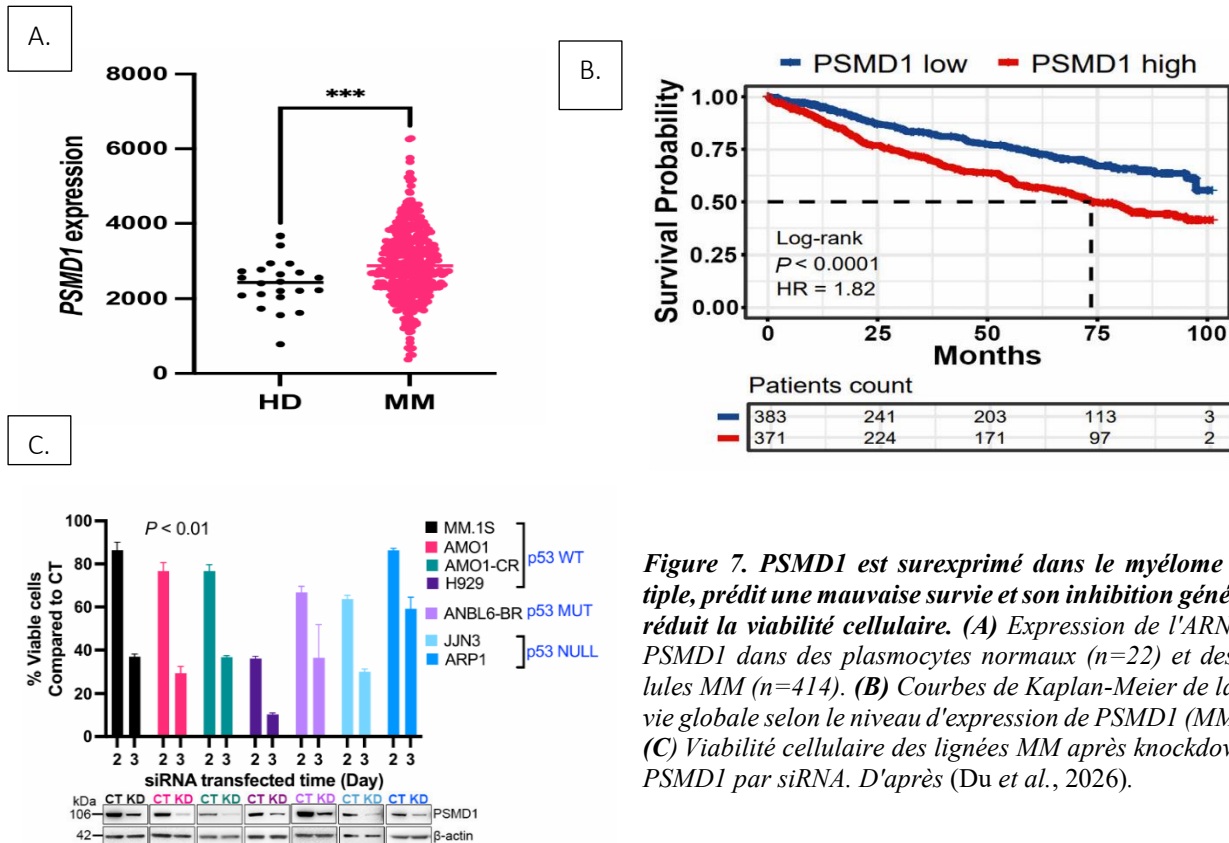
Si les inhibiteurs classiques (bortézomib, carfilzomib, ixazomib) et les IPI (ONX-0914, M3258) ciblent tous des sous-unités catalytiques du cœur 20S, une alternative thérapeutique orthogonale consiste à perturber non pas l'activité enzymatique du complexe, mais son assemblage structural via les sous-unités régulatrices de la particule 19S. Le principal avantage de cette approche réside dans l'absence de résistance croisée avec les IP conventionnels, dont les mécanismes d'échappement reposent presque exclusivement sur des modifications structurales des sites actifs du 20S. L'étude de *Du et al. (2026)* identifie PSMD1, la plus grande sous-unité non-ATPase de la particule 19S, comme une cible de choix dans le MM.

### 4.2.1 PSMD1 et pronostic dans le myélome multiple

Les travaux de *Du et al. (2026)*, publiés dans *Blood*, partent d'un constat clinique majeur : la sous-unité d'échafaudage (scaffolding) **PSMD1** (Proteasome 26S Subunit, Non-ATPase 1) est significativement surexprimée dans les cellules de MM comparativement aux plasmocytes sains. Cette surexpression est associée à un pronostic défavorable et prédit une réduction de la survie au sein d'une cohorte de 414 patients issus de la MMRF (Personalized Medicine Initiative) (fig.7). Ces données positionnent d'emblée PSMD1 comme un déterminant actif de la biologie tumorale du myélome (**Du et al., 2026**). Ce rôle critique s'explique par la fonction structurale de la protéine. Comme détaillé en section 1.2.1, PSMD1 sert de plateforme d'ancrage pour les autres sous-unités de la particule 19S, notamment pour les récepteurs d'ubiquitine PSMD4 et ADRM1 responsables de la capture des substrats. En l'absence de PSMD1 fonctionnel, l'assemblage de la particule régulatrice est compromis, empêchant la formation du protéasome 26S complet.

Afin de valider cette hypothèse thérapeutique, l'invalidation génétique de PSMD1 a été réalisée dans sept lignées MM aux profils cytogénétiques variés par le biais de stratégies complémentaires (interférence ARN par siRNA/shRNA et édition génomique par CRISPR/Cas9-sgRNA). Ces approches convergent toutes vers une accumulation massive de protéines polyubiquitinées

liées via la lysine 48 (K48-polyUb), confirmant le blocage du flux de dégradation par défaut d'assemblage du complexe 26S. Ce blocage déclenche une activation robuste de la réponse UPR (*Unfolded Protein Response* : matérialisée par la phosphorylation d'eIF2 $\alpha$  et l'induction de PERK, BiP), un arrêt du cycle cellulaire en phase G0-G1, et l'induction de l'apoptose objectivée par le clivage des caspases 3 et 9 ainsi que de la protéine PARP (Du *et al.*, 2026).



D'un point de vue mécanistique, ce ciblage ne bloque pas directement les sites catalytiques du cœur 20S, mais diminue le ratio fonctionnel 26S/20S. Cette propriété fondamentale explique l'absence de résistance croisée avec le bortézomib : les mutations du gène PSMB5 ( $\beta 5$ ), qui altèrent la poche de liaison du bortézomib au sein du 20S, n'impactent en rien l'intégrité architecturale de la particule 19S dépendante de PSMD1.

Un résultat particulièrement novateur de cette étude montre que la déplétion de PSMD1 provoque la dégradation post-transcriptionnelle des récepteurs d'ubiquitine PSMD4 et ADRM1, sans affecter leurs taux d'ARNm respectifs. De plus, l'analyse protéomique quantitative (marquage isobarique TMT couplé à la spectrométrie de masse) révèle des effets indirects majeurs :

une activation des voies de signalisation des interférons de types  $\alpha$  et  $\gamma$ , une relocalisation membranaire de la calréticuline (marqueur de mort cellulaire immunogène, ICD), ainsi qu'une activation de la voie cGAS-STING. Ces observations démontrent que PSMD1 possède un rôle immunomodulateur inédit. Au-delà de sa cytotoxicité directe, son ciblage est capable d'éveiller une réponse immunitaire anti-tumorale, offrant un rationnel solide pour de futures combinaisons avec des immunothérapies (Du *et al.*, 2026).

#### 4.2.2 Ciblage de PSMD1 par nanoparticules siRNA

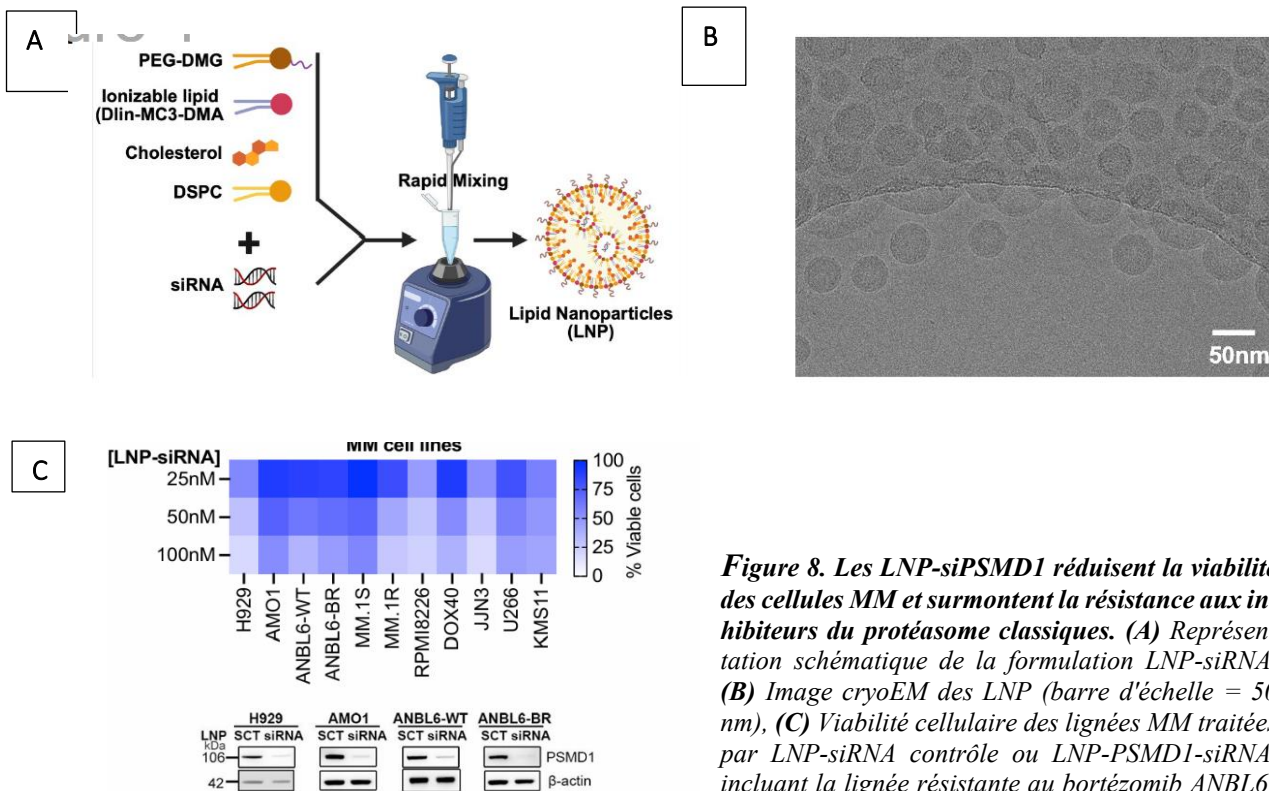
En l'absence d'inhibiteurs pharmacologiques de petite taille moléculaire ciblant PSMD1, les auteurs ont développé une approche thérapeutique basée sur l'interférence ARN. Ils ont encapsulé des siRNA dirigés contre PSMD1 dans des nanoparticules lipidiques (LNP) formulées à partir du lipide ionisable MC3-DMA (approuvé par la FDA). Présentant une taille homogène de 50 à 100 nm et un indice de polydispersité de 0,108, ces LNP garantissent une délivrance reproductible. Cette stratégie permet d'induire un silençage post-transcriptionnel efficace de PSMD1, entraînant l'effondrement des taux de la protéine et mimant ainsi les effets de la déplétion génétique.

Les complexes LNP-siPSMD1 réduisent la viabilité de l'ensemble des lignées de MM testées de façon dose-dépendante. De manière fondamentale, cette efficacité se maintient dans les lignées résistantes au bortézomib (ANBL6-BR) et au carfilzomib (AMO1-CR). Cette observation valide expérimentalement le rationnel mécanistique : les mutations de la sous-unité catalytique  $\beta 5$ , responsables de la résistance aux IP classiques, ne confèrent aucune protection contre le blocage structural de la particule 19S. Il s'agit d'un avantage thérapeutique majeur pour la prise en charge des patients en rechute multi-réfractaire (Du *et al.*, 2026) (Gandolfi *et al.*, 2017) (El Moukhtari *et al.*, 2023).

La sélectivité tumorale de cette approche s'avère également robuste. Les LNP-siPSMD1 réduisent significativement la viabilité des cellules MM CD138+ isolées à partir de prélèvements de moelle osseuse de patients, tout en épargnant les cellules saines CD138-. De plus, l'efficacité cytotoxique est préservée en condition de co-culture avec des cellules stromales médullaires (BMSC), prouvant que ce système s'affranchit des signaux de survie du microenvironnement tumoral. Enfin, l'impact sur la viabilité des cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC) de donneurs sains reste minime, confirmant l'existence d'une fenêtre thérapeutique favorable (Du *et al.*, 2026).

*In vivo*, l'évaluation dans des modèles de xénogreffes murines NSG (modèles sous-cutanés et disséminés H929-Luc) confirme qu'un traitement par LNP-siPSMD1 (2 mg/kg, 2 fois par semaine) induit une réduction significative de la charge tumorale et prolonge la survie des animaux, sans provoquer de perte de poids ni de toxicité systémique apparente (fig. 8). Par ailleurs, l'association de ces LNP avec le pomalidomide (Imnovid®) révèle une synergie robuste (index de combinaison CI < 1) dans quatre lignées de MM. Le pomalidomide, un immunomodulateur (IMiD) de troisième génération, se lie au composant CRBN de l'E3 ubiquitine ligase CRL4 pour induire la dégradation des facteurs de transcription Ikaros et Helios. La co-inhibition de cette voie d'ubiquitination spécifique parallèlement au blocage structural de l'assemblage du protéasome par le siRNA potentialise fortement la cascade pro-apoptotique.

La principale limite de cette technologie, identifiée par les auteurs eux-mêmes, réside dans le tropisme naturel des LNP classiques, dont la délivrance systémique reste préférentiellement séquestrée par le foie. Cela constitue un obstacle pour atteindre efficacement les niches tumorales disséminées dans la moelle osseuse. Des stratégies alternatives visant à fonctionnaliser la surface des LNP avec des ligands spécifiques du myélome (tels que des anticorps anti-CD138 ou des peptides cibles), ou le développement de petites molécules capables de perturber les interactions de PSMD1, représentent les axes d'évolution actuels pour transposer cette approche en clinique.



**Figure 8. Les LNP-siPSMD1 réduisent la viabilité des cellules MM et surmontent la résistance aux inhibiteurs du protéasome classiques.** (A) Représentation schématique de la formulation LNP-siRNA, (B) Image cryoEM des LNP (barre d'échelle = 50 nm), (C) Viabilité cellulaire des lignées MM traitées par LNP-siRNA contrôle ou LNP-PSMD1-siRNA, incluant la lignée résistante au bortézomib ANBL6-BR. D'après (Du et al., 2026).

### 4.3 Métabolisme tumoral et inhibiteurs du protéasome

Les études présentées dans la section 4.2 démontrent l'intérêt de cibler le protéasome à un niveau structural (la particule 19S), offrant une alternative orthogonale aux sites catalytiques du cœur 20S visés par les IP classiques. Cette approche préserve une efficacité cytotoxique dans les cellules résistantes tout en induisant un effet immunomodulateur inédit. La présente section explore une dimension complémentaire et tout aussi fondamentale : le contexte métabolique dans lequel le protéasome opère, et la façon dont cet état conditionne la sensibilité ou la réfractarité de la cellule tumorale aux inhibiteurs du protéasome.

Comme rappelé en section 1.4, les cellules de MM affichent une dépendance critique envers le SUP en raison de leur production massive d'immunoglobulines. Cette synthèse protéique continue impose un flux de dégradation protéasomale tout aussi soutenu. Deux études récentes démontrent que le statut du métabolisme mitochondrial détermine de façon causale la sensibilité des cellules MM aux IP, et qu'une intervention pharmacologique courante peut perturber cette relation de manière cliniquement significative.

#### 4.3.1 Métabolisme et sensibilité au bortézomib

La phosphorylation oxydative mitochondriale (OXPHOS) est le processus par lequel la chaîne de transport d'électrons (complexes I à V) génère la majorité de l'ATP cellulaire. Dans les cellules de MM, l'OXPHOS est intensément sollicité afin de fournir l'énergie requise pour soutenir la biosynthèse des immunoglobulines. Nair et al. (2022) et Sharma et al. (2022) ont émis l'hypothèse que cet état métabolique hyperactif ne coexistait pas simplement avec la vulnérabilité au protéasome, mais en était un déterminant causal direct.

Pour tester cette hypothèse, les auteurs ont utilisé l'analyseur Seahorse XF, une plateforme permettant de mesurer en temps réel le taux de consommation d'oxygène (OCR, reflet de l'OXPHOS) et le taux d'acidification extracellulaire (ECAR, reflet de la glycolyse anaérobie) sur les cellules vivantes. En soumettant différentes lignées de MM à des variations nutritionnelles (milieu complet vs milieu de restriction nutritive induisant un ralentissement métabolique), ils ont pu corrélérer le profil bioénergétique à la réponse au bortézomib. Afin de dépasser le stade de la simple corrélation, un criblage fonctionnel par CRISPR-Cas9 (bibliothèque GSE301947, exploitant 485 ARN guides ciblant 97 gènes) a été mis en œuvre pour évaluer le rôle causal de chaque gène du métabolisme mitochondrial dans la sensibilité aux IP.

Les analyses de stress mitochondrial au Seahorse révèlent que les cellules de MM métaboliquement actives (caractérisées par des valeurs d'OCR/ECAR élevées et une activation de la voie

mTORC1) s'avèrent 2 à 3 fois plus sensibles au bortézomib que leurs homologues placées en conditions de restriction nutritive. Le criblage CRISPR-Cas9 confirme fonctionnellement que l'invalidation (knockout) des gènes clés de biogenèse du complexe I de la chaîne respiratoire (NDUFB4, NDUFA12, NDUFAF1) induit une résistance au bortézomib. Ces données valident l'OXPPOS mitochondrial comme un déterminant causal majeur de la réponse aux IP (**Nair *et al.*, 2022; Sharma *et al.*, 2022**).

La validation translationnelle d'envergure est apportée par l'analyse bio-informatique de la cohorte CoMMpass (regroupant 793 patients atteints de MM traités par IP, issus de la MMRF), via une analyse d'enrichissement d'ensembles de gènes (GSEA). Les gènes codant les complexes I, II, III et V de la machinerie OXPPOS apparaissent significativement enrichis chez les patients présentant une survie sans progression supérieure à 24 mois ( $p = 0,0000002$  à  $0,0039$ ). La convergence stricte entre les résultats précliniques et les données de survie réelle renforce considérablement la valeur de l'OXPPOS en tant que biomarqueur prédictif de la sensibilité aux IP.

Si cette corrélation causale entre l'activité mitochondriale et l'efficacité des IP offre des perspectives prometteuses pour stratifier les patients, elle soulève une interrogation pratique immédiate : quel est l'impact clinique lorsqu'un patient atteint de MM reçoit concomitamment une molécule thérapeutique capable d'interférer avec ce même métabolisme mitochondrial ?

#### **4.3.2 Rôle de la metformine**

La metformine est l'antidiabétique oral le plus prescrit à l'échelle mondiale. Son mécanisme d'action principal repose sur l'inhibition partielle du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale, ce qui altère l'OXPPOS et réduit la production hépatique de glucose. En clinique, environ 20 % des patients atteints de MM présentent un diabète comorbide et reçoivent de la metformine en co-prescription avec leur protocole antitumoral, lequel inclut fréquemment un inhibiteur du protéasome. À la lumière des données de la section 4.3.1 établissant l'OXPPOS comme un déterminant causal de la sensibilité au bortézomib, Tu et al. (2026) ont formulé une hypothèse aux implications translationnelles majeures : en atténuant l'activité mitochondriale, la metformine pourrait antagoniser l'efficacité du bortézomib au sein des plasmocytes malins. Les expériences combinant le bortézomib et la metformine dans plusieurs lignées cellulaires de MM valident cette hypothèse. La metformine protège de façon significative les cellules tumorales de la cytotoxicité du bortézomib, induisant une augmentation de 30 % de la viabilité cellulaire ( $p < 0,01$ ). L'analyse mécanistique révèle trois effets complémentaires par lesquels la

metformine neutralise l'action des IP : (i) La suppression du stress oxydatif : Elle réduit de 60 % la production de dérivés réactifs de l'oxygène mitochondriaux (Mito-ROS) induite par le bortézomib ; (ii) L'allègement de la charge protéotoxique en inhibant la synthèse protéique globale; (iii) La reprogrammation de la réponse intégrée au stress (ISR) : Elle oriente la voie ISR vers un profil de survie adaptatif (surrégulation du facteur de transcription ATF4 sans induction concomitante de son effecteur pro-apoptotique CHOP), divergeant de l'ISR létale normalement déclenchée par le bortézomib.

Cet antagonisme métabolique s'avère partiellement réversible lors de l'adjonction de l'ISRIB (un inhibiteur pharmacologique de l'ISR qui restaure la traduction cellulaire en ciblant le facteur eIF2B en aval de la phosphorylation eIF2 $\alpha$ ). Cette réversibilité confirme le rôle causal de cette cascade adaptative dans l'effet protecteur de la metformine. Enfin, la validation menée *ex vivo* sur cinq prélèvements de moelle osseuse issus de patients atteints de MM cliniquement réfractaires est venue corroborer la pertinence directe de ces observations précliniques (**Tu *et al.*, 2026; Bianchi *et al.*, 2009**).

Cette interaction médicamenteuse potentiellement délétère requiert une vigilance particulière lors de la prise en charge médicale. En l'absence de données cliniques prospectives à large échelle, la prudence académique incite à évaluer des alternatives thérapeutiques chez les patients diabétiques sous metformine. Il conviendra notamment d'étudier si les IP de seconde génération (carfilzomib, ixazomib) subissent le même antagonisme métabolique, ou de discuter, en concertation étroite avec l'endocrinologue, d'une suspension temporaire de la metformine au cours des cycles d'administration des IP. Cette problématique illustre de façon flagrante la nécessité d'intégrer la pharmacologie au cœur des approches de médecine de précision dédiées aux hémopathies malignes.

## 5 SYNTHÈSE CRITIQUE CONVERGENCE ET LIMITES

L'analyse croisée des six études sélectionnées, couvrant trois pathologies hématologiques distinctes et trois axes thérapeutiques indépendants, met en lumière une vulnérabilité biologique commune : l'addiction oncogénique au système ubiquitine-protéasome (SUP) induite par un stress protéotoxique chronique. Ce travail s'articulait autour de trois hypothèses centrales qu'il convient désormais d'évaluer, de nuancer ou de confronter à la lumière de la littérature récente.

La première hypothèse postulant que le ciblage sélectif de l'immunoprotéasome permettrait d'obtenir une efficacité anti-tumorale équivalente aux IP classiques tout en élargissant la fenêtre thérapeutique est partiellement validée. Les molécules ONX-0914 et M3258 font preuve d'une efficacité cytotoxique comparable au bortézomib au sein des modèles de LAL avec réarrangement *KMT2A::AFF1*, tout en capitalisant sur une sélectivité tissulaire accrue pour les cellules hématopoïétique. Néanmoins, l'activité antitumorale modeste du M3258 en monothérapie observée dans certains modèles PDX vient tempérer ce rationnel. Le blocage exclusif de la sous-unité  $\beta 5i$  s'avère parfois insuffisant pour saturer la capacité de clairance de la cellule tumorale. Dès lors, la quantification du ratio LMP7/ $\beta 5$  constitutif s'impose comme un biomarqueur prédictif incontournable avant d'envisager toute transposition clinique.

La deuxième hypothèse selon laquelle le ciblage structural de la particule 19S via PSMD1 permettrait de contourner les résistances aux IP classiques est solidement validée. Cette stratégie représente, parmi toutes les approches analysées, celle qui offre les perspectives translationnelles les plus directes. Les nanoparticules lipidiques encapsulant des siRNA dirigés contre PSMD1 maintiennent leur potentiel pro-apoptotique dans les lignées réfractaires au bortézomib et au carfilzomib. Elles affichent une sélectivité tumorale robuste sur des prélèvements primaires de patients et déclenchent une réponse immunomodulatrice via la cascade cGAS-STING et l'induction d'une mort cellulaire immunogène (ICD). Il s'agit de la seule approche capable de résoudre simultanément l'écueil des résistances acquises liées au cœur 20S tout en ouvrant la voie à des associations avec l'immunothérapie. Sa principale limite demeure d'ordre technologique : l'optimisation de la vectorisation des LNP vers le compartiment médullaire osseux constitue un prérequis indispensable à tout essai clinique.

La troisième hypothèse stipulant que le profil métabolique mitochondrial conditionne de manière causale la réponse thérapeutique aux IP est pleinement validée. La démonstration CRISPR-Cas9 que le knockout des gènes de biogenèse du complexe I induit une résistance au bortézomib, confirmée par la cohorte CoMMpass (n=793), établit l'OXPHOS comme biomarqueur prédictif robuste. Mais c'est l'interaction metformine-bortézomib qui confère à cette hypothèse son urgence clinique la plus immédiate : 20% des patients MM diabétiques reçoivent ces deux agents simultanément, sans que cette interaction défavorable n'ait fait l'objet d'une étude prospective dédiée. Au-delà de ces trois hypothèses, une convergence transversale inattendue émerge : aucune de ces stratégies ne fonctionne de façon optimale en monothérapie. LNP-PSMD1 siRNA + pomalidomide, M3258 + chimiothérapie standard, bortézomib + vorinostat, ixazomib + vénétoclax dans chaque cas est la combinaison rationnelle qui produit les

résultats les plus convaincants. Cette convergence reflète la redondance des voies de survie tumorale et impose des approches multimodales dont la rationalité mécanistique doit être explicitement démontrée, comme c'est le cas dans chacune de ces études.

Enfin la limite principale inhérente à l'ensemble de ces travaux réside dans le caractère essentiellement préclinique des données ou dans la restriction des évaluations à de faibles effectifs cliniques (10 patients pour le protocole de Kamens et al., un cas unique pour l'essai *IMPRESS-Norway*). En l'absence de protocoles prospectifs validant à large échelle les biomarqueurs identifiés (ratio LMP7/ $\beta$ 5, signatures OXPHOS, expression de PSMD1 ou statut *KMT2A*), la transposition de ces avancées vers la pratique quotidienne restera limitée. L'intégration et la validation de ces biomarqueurs au sein des futurs essais cliniques constituent la priorité absolue pour faire passer ces approches du stade de concept à celui d'une médecine de précision concrète.

## 6 CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La question centrale de ce mémoire était de savoir dans quelle mesure les modulateurs de l'activité du protéasome constituent une stratégie thérapeutique pertinente, efficace et durable dans le traitement des cancers. La réponse s'avère affirmative, à la condition de dépasser le paradigme de l'inhibition catalytique classique du cœur 20S, dont les limites en termes de résistances acquises et de spectre d'activité restreint sont désormais bien établies.

Parmi les trois axes innovants explorés, le ciblage structural de PSMD1 apparaît comme le plus prometteur à court terme car est actif dans les lignées réfractaires aux IP classiques, sélectif pour les cellules tumorales dans des prélèvements primaires, et porteur d'un effet immunomodulateur inattendu via la voie cGAS-STING. En parallèle, l'implication clinique immédiate de l'interaction metformine-bortézomib illustre quant à quel point le profil métabolique et l'activité OXPHOS de la cellule tumorale ne peuvent plus être ignorés lors de la conception et personnalisation des protocoles thérapeutiques.

Assurer la durabilité de ces stratégies reste le défi majeur des années à venir. Bien que l'addiction oncogénique au protéasome constitue une vulnérabilité difficilement contournable, l'histoire des IP classiques rappelle la remarquable plasticité d'adaptation des cellules tumorales ce qui impose des approches multimodales rationnelles, ancrées dans une compréhension mécanistique profonde et guidées par des biomarqueurs prédictifs validés.

## 7 BIBLIOGRAPHIE :

- Adams J (2004). The proteasome: a suitable antineoplastic target. *Nat Rev Cancer* **4**, 349–360.
- Arseni L et al. (2025). Longitudinal omics data and preclinical treatment suggest the proteasome inhibitor carfilzomib as therapy for ibrutinib-resistant CLL. *Nat Commun* **16**, 1041.
- Awan AB, Osman MJA & Khan OM (2025). Ubiquitination Enzymes in Cancer, Cancer Immune Evasion, and Potential Therapeutic Opportunities. *Cells*; DOI: 10.3390/cells14020069.
- Bianchi G, Oliva L, Cascio P, Pengo N, Fontana F, Cerruti F, Orsi A, Pasqualetto E, Mezghrani A, Calbi V, Palladini G, Giuliani N, Anderson KC, Sitia R & Cenci S (2009). The proteasome load versus capacity balance determines apoptotic sensitivity of multiple myeloma cells to proteasome inhibition. *Blood* **113**, 3040–3049.
- Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I & Jemal A (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* **74**, 229–263.
- Ciechanover A (2005). Intracellular Protein Degradation: From a Vague Idea, through the Lysosome and the Ubiquitin–Proteasome System, and onto Human Diseases and Drug Targeting (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie International Edition* **44**, 5944–5967.
- Collins GA & Goldberg AL (2017). The Logic of the 26S Proteasome. *Cell* **169**, 792–806.
- Dikic I (2017). Proteasomal and Autophagic Degradation Systems. *Annual Review of Biochemistry* **86**, 193–224.
- Dimopoulos MA et al. (2016). Carfilzomib and dexamethasone versus bortezomib and dexamethasone for patients with relapsed or refractory multiple myeloma (ENDEAVOR): a randomised, phase 3, open-label, multicentre study. *Lancet Oncol* **17**, 27–38.
- Du T, Fang T, Pillai SC, Ray A, Wang M, Wan X, Wen K, Liu Y, Xu J, Musa MA, Liu X, Fulciniti M, Munshi NC, Garbicz F, Carrasco RD, Yao Y, Zhang Z, Song Y & Anderson KC (2026). Proteasome Subunit PSMD1 is a Key Therapeutic Target in Multiple Myeloma. *Blood* **147**, 2935.
- El Moukhtari SH, Garbayo E, Amundarain A, Pascual-Gil S, Carrasco-León A, Prosper F, Agirre X & Blanco-Prieto MJ (2023). Lipid nanoparticles for siRNA delivery in cancer treatment. *J Control Release* **361**, 130–146.
- Ferrington DA & Gregerson DS (2012). Immunoproteasomes: structure, function, and antigen presentation. *Prog Mol Biol Transl Sci* **109**, 75–112.
- Finley D (2009). Recognition and Processing of Ubiquitin-Protein Conjugates by the Proteasome. *Annual Review of Biochemistry* **78**, 477–513.
- Gandolfi S, Laubach JP, Hideshima T, Chauhan D, Anderson KC & Richardson PG (2017). The proteasome and proteasome inhibitors in multiple myeloma. *Cancer Metastasis Rev* **36**, 561–584.
- Guillaume B, Chapiro J, Stroobant V, Colau D, Van Holle B, Parvizi G, Bousquet-Dubouch M-P, Théate I, Parmentier N & Van den Eynde BJ (2010). Two abundant proteasome subtypes that uniquely process some antigens presented by HLA class I molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **107**, 18599–18604.

- Hanahan D (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov* **12**, 31–46.
- Hanahan D & Weinberg RA (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* **144**, 646–674.
- Hermansen JU, Athanasiadis P, Yin Y, Rise A-SF, Arribas AJ, Cascione L, Russnes HG, Helland Å, Mato AR, Bertoni F, Tjønnfjord GE, Aittokallio T & Skånland SS (2025). Proteasome inhibition overcomes resistance to targeted therapies in B-cell malignancy models and in an index patient. *Cell Death Dis* **16**, 555.
- Hideshima T, Richardson P, Chauhan D, Palombella VJ, Elliott PJ, Adams J & Anderson KC (2001). The proteasome inhibitor PS-341 inhibits growth, induces apoptosis, and overcomes drug resistance in human multiple myeloma cells. *Cancer Res* **61**, 3071–3076.
- Jenkins TW, Downey-Kopyscinski SL, Fields JL, Rahme GJ, Colley WC, Israel MA, Maksimenko AV, Fiering SN & Kisselev AF (2021). Activity of immunoproteasome inhibitor ONX-0914 in acute lymphoblastic leukemia expressing MLL-AF4 fusion protein. *Sci Rep* **11**, 10883.
- Jenkins TW, Fitzgerald JE, Park J, Wilson AM, Berry KL, Wong KS, Houry WA, Lee I, Maksimenko AV, Panizzi PR, Maxuitenko YY, Loop MS, Mitra AK & Kisselev AF (2025). Highly specific Immunoproteasome inhibitor M3258 induces proteotoxic stress and apoptosis in KMT2A::AFF1 driven acute lymphoblastic leukemia. *Sci Rep* **15**, 17284.
- Jhunjhunwala S, Hammer C & Delamarre L (2021). Antigen presentation in cancer: insights into tumour immunogenicity and immune evasion. *Nat Rev Cancer* **21**, 298–312.
- Kamens JL et al. (2023). Proteasome inhibition targets the KMT2A transcriptional complex in acute lymphoblastic leukemia. *Nat Commun* **14**, 809.
- Karin M & Lin A (2002). NF-kappaB at the crossroads of life and death. *Nat Immunol* **3**, 221–227.
- Klein M, Busch M, Friesen-Hamim M, Crosignani S, Fuchss T, Musil D, Rohdich F, Sanderson MP, Seenisamy J, Walter-Bausch G, Zanelli U, Hewitt P, Esdar C & Schadt O (2021). Structure-Based Optimization and Discovery of M3258, a Specific Inhibitor of the Immunoproteasome Subunit LMP7 ( $\beta 5i$ ). *J Med Chem* **64**, 10230–10245.
- Kozalak G, Bütün İ, Toyran E & Koşar A (2023). Review on Bortezomib Resistance in Multiple Myeloma and Potential Role of Emerging Technologies. *Pharmaceuticals (Basel)* **16**, 111.
- Kumatori A, Tanaka K, Inamura N, Sone S, Ogura T, Matsumoto T, Tachikawa T, Shin S & Ichihara A (1990). Abnormally high expression of proteasomes in human leukemic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **87**, 7071–7075.
- Lee B-H, Lee MJ, Park S, Oh D-C, Elsasser S, Chen P-C, Gartner C, Dimova N, Hanna J, Gygi SP, Wilson SM, King RW & Finley D (2010). Enhancement of proteasome activity by a small-molecule inhibitor of USP14. *Nature* **467**, 179–184.
- Manasanch EE & Orlowski RZ (2017). Proteasome inhibitors in cancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol* **14**, 417–433.
- Messinger YH, Gaynon PS, Sposto R, van der Giessen J, Eckroth E, Malvar J, Bostrom BC, & Therapeutic Advances in Childhood Leukemia & Lymphoma (TACL) Consortium (2012). Bortezomib with chemotherapy is highly active in advanced B-precursor acute lymphoblastic leukemia: Therapeutic Advances in Childhood Leukemia & Lymphoma (TACL) Study. *Blood* **120**, 285–290.

## BIBLIOGRAPHIE :

- Moreau P et al. (2016). Oral Ixazomib, Lenalidomide, and Dexamethasone for Multiple Myeloma. *N Engl J Med* **374**, 1621–1634.
- Muchamuel T, Basler M, Aujay MA, Suzuki E, Kalim KW, Lauer C, Sylvain C, Ring ER, Shields J, Jiang J, Shwonek P, Parlati F, Demo SD, Bennett MK, Kirk CJ & Groettrup M (2009). A selective inhibitor of the immunoproteasome subunit LMP7 blocks cytokine production and attenuates progression of experimental arthritis. *Nat Med* **15**, 781–787.
- Nair R, Gupta P & Shanmugam M (2022). Mitochondrial metabolic determinants of multiple myeloma growth, survival, and therapy efficacy. *Front Oncol* **12**, 1000106.
- Niewerth D, Franke NE, Jansen G, Assaraf YG, van Meerloo J, Kirk CJ, Degenhardt J, Anderl J, Schimmer AD, Zweegman S, de Haas V, Horton TM, Kaspers GJL & Cloos J (2013). Higher ratio immune versus constitutive proteasome level as novel indicator of sensitivity of pediatric acute leukemia cells to proteasome inhibitors. *Haematologica* **98**, 1896–1904.
- Patiño-Escobar B, Talbot A & Wiita AP (2023). Overcoming proteasome inhibitor resistance in the immunotherapy era. *Trends Pharmacol Sci* **44**, 507–518.
- Pieters R et al. (2019). Outcome of Infants Younger Than 1 Year With Acute Lymphoblastic Leukemia Treated With the Interfant-06 Protocol: Results From an International Phase III Randomized Study. *J Clin Oncol* **37**, 2246–2256.
- Ribas A & Wolchok JD (2018). Cancer immunotherapy using checkpoint blockade. *Science* **359**, 1350–1355.
- Richardson PG et al. (2005). Bortezomib or high-dose dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N Engl J Med* **352**, 2487–2498.
- Rock KL, Gramm C, Rothstein L, Clark K, Stein R, Dick L, Hwang D & Goldberg AL (1994). Inhibitors of the proteasome block the degradation of most cell proteins and the generation of peptides presented on MHC class I molecules. *Cell* **78**, 761–771.
- San Miguel JF et al. (2008). Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. *N Engl J Med* **359**, 906–917.
- Schwestermann J, Besse A, Driessen C & Besse L (2022). Contribution of the Tumor Microenvironment to Metabolic Changes Triggering Resistance of Multiple Myeloma to Proteasome Inhibitors. *Front Oncol*; DOI: 10.3389/fonc.2022.899272.
- Sharma A, Nair R, Achreja A, Mittal A, Gupta P, Balakrishnan K, Edgar CL, Animasahun O, Dwivedi B, Barwick BG, Gupta VA, Matulis SM, Bhasin M, Lonial S, Nooka AK, Wiita AP, Boise LH, Nagrath D & Shanmugam M (2022). Therapeutic implications of mitochondrial stress-induced proteasome inhibitor resistance in multiple myeloma. *Sci Adv* **8**, eabq5575.
- Skånland SS & Mato AR (2021). Overcoming resistance to targeted therapies in chronic lymphocytic leukemia. *Blood Adv* **5**, 334–343.
- Tsvetkov P, Adler J, Myers N, Biran A, Reuven N & Shaul Y (2018). Oncogenic addiction to high 26S proteasome level. *Cell Death Dis* **9**, 773.

## BIBLIOGRAPHIE :

- Tu C, Van der Vreken A, Faict S, Ates G, Massie A, De Veirman K, De Bruyne E, Vanderkerken K & Menu E (2026). The clinically available supplement pyruvate enhances the therapeutic effect of bortezomib in Multiple Myeloma by modulating mitochondrial metabolism. *Cancer Lett* **640**, 218245.
- Vasan N, Baselga J & Hyman DM (2019). A view on drug resistance in cancer. *Nature* **575**, 299–309.
- Vigneron N, Abi Habib J & Van den Eynde BJ (2017). Learning from the Proteasome How To Fine-Tune Cancer Immunotherapy. *Trends in Cancer*; DOI: 10.1016/j.trecan.2017.07.007.
- Wade M, Li Y-C & Wahl GM (2013). MDM2, MDMX and p53 in oncogenesis and cancer therapy. *Nat Rev Cancer* **13**, 83–96.

## **RESUME :**

Le Système ubiquitine-protéasome (SUP) joue un rôle central dans la survie tumorale. Son dérèglement favorise la prolifération et l'adaptation des cellules cancéreuses, faisant du protéasome une cible thérapeutique majeure dans les hémopathies malignes. Ce mémoire est une synthèse bibliographique critique de six études récentes portant sur le myélome multiple et les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL). L'analyse montre que le ciblage sélectif de l'immunoprotéasome est efficace dans les LAL à réarrangement KMT2A ::AFF1, que l'inhibition de la sous-unité PSMD1 par siRNA contourne les résistances aux inhibiteurs classiques en activant la voie IP immunomodulatrice cGAS-STING et enfin, la modulation du métabolisme mitochondrial (OXPHOS) influence causalement la sensibilité au bortézomib, avec une interaction cliniquement significative observée avec la metformine. Ce travail souligne le potentiel des stratégies ciblant le protéasome dans une perspective de médecine de précision et ouvre la voie à des approches multimodales intégrant biomarqueurs prédictifs et immunothérapie.

**Mots-clés :** protéasome ; inhibiteurs du protéasome ; immunoprotéasome ; myélome multiple ; leucémie aiguë lymphoblastique ; PSMD1 ; métabolisme mitochondrial.

## **ABSTRACT :**

The ubiquitin-proteasome system (UPS) plays a central role in tumour survival. Its dysregulation promotes the proliferation and adaptation of cancer cells, making the proteasome a major therapeutic target in haematological malignancies. This thesis is a critical literature review of six recent studies on multiple myeloma and acute lymphoblastic leukaemia (ALL). The analysis shows that selective targeting of the immunoproteasome is effective in KMT2A ::AFF1-rearranged ALL, that inhibition of the PSMD1 subunit by SiRNA bypasses resistance to classical inhibitors by activating the immunomodulatory cGAS-STING pathway, and that modulation of mitochondrial metabolism (OXPHOS) causally influences bortezomib sensitivity, with a clinically significant interaction observed with metformin. This work highlights the potential of proteasome-targeting strategies in a precision medicine perspective and paves the way for multimodal approaches integrating predictive biomarkers and immunotherapy.

**Keywords :** proteasome; proteasome inhibitors; immunoproteasome; multiple myeloma; acute lymphoblastic leukaemia; PSMD1; mitochondrial metabolism.