

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche
Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى- جيجل

Université Mohammed Seddik Ben Yahia

Faculté des Sciences de la Nature et de
la Vie
Département de Biologie Moléculaire
et Cellulaire



كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية الخلوية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme : Master Académique en Biologie

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème

**Expression, fonctions et implication de
Gal-4 dans le cancer, un nouvel gène
suppresseur de tumeurs**

Membres de Jury

Examinatrice : Dr MEDOURI Asma

Présidente : Dr ABBES Arbia

Encadreur : Pr RECHRECHE Hocine

Présenté par

BRIOUAT Amina

BOULATIOUR Amel

Année Universitaire : 2020-2021

Numéro d'ordre :

Remerciements

Nous adressons, en premier lieu, nos reconnaissances à notre Dieu tout puissant, de nous avoir donné le courage, la force, la santé, la persistance, et de nous avoir permis de faire cette recherche, car sans lui rien n'est possible.

Nos remerciements et dédicaces vont aux êtres les plus chers au monde, nos parents, pour tous les efforts et sacrifices qu'ils ont consentis le long de nos parcours respectifs.

*Notre première pensée va tout naturellement à notre encadrant, le Pr **RECHRECHE Hocine**, qui a suivi fidèlement notre travail. Nous tenons à le remercier pour son encadrement, la confiance qu'il a témoignée en notre travail et pour nous avoir donné les moyens pour l'aboutissement de ce travail.*

Nous remercions, par ailleurs, l'ensemble des membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de l'enrichir par leurs propositions : nous tenons à exprimer nos sentiments de reconnaissance à toutes les personnes qui par leurs aides et leurs encouragements de près ou de loin, par leur collaboration, ou leur soutien moral et leur amitié, nous ont permis de réaliser ce travail dans les meilleures conditions.

Sommaire

Liste des abréviations	
Introduction générale.....	1
Chapitre I : Famille des galectines	
I.1. Historique.....	3
I.2. Structure	3
I.3. Classification.....	4
I.4. Expression tissulaire et cellulaire	5
I.5. Fonctions	7
I.6. Rôle dans le cancer	8
Chapitre II : Galectine 4	
II.1. Introduction	10
II.2. Structure moléculaire et ligands	10
II.3. Fonctions.....	13
II.3.1. Stabilisation des radeaux lipidiques.....	13
II.3.2. Trafic apical.....	14
II.3.3. Stimulation des axones et la myélinisation des neurones.....	15
Chapitre III. Gal-4 et cancer	
III.1. Fonction de gène suppresseur de tumeurs.....	17
III. 2. Expression et rôle dans les tissus tumoraux	17
III.2.1. Cancer pulmonaire	17
III.2.2. Cancer colorectal	19
III.2.3. Cancer pancréatique.....	20
III.3. Système UAS/Gal4 chez la drosophile	21
III.4. Contrôle de l'inflammation intestinale.....	22
Conclusion	24
Références	25

Liste des abréviations

C/EBPs : CAAT enhancer binding proteins

CBS : Carbohydrate binding site

CNS : Central nervous system

CRC : Colorectal cancer

CRD : Carbohydrate recognition domain

ERK : Extracellular signal regulated kinase

Gal-4 : Galectine-4

Gals : Galectines

HNF-4 : Hepatocyte nuclear factor 4

IL-6 : Interleukine-6

Lac Nac : *N*-acétyllactosamine

MBP : Myelin basic protein

mRNA : Messenger ribonucleic acid

NCAM : Neuronal cell adhesion molecules

NF- κ B : Nuclear factor kappa-B

OLGs : Oligodendrocytes

RT-PCR : Reverse transcription polymerase chain reaction

SNPs : Single nucleotide polymorphisms

TGN : Trans-Golgi Network

TRAF: Trafficking

UAS : Upstream activator sequence

WNT : Wingless

Introduction générale

La glycobiologie est une nouvelle discipline scientifique, alliant les fondements de la Biochimie et de la Biologie Moléculaire, pour étudier et comprendre la structure, la biosynthèse et la fonction biologique des glycanes. Elle est, aujourd'hui, un domaine dynamique et pertinent des sciences naturelles, notamment, en ce qui concerne la recherche fondamentale, la Biomédecine et la Biotechnologie (Varki et al., 2015). La modification post-traductionnelle qu'est la glycosylation, présente principalement sur les récepteurs membranaires, est essentielle à la vie. Cet attachement de sucres a plusieurs fonctions, dont celle d'être un ligand pour certaines protéines, telles que les lectines (Ohtsubo et al., 2006).

Les lectines sont des protéines de liaison aux glucides trouvées dans les plantes et les animaux qui sont spécifiques des fragments de sucre et ont été initialement définies comme des « protéines de liaison au sucre d'origine non immunitaire qui ont la capacité d'agglutiner les cellules et de précipiter les glycoconjugués » (Suthahar et al., 2018). Elles représentent un groupe de protéines ayant une forte affinité de liaison réversible avec les glycoconjugués, c'est-à-dire, des molécules constituées d'un groupement glucidique associé de manière covalente à un groupement non glucidique (Mason et al., 2015).

Les galectines ou Gals, anciennement connues sous le nom de «lectines de type S» sont une sous-famille de protéines solubles qui se lient généralement aux glucides contenant les β -galactosides avec une spécificité élevée. Elles sont présentes dans de nombreuses formes de vie, des nématodes et champignons aux animaux, où elles remplissent un large éventail de fonctions. En particulier chez l'homme, différents types de Gals ont été décrits, qui se distinguent, non seulement, par l'expression tissulaire, mais également, par la localisation cellulaire, l'oligomérisation, l'architecture de pli et l'affinité de liaison aux glucides. Ses distributions et attributs physico-chimiques distincts, mais, parfois chevauchants, les rendent responsables d'une grande variété de fonctions intra- et extracellulaires, y compris, une importance énorme dans l'immunité et la maladie (Modenutti et al., 2019).

La galectine-4 (Gal-4) l'une des 16 membres de la famille de Gal humaine, caractérisée par sa participation à une myriade de phénomènes biologiques, avec des implications importantes dans l'immunité (Allo et al., 2018). Récemment, de nombreuses études ont été réalisées dans le but de clarifier l'interaction entre la Gal-4 et la régulation physiologique, l'inflammation intestinale et le cancer (Delacour et al., 2005).

Le rapport présenté ici a pour objectif de faire une synthèse bibliographique sur l'état des lieux et les perspectives des données sur Gal-4. Nous allons aborder sa structure, ses fonctions et notamment son rôle de gène suppresseur de tumeurs, ainsi que son utilisation potentielle comme un marqueur de diagnostic ou agent thérapeutique dans la lutte contre le cancer.

Chapitre I

Famille des galectines

I.1. Historique

La découverte des Gals remonte aux années 70, chez *Electrophorus electricus*. Une protéine ayant une affinité pour les β -galactosides a été retrouvée dans l'organe électrique. Par conséquent, a été nommée électrolectine (Leffler, 2018).

Les Gals ont été décrites à l'origine comme étant impliquées précocement dans le développement. À partir des années 1980, leur rôle dans la progression tumorale a été étudié, puis, 10 ans plus tard, leur contribution dans la réponse immunitaire a été documentée. Aujourd'hui, on leur reconnaît de multiples fonctions dans l'apoptose, l'adhérence, la migration, la polarité cellulaire et le trafic intracellulaire, sans qu'un mécanisme d'action unique et simple ne puisse être dégagé (Advedissian et al., 2015). Elles jouent un rôle important dans le maintien de l'homéostasie cellulaire (Hong et al., 2021).

De plus, les Gals sont d'anciennes protéines évolutives trouvées chez les vertébrés et les invertébrés et sont situées dans le cytoplasme ou le milieu extracellulaire. Elles constituent une famille de protéines de liaison aux glycanes conservées au cours de l'évolution (lectines) largement exprimées dans les tissus stromales et immunitaires (Giovannone et al., 2018), spécifiquement aux sucres bêta-galactosides (Maruszewska-Cheruiyot et al., 2021).

I.2. Structure

Les Gals appartiennent à la famille des lectines, un groupe de protéines globulaires hydrosolubles et non glycosylées qui peuvent interagir avec les glucides d'une manière indépendante des cations divalents. Deux propriétés caractéristiques les distinguent des autres lectines animales : affinité pour les dérivés β -galactosides et séquences consensus d'acides aminés (Suthahar et al., 2018). Elles se lient aux β -galactosides qui contiennent au moins un domaine de reconnaissance des glucides (CRD) (Hong et al., 2021). De plus, elles ne contiennent pas de peptides signal, mais peuvent être détectées dans l'espace extracellulaire (Hong et al., 2021).

Le CRD de chaque Gal se compose d'environ 130 à 135 résidus d'acides aminés et est arrangé en une structure globulaire en sandwich β formée de deux feuillets antiparallèles. Six brins (S1-S6) forment la feuille S concave avec le site de liaison aux glucides tandis que cinq autres brins (F1-F5) forment le site convexe de la feuille F (Chan et al., 2018 ; Sindrewicz et al., 2019). Dans toutes les Gals, le site de liaison aux glucides (CBS) est situé dans une rainure du

côté feuille S du sandwich (Modenutti et al., 2019). D'un point de vue général, la liaison des glucides implique au moins deux interactions majeures : hydrophile, via un vaste réseau complémentaire de liaisons hydrogène, et hydrophobe, via des interactions CH- π entre les chaînes latérales de sucre et d'acides aminés aromatiques dans le CRD (Fig. 1) (Modenutti et al., 2019).

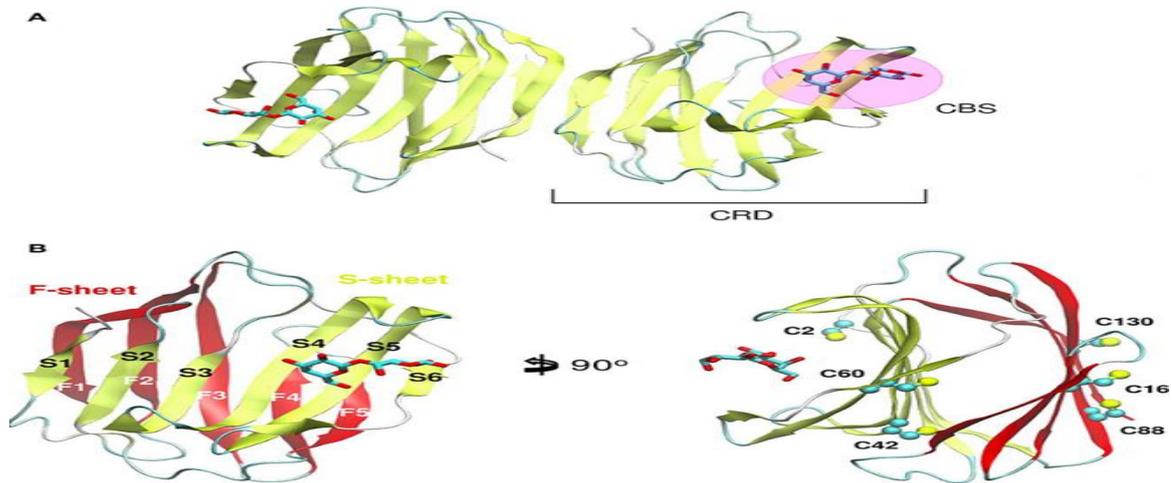


Fig. 1. Structure de Gal. (A) forme dimère, (B) Détail du monomère différenciant la (feuille S) brins (S1-S6) en jaune, et la (feuille F) (brins F1-F5) en rouge. Toutes les chaînes latérales de la cystéine dessinées comme des boules et des bâtonnets (Modenutti et al., 2019).

I.3. Classification

La classification des 16 membres des Gals est basée sur leurs propriétés structurales (Fig. 2). La première classe, les Gals prototypes, se compose des Gals 1, 2, 5, 7, 10, 11, 13, 14, 15 (Sciacchitano et al., 2018). La caractéristique principale de cette sous-famille est la présence d'un seul CRD par Gal. Pour la plupart, ces monomères peuvent se dimériser en solution de façon non-covalente, ce qui implique l'exposition de deux sites de reconnaissance au ligand (Chan et al., 2018). Cette attraction entre deux Gals prototypes est dynamique. L'attachement de deux ligands distincts est alors possible pour cette protéine dimérique adossée du côté opposé au CRD. Concrètement, cela permet notamment de stabiliser la dimérisation d'un récepteur membranaire glycosylé à la surface des cellules (Modenutti et al., 2019).

La deuxième sous-famille ne se compose que d'un seul membre, la Gal-3. En plus de posséder un domaine contenant le CRD. Cette Gal de type chimérique possède une extension du côté N-terminal riche en proline et en glycine, ce qui lui permet de former des treillis moléculaires (Hong et al., 2021). Elle peut s'auto-oligomériser en un pentamère ou d'autres

formes pour former un réseau adhésif lors du pontage des glucides à la surface cellulaire par le biais d'interactions multivalentes (Chan et al., 2018). Enfin, la troisième sous-famille de type tandem comprend les Gals 4, 6, 8, 9 et 12. Leur structure particulière se définit par un lien peptidique qui relie de façon covalente deux domaines homologues contenant chacun un CRD. La séquence, ainsi que la longueur de ce peptide de liaison sont propres à chaque Gal de cette classe, ce qui rend la proximité et l'orientation de chaque CRD spécifique à chacune (Modenutti et al., 2019).

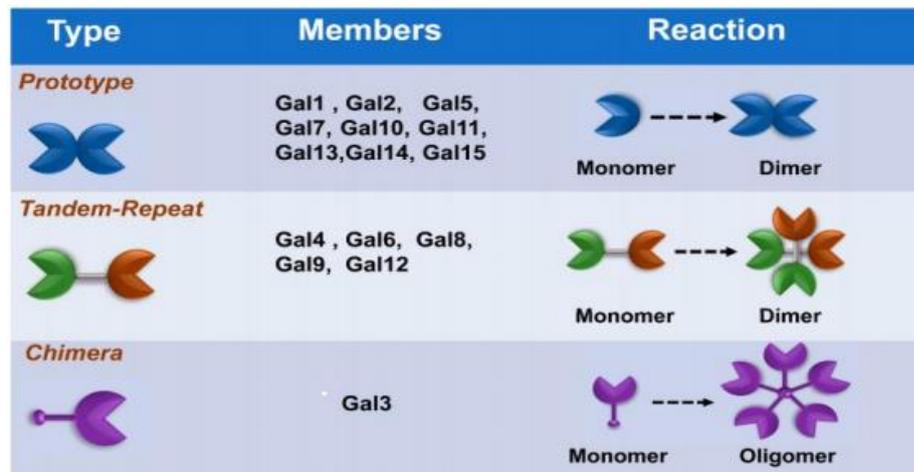


Fig. 2. Classification des Gals. Selon le nombre et la disposition des domaines de reconnaissance des glucides (CRD), les membres de la famille des Gals sont classés en trois types principaux : prototype, type chimère et type à répétition en tandem. Certaines Gals peuvent s'auto-associer en dimères ou oligomères (Lin et al., 2021).

I.4. Expression tissulaire et cellulaire

Les Gals sont des protéines solubles synthétisées sur des ribosomes libres dans le cytosol. Même si elles n'ont pas les caractéristiques classiques des protéines sécrétées, elles sont rapidement transloquées vers l'espace extracellulaire par une voie encore inconnue (Stegmayr et al., 2019 ; Sciacchitano et al., 2018). Elles sont exprimées dans la plupart des tissus, bien que le répertoire des galantines (galectinome) varie considérablement d'un tissu à l'autre (Tableau 1). Par exemple, Gal-1 est libérée à partir de tissus adipeux, de cellules stromales dans le thymus, de ganglions lymphatiques, de cellules endothéliales, de cellules placentaires et les fibroblastes (Machado et al., 2013 ; Brinchmann et al., 2018).

Quant à la Gal-2, elle se retrouve principalement dans le cytosol et le noyau des cellules épithéliales. Cette lectine est très fortement exprimée dans la muqueuse de la vésicule biliaire,

les cellules pariétales de l'estomac, les cellules folliculaires de la thyroïde et les glandes salivaires. D'autres tissus présentent des niveaux d'expression variés de la Gal-2, ce qui indique un patron ubiquitaire, mais spécifique selon le type cellulaire (Saal et al., 2005).

Gal-3 l'une des Gals les plus étudiées avec Gal-1, peut être détectée dans un large éventail de tissus et de cellules, notamment la peau, le cerveau, le tractus intestinal, le foie et diverses cellules cancéreuses (Gao et al., 2020). Une des Gals les moins étudiées, Gal-4, a été observée dans tous les organes du tractus digestif (Panjwani et al., 2014). Gal-5 est spécifique des érythrocytes. Alors que, Gal-6 se trouve principalement dans le tractus gastro-intestinal (Luis et al., 2020). Gal-7 est principalement présente dans l'épiderme (Brinchmann et al., 2018). Dans le cas de Gal-9, les études ont surtout mis en évidence sa localisation pulmonaire et endométriale (Matsumoto et al., 2013). Les Gals subséquentes, c'est-à-dire de 10 à 15, n'ont été que très peu étudiées et elles ne sont pas toutes retrouvées chez l'humain. De plus, amples études seront nécessaires pour identifier leur localisation tissulaire spécifique (Jeschke et al., 2013).

Tableau 1. Distribution tissulaire des Gals (Than et al., 2015).

Galectines	Tissus
Gal-1	Tissu adipeux, moelle osseuse, système nerveux central, glandes endocrines, endothélium, systèmes reproducteurs mâle et femelle, organes lymphatiques, placenta, système respiratoire, peau, muscle lisse
Gal-2	Sang, moelle osseuse, système digestif, cellules immunitaires, organes lymphatiques, placenta, système urinaire
Gal-3	Tissu adipeux, moelle osseuse, système nerveux central, système digestif, glandes endocrines, endothélium, systèmes reproducteurs mâle et femelle, muscles cardiaques, organes lymphatiques, cellules immunitaires, placenta, système respiratoire, peau, muscle lisse, système urinaire
Gal-4	Système digestif, système reproducteur mâle, peau
Gal-7	Peau, système digestif, système reproducteur femelle, cœur, organes lymphatiques
Gal-8	Moelle osseuse, système digestif, glandes endocrines, système reproducteur mâle et femelle, cellules immunitaires, organes lymphatiques, placenta, système urinaire
Gal-9	Tissu adipeux, moelle osseuse, système digestif, glandes endocrines, organes lymphatiques, placenta, système respiratoire, peau, muscles lisses
Gal-10	Moelle osseuse, cellules immunitaires, organes lymphatiques
Gal-12	Tissu adipeux, moelle osseuse, système reproducteur femelle, cellules immunitaire
Gal-13	Placenta
Gal-14	Placenta
Gal-16	Placenta

I.5. Fonctions

Au cours de la dernière décennie, de nombreuses preuves ont révélé que les Gals sont des molécules multifonctionnelles et sont impliquées dans des activités biologiques divergentes (Sindrewicz et al., 2019). Récemment, les Gals sont apparus comme de nouveaux acteurs dans la modulation des processus physiopathologiques (Modenutti et al., 2019). Elles sont profondément impliquées dans la reconnaissance et l'élimination des agents pathogènes (Lujan et al., 2018). Au cours de l'infection, ce sont les intermédiaires subtils qui déchiffrent les informations contenant du glycane sur les cellules immunitaires et les structures microbiennes de l'hôte, et modulent donc une diversité d'événements de signalisation qui conduisent à la prolifération cellulaire, la survie, la chimiotaxie, le trafic, la sécrétion de cytokines et la communication (Modenutti et al., 2019 ; Hong et al., 2021).

De plus, elles jouent un rôle très important dans un certain nombre de processus pathologiques tels que l'inflammation, la fibrose, l'insuffisance cardiaque, le diabète et le cancer. Par exemple, Gal-3 joue un rôle crucial dans la fibrose cardiaque et le remodelage, qui contribuent au développement et à la progression de l'insuffisance cardiaque galactose, alors que Gal-1 agit comme un agent immunosuppresseur dans la récupération de l'homéostasie des cellules immunitaires dans l'auto-immunité et l'inflammation (Sindrewicz et al., 2019).

La capacité des Gals à réticuler des ligands glycosylés leur permet de former un réseau dynamique. Le réseau de Gals régule de nombreuses fonctions différentes telles que la diffusion, la compartimentation, l'endocytose des glycoprotéines et des glycolipides de la membrane plasmique, la sélection, l'activation et l'arrêt des cellules T, la signalisation des récepteurs kinases et la fonctionnalité des récepteurs membranaires, transporteurs d'acides aminés, cadhérines et intégrines (Sciacchitano et al., 2018).

Malgré que les Gals intracellulaires font la navette entre le cytoplasme et le noyau pour participer à des processus tels que l'épissage des pré-ARNm (Sun et al., 2019), la plupart des Gals agissent comme des récepteurs solubles de reconnaissance des formes de la surface cellulaire, régulant ainsi la communication cellule-cellule au niveau extracellulaire (Modenutti et al., 2019). Donc, les fonctions spécifiques des Gals dépendant à la fois du type cellulaire dans lequel elles sont exprimées et de leur localisation cellulaire ou extracellulaire, leur sécrétion doit être étroitement régulée pour qu'elles fonctionnent correctement (Popa et al., 2018). Pour illustrer

la diversité des fonctions biologiques des Gals, nous détaillons quelques exemples de processus dans lesquels elles interviennent (Fig. 3). Tel que :

Galectines et adhérence cellulaire : La forme extracellulaire de certaines galectines, qui se lie à des glycoconjugués, semble réguler l'organisation de la matrice extracellulaire et des molécules de surface impliquées dans l'adhérence cellulaire (Boscher et al., 2012).

Galectines et épissage des transcrits primaires : Les galectines 1 et 3 se localisent également dans le noyau des cellules. De façon surprenante, ces deux galectines fonctionneraient comme des facteurs d'épissage des pré-ARNm (Haudek et al., 2010).

Galectines et immunité : Les galectines jouent un rôle dans au moins trois processus immunitaires : la reconnaissance des pathogènes, la régulation de la réponse immunitaire adaptative et la résolution de l'inflammation (Chen et al., 2014).

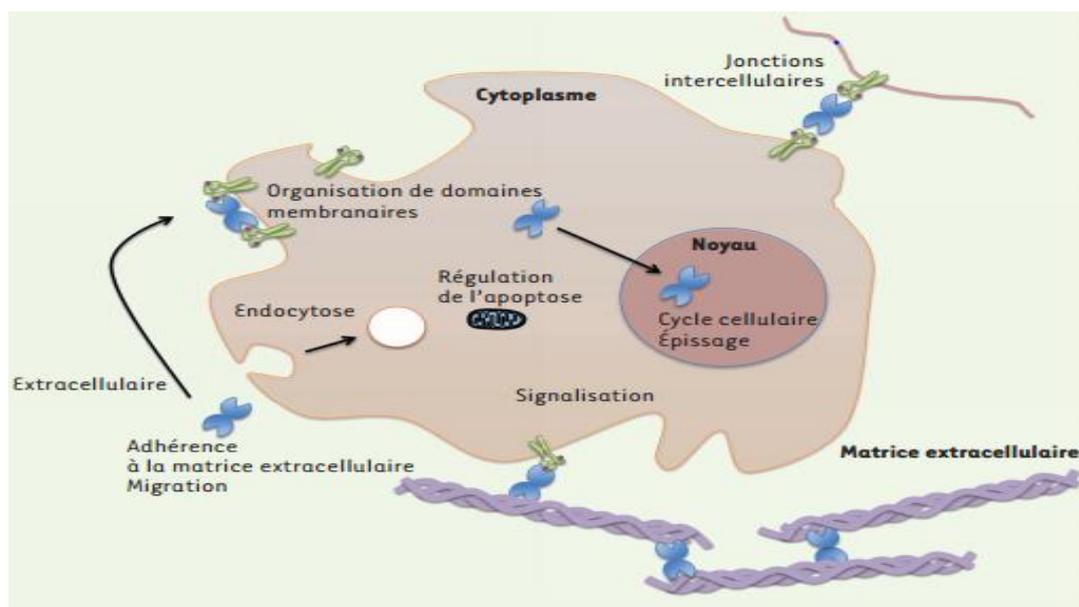


Fig. 3. Différents mécanismes d'action des Gals (Advedissian et al., 2015).

I.6. Rôle dans le cancer

Le cancer est une maladie caractérisée par une prolifération cellulaire anormale et la mort cellulaire (Wang et al., 2018). Les Gals sont des protéines solubles et de faible poids moléculaire qui sont souvent exprimées à des niveaux anormalement élevés dans les cellules cancéreuses et

les cellules du microenvironnement tumoral et elles se rapprochent de la scène centrale dans la détection des aberrations de glycosylation dans les cellules cancéreuses (Labrie et al., 2017).

Les Gals sont distribuées de manière spécifique à la cellule et sont souvent exprimées de manière différentielle dans les cellules tumorales par rapport aux cellules normales (Thijssen et al., 2015). Elles jouent un rôle important dans la tumorigénicité, la survie des cellules tumorales, la formation de nouveaux vaisseaux sanguins et la métastase tumorale. De plus, elles sont impliquées dans l'ajustement du guidage des réactions immunitaires et inflammatoires de la tumeur en dehors de la surveillance immunitaire (Wang et al., 2018). Plusieurs Gals (par exemple (Gal-1, -2, -3, -4, -7, -8)) sont des promoteurs actifs dans le développement et la progression du cancer par interaction avec une gamme de glycanes à terminaison galactose (Sindrewicz et al., 2019). Bien que la plupart des études se soient concentrées sur Gal-1 et Gal-3 en tant que biomarqueurs prédictifs (Grosset et al., 2016) et leur expression a été décrite comme étant altérée dans certaines tumeurs contribuant à la prolifération, à la différenciation et aux métastases des cellules tumorales (Fig.4) (Johannes et al., 2018 ; Aboulhagag et al., 2018).

La régulation aberrante des Gals a été impliquée dans plusieurs types de cancer, notamment, les cancers de la tête et du cou, gastriques, colorectaux, de la vessie, les mélanomes et gynécologiques (Shimada et al., 2020). Toutes les Gals impliquées dans les cancers ont été liées à l'immunosuppression et à l'échappement immunitaire des cellules tumorales (Hisrich et al., 2020).

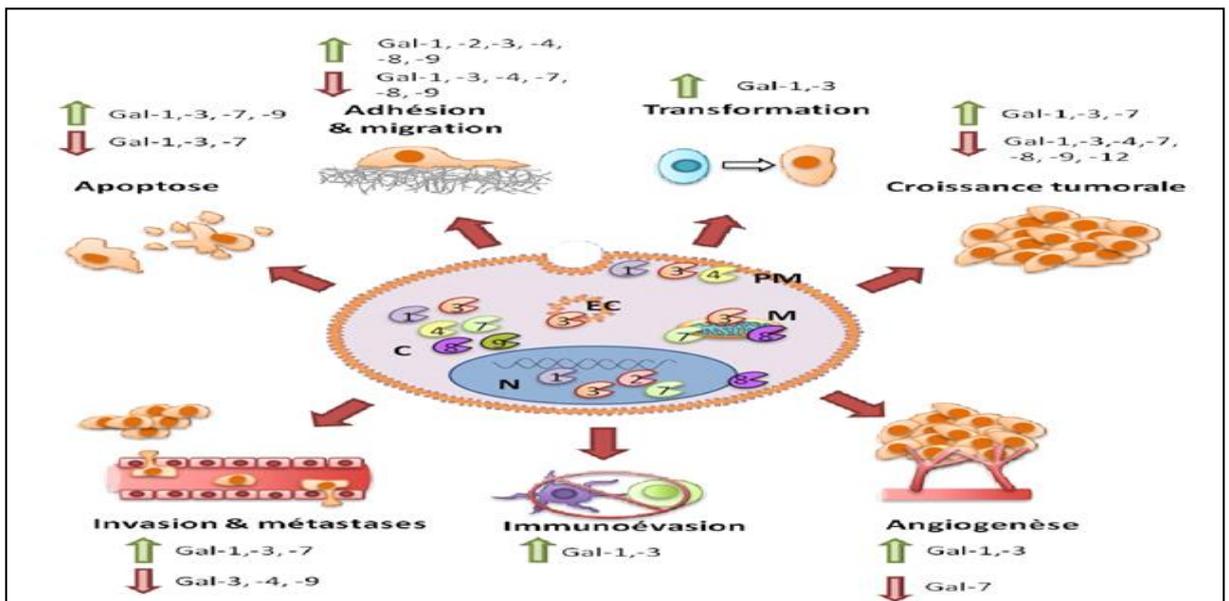


Fig. 4. Fonctions des Gals dans le cancer (Vladoiu et al., 2014).

Chapitre II

Galectine-4

II.1. Introduction

Gal-4 est codée par le gène unique LGALS4 qui est numéroté de manière cohérente avec les protéines. La région LGALS4 humaine se situe en q13.1-13.3 sur le chromosome 19. La séquence codante de Gal-4 est spécifiée par neuf exons et la longueur du transcrite est de 1 kb. Le principal site de démarrage de la transcription de LGALS4 humain a été trouvé à la position -55 nt, qui est à 33 bases en aval d'une boîte TATA presque consensuelle et ses éléments promoteurs en amont contiennent HNF-4, MyoD, c-Rel, HNF-3 β , liaison à l'amplificateur CAAT (C/EBP) et HFH-2. HFH-2, HNF-4 et HNF-3 β sont membres de la famille de facteurs de transcription Hepatocyte Nuclear Factor 3 (HNF-3) /fork (Boum-Erdene et al., 2016).

Le premier venu d'ADNc a été amorcé avec une amorce antisens spécifique en 3'et avec une amorce de sens hétérologue en 5'. Après le clonage et séquençage des produits PCR, l'assemblage séquentiel a donné une séquence d'ARNm de 1110 nucléotides. La séquence d'ADNc de Gal-4 humaine contient un seul cadre de lecture ouvert aux nucléotides 14-982 (Fig. 5) codant pour un acide aminé 323 (Rechreche et al., 1997).

Les rôles physiologiques de Gal-4 ont été passés en revue (Cao et Guo, 2016) et comprennent le trafic des protéines apicales, la cicatrisation des plaies intestinales, la stabilisation des radeaux lipidiques et la lutte contre les agents pathogènes bactériennes (Quintana et al., 2021).

II.2. Structure moléculaire et ligands

Gal-4 est un membre, est du type à répétition en tandem et est définie par deux CRD distincts: CRD1 (N-terminal) (Fig. 6) et CRD2 (C-terminal) (Fig. 7). Ces deux CRD ont une masse moléculaire calculée entre 16-17 kDa. Chacune CRD comprend environ 130 résidus qui partagent 40 % d'identité de séquence, et ils sont reliés par une région de liaison. Cette région de liaison, qui est composée d'environ 30 résidus, est riche en proline et glycine, et est sensible à protéases tissulaires (Rustiguel et al., 2015). On pense que Gal-4 peut être un agent de réticulation naturelle en raison de sa capacité pour réticuler deux types distincts de ligands (Brewer, 2002).

gcacgcctcgagcgg	ATG GCC TAT GTC CCC GCA CCG GGC TAC CAG CCC ACC TAC AAC CCG ACG	61
	Met Ala Tyr Val Pro Ala Pro Gly Tyr Gln Pro Thr Tyr Asn Pro Thr	16
CTG CCT TAC TAC CAG CCC ATC CCG GGC GGG CTC AAC GTG GGA ATG TCT GTT TAC ATC CAA	121	
Leu Pro Tyr Tyr Gln Pro Ile Pro Gly Gly Leu Asn Val Gly Met Ser Val Tyr Ile Gln	36	
GGA GTG GCC ASC GAG CAC ATG AAG CCG TTC TTC GTG AAC TTT GTG GTT GGG CAG GAT CCG	181	
Gly Val Ala Ser Glu His Met Lys Arg Phe Phe Val Asn Phe Val Val Gly Gln Asp Pro	56	
GGC TCA GAC CTC GCC TTC CAC TTC AAT CCG CCG TTT GAC GGC TGG GAC AAG GTG GTC TTC	241	
Gly Ser Asp Val Ala Phe His Phe Asn Pro Arg Phe Asp Gly Trp Asp Lys Val Val Phe	76	
AAC ACG TTG CAG GGC GGG AAG TGG GGC AGC GAG GAG AAG AAG AAG AGC ATG CCC TTC AAA	301	
Asn Thr Leu Gln Gly Gly Lys Trp Gly Ser Glu Glu Arg Lys Arg Ser Met Pro Phe Lys	96	
AAG GGT GCC GCC TTT GAG CTG GTC TTC ATA GTC CTG GCT GAG CAC TAC AAG GTG GTG GTA	361	
Lys Gly Ala Ala Phe Glu Leu Val Phe Ile Val Leu Ala Gln His Tyr Lys Val Val Val	116	
AAT GGA AAT CCC TTC TAT GAG TAC GGG CAC CCG CTT CCC CTA CAG ATG GTC ACC CAC CTC	421	
Asn Gly Asn Pro Phe Tyr Glu Tyr Gly His Arg Leu Pro Leu Gln Met Val Thr His Leu	136	
CAA GTG GAT GGG GAT CTG CAA CTT CAA TCA ATC AAC TTC ATC GGA GGC CAG CCC CTC CCG	481	
Gln Val Asp Gly Asp Leu Gln Leu Gln Ser Ile Asn Phe Ile Gly Gly Gln Pro Leu Arg	156	
CCC CAG GGA CCC CCG ATG ATG CCA CCT TAC CCT GGT CCC GGA CAT TGC CAT CAA CAG CTG	541	
Pro Gln Gly Pro Pro Met Met Pro Pro Tyr Pro Gly Pro Gly His Cys His Gln Gln Leu	176	
AAC AGC CTG CCC ACC ATG GAA GGA CCC CCA ACC TTC AAC CCG CCT GTG CCA TAT TTC GGG	601	
Asn Ser Leu Pro Thr Met Glu Gly Pro Pro Thr Phe Asn Pro Pro Val Pro Tyr Phe Gly	196	
AGG CTG CAA GGA GGG CTC ACA GCT CGA AAG ACC ATC ATC ATC AAG GGC TAT GTG CCT CCC	661	
Arg Leu Gln Gly Gly Leu Thr Ala Arg Arg Thr Ile Ile Ile Lys Gly Tyr Val Pro Pro	216	
ACA GGC AAG AGC TTT GCT ATC AAC TTC AAG GTG GGC TCC TCA GGG GAC ATA GGT CTG CAC	721	
Thr Gly Lys Ser Phe Ala Ile Asn Phe Lys Val Gly Ser Ser Gly Asp Ile Ala Leu His	236	
ATT AAT CCC CCG ATG GGC AAC GGT ACC GTG GTC CCG AAC AGC CTT CTG AAT GGC TCG TGG	781	
Ile Asn Pro Arg Met Gly Asn Gly Thr Val Val Arg Asn Ser Leu Leu Asn Gly Ser Trp	256	
GGA TCC GAG GAG AAG AAG ATC ACC CAC AAC CCA TTT GGT CCC GGA CAG TTC TTT GAT CTG	841	
Gly Ser Glu Glu Lys Lys Ile Thr His Asn Pro Phe Gly Pro Gly Gln Phe Phe Asp Leu	276	
TCC ATT CCG TGT GGC TTG GAT CCG TTC AAG GTT TAC GCC AAT GGC CAG CAC CTC TTT GAC	901	
Ser Ile Arg Cys Gly Leu Asp Arg Phe Lys Val Tyr Ala Asn Gly Gln His Leu Phe Asp	296	
TTT GGC CAT CCG CTC TCG GGC TTC CAG AAG GTG GAC ACA TTG CAA ATC CAG GGT GAT GTC	961	
Phe Ala His Arg Leu Ser Ala Phe Gln Arg Val Asp Thr Leu Glu Ile Gln Gly Asp Val	316	
ACC TTG TCC TAT GTC CAG ATC TAA <u>ctctattctctggggccataactctatggggaaccagaattatcccttag</u>	1032	
Thr Leu Ser Tyr Val Gln Ile End	323	
gaactcttttctaaagccctcaataaataatctgagggctatctcaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa	1110	

Fig. 5. Séquence de Gal-4 ARNm humaine et séquence déduite de la protéine codée. La séquence d'ADNc représente un composé de clone 6C2-cDNA (nucléotides 90-1 110) et celui d'un produit RT-PCR cloné (nucléotides 1-551; voir Matériaux et méthodes).cadre de lecture de 323 acides aminés. La séquence non codante est en minuscules, et le site de polyadénylation AATAAA est souligné (Rechreche et al., 1997).

Deux CRD dans Gal-4 lient à lactose avec une affinité similaire, mais leurs préférences pour d'autres glycosphingolipides, oligosaccharides, et la glycoprotéine sont nettement différentes. CRD2 a également montre une affinité plus élevée envers les glycosphingolipides 3-O-sulfatés que celui de CRD1 (Bum-Erdene et al., 2016). CRD2 humain a montré une affinité de liaison plus élevée envers les saccharides exprimée sur Antigènes de groupe sanguin ABO que celui présenté par CRD1(Vokhmyanina et al., 2012). Des profils de liaison aux oligosaccharides sont montré que le CRD2 dans la Gal-4 de souris avait une affinité et spécificité pour la N-acétylgalactosamine liée en de type A (α -Gal NAc), tandis que le domaine CRD1a montré une affinité plus large par rapport à CRD2 (Cao et Guo, 2016). Un Arg45 en CRD1a été identifié

comme un noyau pour cette reconnaissance de sulfate, tandis qu'aucun des acides aminés du domaine CRD2 n'a été identifié comme interagissant directement avec les groupes sulfate (Ideo et al.,2007).

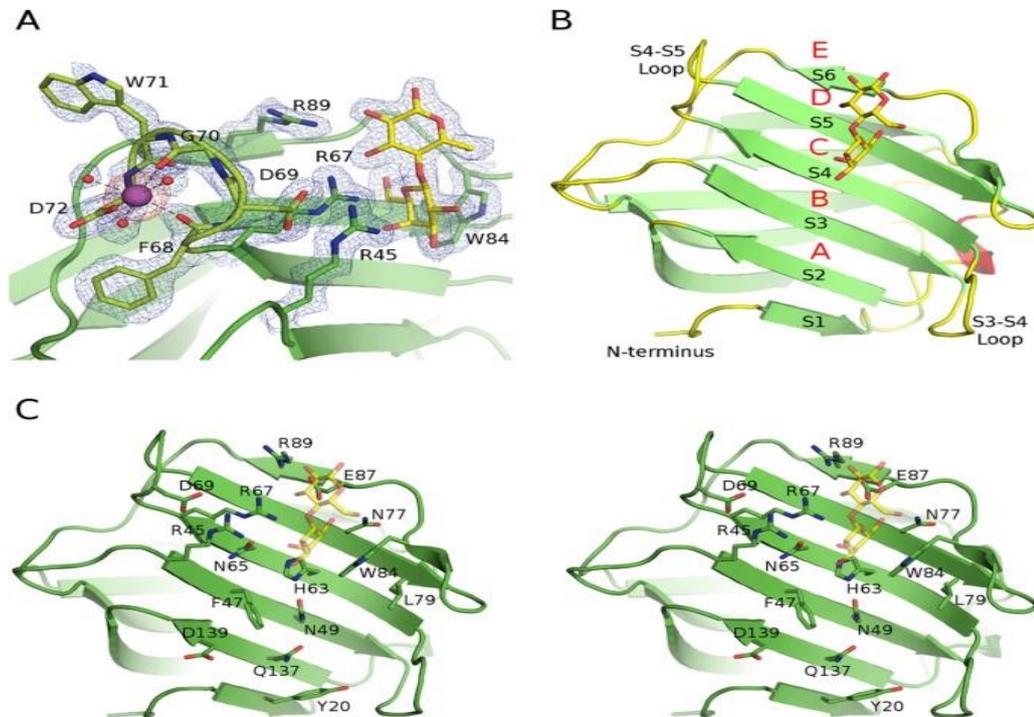


Fig. 6. Structure de Gal-4N. (A) Le recuit simulé omet la carte du site de liaison au calcium (engageant la boucle S4-S5) de Gal-4N CRD avec du lactose lié. Gal-4N CRD affiché sous forme de bande dessinée verte avec des résidus de sites de liaison au calcium et au lactose représentés dans des bâtons verts. L'ion calcium est représenté par une sphère magenta, ses eaux de coordination (sphères rouges) et la molécule de lactose liée (modèle en bâton avec des atomes de carbone en jaune). Le dessin animé de la boucle S4-S5 et les carbones sont surlignés en vert citron. Les lignes pointillées mettent en évidence la coordination du calcium avec son environnement. Le $2|Fo| - La\ carte\ calc\ |Fc|\alpha$ est illustrée par un maillage bleu à un niveau de contour de $1,0\ \sigma$ et le $|Fo| - La\ carte\ calc\ |Fc|\alpha$ est illustrée en maillage rouge à un niveau de contour de $3,0\ \sigma$. La carte d'omission a été créée par Phenix. (B) Gal-4N CRD montré en représentation de bande dessinée (brins β (vert), tour -hélicoïdal (rouge), boucles (jaune)) avec une molécule de lactose liée en représentation de bâton (carbones jaunes, oxygènes rouges). Les brins du côté concave du sandwich et certaines boucles sont étiquetés en noir. Les sous-sites de liaison sont étiquetés en rouge. (C) Image stéréo de Gal-4N CRD avec des chaînes latérales de résidus impliquées dans la reconnaissance des oligosaccharides affichés en représentation de bâton (carbone (vert) oxygène (rouge), azote (bleu)). La molécule de lactose liée en forme de bâton transparent (carbone (jaune), oxygène (rouge)) indique le site de liaison aux glucides conservé (Bum-Erdene et al., 2016).

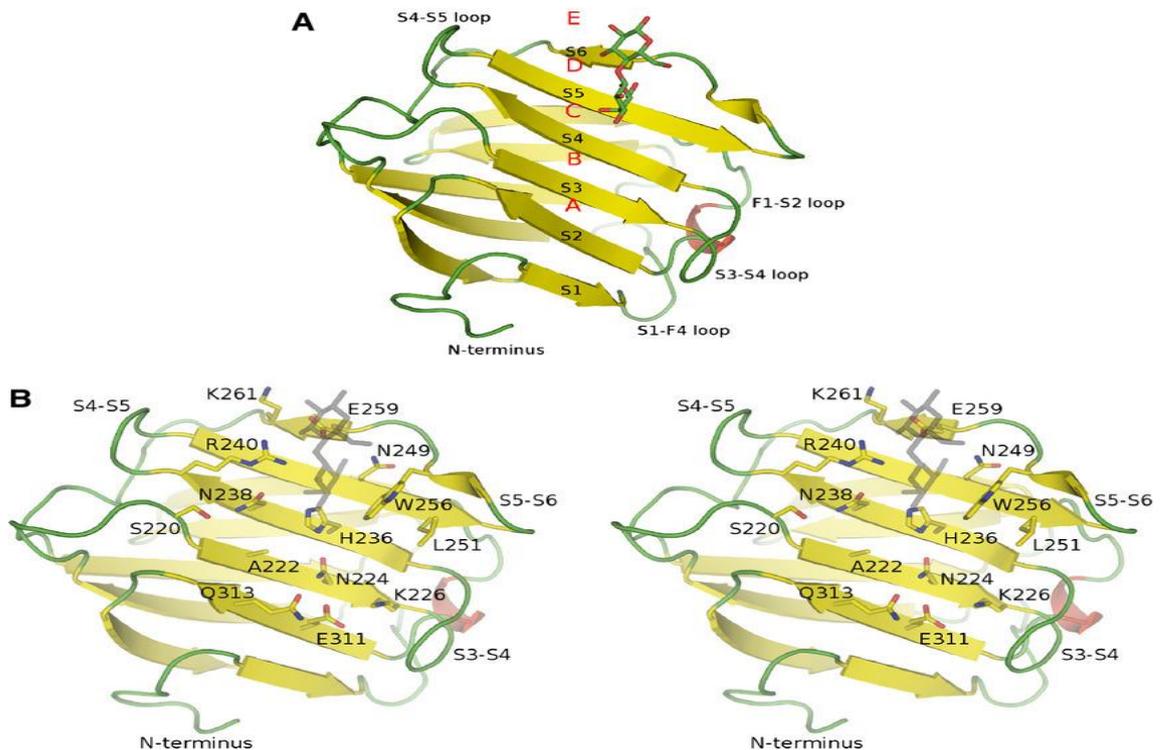


Fig. 7. Structure globale de Gal-4C humaine. (A) Représentation en dessin animé de Gal-4C humaine (jaune, brins, rouge, tour en hélice, vert, boucles) avec une molécule de lactose liée en représentation de bâton (carbones verts et oxygènes rouges). Les sous-sites de liaison A-E sont étiquetés en rouge et les brins de la face concave sont étiquetés en noir. Structure secondaire attribuée via DSSP. (B) Diagramme stéréo de notre structure Gal-4C humaine liée au lactose (Bum-Erdene et al., 2015).

II. 3. Fonctions

II.3.1. Stabilisation des radeaux lipidiques

Les radeaux lipidiques sont caractérisés comme hétérogènes et liquides microdomaines ordonnés dans la membrane de bordure en brosse des entérocytes (Pike, 2005). Les radeaux sont des petites plates-formes riches en sphingolipides et en cholestérol dans la partie feuillet externe exoplasmique de la bicouche lipidique (Simons et Ehehalt, 2002). Elles sont également appelées DRM en raison de leur capacité commune à résister à la solubilisation avec des détergents dans diverses membranes cellulaires.

Comme une Gal divalente, Gal-4 a été identifiée comme un composant majeur de complexes insolubles dans les détergents préparés à partir de l'intestin grêle. En outre, la Gal-4 montre la capacité d'agir comme un agent de réticulation, ainsi indiquant qu'elle pourrait jouer un rôle dans la stabilisation des radeaux lipidiques. Gal-4 facilite la stabilisation des radeaux

lipidiques grâce à la formation des réseaux homogènes avec quelques glycoprotéines et les glycolipides (Cao et Guo, 2016).

Gal-4 externalisée restera au surface cellulaire et presque spécialement localisée à la brosse frontière et cible la feuille exoplasmique externe de la bordure en brosse où elle est spécialement s'associe aux radeaux lipidiques et à d'autres enzymes, principalement aminopeptidase N et sucrase-iso maltase (Danielsen et van Deurs, 1997). Ces enzymes sont fréquemment clivées et libéré dans la lumière intestinale en exposant au pancréas protéinases et lipases. Il a été rapporté que Gal-4 protégeait les enzymes de bordure en brosse de la solubilisation par liaison simultanément aux glycolipides membranaires et aux enzymes, ainsi protégeant éventuellement les enzymes clivées se libérant dans l'intestine lumière (Danielsen et Hansen., 2008).

En général, en présence de Gal-4, les radeaux lipidiques sont capables de regrouper, ce qui signifie que ces protéines et glycolipides sont stabilisés dans des microdomaines stationnaires (Fig. 9B). Ainsi, Gal-4 peut être caractérisée comme un organisateur/stabilisateur dans les radeaux lipidiques microvillaires (Cao et Guo, 2016).

II.3.2. Trafic apical

La surface des entérocytes est divisée en domaines basolatéraux et apicaux avec des compositions et des fonctions distinctes. La surface apicale contient des protéines nécessaires aux fonctions spécifiques des organes. Tandis que, la surface basolatérale exprime l'adhérence des molécules et des récepteurs, ce qui crée une asymétrie structural (Cao et Guo, 2016).

Les glycoprotéines sont triées dans le réseau trans-Golgi (TGN) dans les transporteurs qui les prennent directement du côté apicale dans la présence de Gal-4 (Fig. 8B), tandis que les protéines apicales s'accumulent intracellulairement en l'absence de Gal-4 (Fig. 8A) (Cao et al., 2016). L'administration de Gal-4 au niveau post-Golgi est requise pour le recrutement de glycoprotéines dans les radeaux lipidiques et leur trafic apical. De plus, Gal-4 a également été trouvé dans les vésicules porteuses post-Golgi rencontrer les glycoprotéines apicales nouvellement synthétisées (Bum-Erdene et al., 2016). En raison de l'affinité particulière avec les glycoprotéines, Gal-4 peut servir de tracteur pour tirer dans les vésicules. Dans le processus de trafic apical, un recyclage endocytaire apical de la voie de Gal-4 est nécessaire, c'est-à-dire, la Gal-4 endocytosée dans les cellules pour transporter les glycoprotéines retour à la surface apicale (Cao et Guo, 2016).

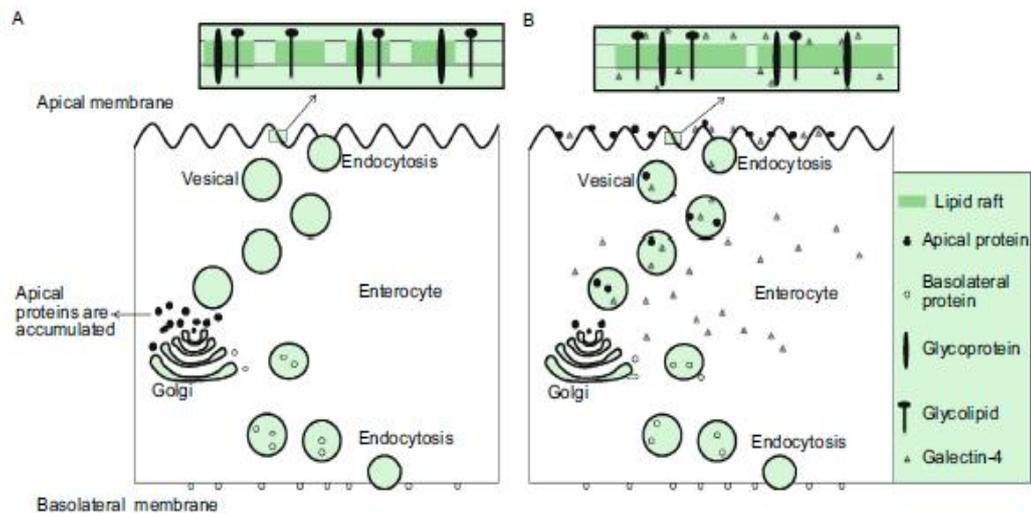


Fig.8. Rôle de Gal-4 dans le trafic apical. (A) En l'absence de Gal-4, les protéines apicales sont accumulées. Les radeaux lipidiques sont petits dans la membrane plasmique, ne contenant qu'un sous-ensemble de glycoprotéines et glycolipides. (B) En présence de Gal-4, les protéines apicales sont acheminées vers la membrane plasmique apicale. Les radeaux lipidiques sont capables de se regrouper sur la base de la réticulation de Gal-4 aux glycoprotéines et aux glycolipides dans les DRM (Cao et Guo, 2016).

II.6.3. Stimulation de la croissance des axones et la myélinisation des neurones

En tant que le canal de sortie du neurone, l'axone est essentiel à la conduction nerveuse et à la transmission rapide de l'influx nerveux. Gal-4 est nécessaire à la croissance des axones dans les neurones (Fig. 9). En effet, il a été prouvé qu'elle favorisait la croissance de l'axone en augmentant le nombre et la taille des grappes de la molécule d'adhésion des cellules neuronales (NCAM) L1 dans la membrane axonale (Cao et Guo, 2016).

NCAM L1, une glycoprotéine axonale exprimée par de nombreux neurones postmitotiques, régule la croissance, la conduction et la ramification des neurites par le biais d'interactions homophiles L1-L1. Gal-4 favorise l'organisation du cluster membranaire L1 en se liant spécialement à la N-acétyllactosamine (LacNAc) aux extrémités des branches des N-glycanes L1, qui agissent comme régulateur du processus de transport axonal des glycoprotéines synaptiques (Velasco et al., 2013).

Par conséquent, Gal-4 est cruciale pour l'organisation et le fonctionnement correct de L1 dans le système nerveux central (SNC). De plus, Gal-4 joue également un rôle important dans la

régulation de la myélinisation des axones, et son expression est régulée à la baisse au début de la myélinisation. La myéline, synthétisée par les oligodendrocytes (OLG) et la membrane riche en lipides qui enveloppe spécialement les axones nerveux, formant ainsi une gaine isolante multilamellaire, qui présente une plasticité et des fonctions cognitives élevées dans le SNC (Stancic et al., 2012).

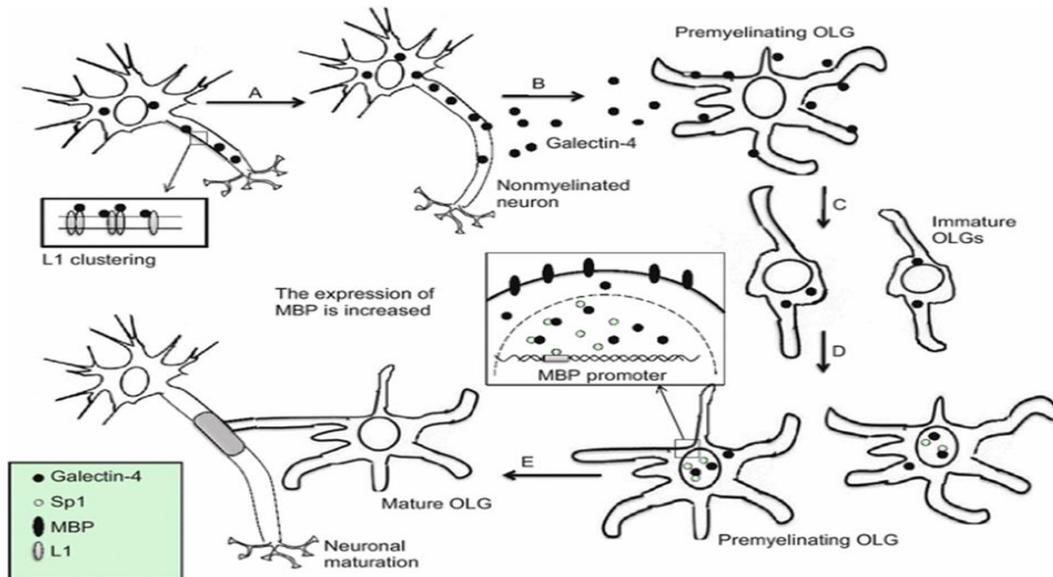


Fig. 9. Stimulation par Gal-4 de la croissance des axones et la myélinisation des neurones. (A) Gal-4 favorise l'excroissance de l'axone en favorisant le regroupement L1. (B) Gal-4 est libérée par les neurones non myélinisés et se lie aux récepteurs de surface cellulaire exprimés par les OLG prémyélinisantes. (C) Gal-4 inhibe la maturation des OLG et favorise la dédifférenciation des OLG ainsi que la prolifération. (D) Les OLG immatures commencent à se différencier. Une fois la Gal-4 liée à la Sp1 glycosylée, la stabilité et la possibilité de localisation nucléaire de Sp1 seraient augmentées, conduisant alors à la régulation positive de l'expression du gène MBP. (E) Les OLG matures forment la gaine de myéline en enveloppant les axones avec leur propre membrane cellulaire en forme de spirale (Cao et Guo, 2016).

Chapitre III

Galectine-4 et cancer

III.1. Fonction de gène suppresseur de tumeurs

Dans le CRC, l'expression de Gal-4 a été considérablement diminuée par rapport aux tissus normaux du côlon et cette condition a favorisé la progression tumorale et la métastase (Rechreche et al., 1997 ; Satelli et al., 2011 ; Kim et al., 2013). L'expression inférieure de Gal-4 dans les cellules CRC pourrait induire une prolifération cellulaire accrue, migration et motilité. Gal-4 s'est avérée inhiber la tumorigenèse des cellules CRC (Satelliet al., 2011 ; Kim et al., 2013).

Un mécanisme similaire dans le cancer du pancréas a été observé par Maftouh et al., (2014), où une diminution des niveaux de β -caténine ont été trouvés dans les cellules cancéreuses du pancréas en présence de Gal-4. De même, dans le cancer hépatocellulaire, le faible niveau d'expression de Gal-4 contribue à l'augmentation des métastases et la progression du cancer (Cai et al., 2014). De plus, la diminution de l'expression de Gal-4 a été observée dans l'iléon métastatique carcinoïdes par rapport aux tumeurs carcinoïdes primitives dans l'iléon, indiquant que la Gal-4 peut agir comme un suppresseur de tumeur dans les carcinoïdes iléaux (Rumilla et al., 2006). A l'inverse, dans le cancer du poumon et de l'estomac, l'expression élevée de Gal-4 s'est avéré être un prédicteur indépendant de métastases et corrélées à de mauvais résultats cliniques (Hippo et al., 2001 ; Hayashi et al., 2013). Pris ensemble, Gal-4 agit comme un suppresseur de tumeur dans le CRC, le cancer du pancréas, le cancer hépatocellulaire et les carcinoïdes iléaux, alors que la Gal-4 fonctionne comme un promoteur de tumeur dans les poumons et cancer de l'estomac (Cao et Guo, 2016).

III.2. Expression et rôle dans les tissus tumoraux

III.2.1. Cancer pulmonaire

Gal-4 est largement détectée dans le cytoplasme, le noyau et les membranes de l'adénocarcinome pulmonaire. Dans cette tumeur, l'expression de Gal-4 est associée à des variables clinicopathologiques de la maladie, y compris la taille de la tumeur, l'état nodal, l'invasion pleurale ou veineuse, tumeur-ganglion-métastase stadification, et peut être de puissance intermédiaire (Chang et al., 2017).

L'analyse western blot (Fig. 10A) a confirmé la surexpression de Gal-4 dans les échantillons métastatiques, l'expression de Gal-4 a été révélée comme l'un des prédicteurs

indépendants des métastases ganglionnaires, avec un motif histologique prédominant et micropapillaire solide. Par ailleurs, Gal-4 est un facteur de survie défavorable chez les patients atteints d'adénocarcinome pulmonaire de type acinaire prédominant. Les tests immunohistochimiques (Fig. 10 B-C) pour l'expression de Gal-4 peuvent être utiles avec la détection d'une histologie spécifique pour prédire le potentiel métastatique de l'adénocarcinome pulmonaire (Hayashi et al., 2013).

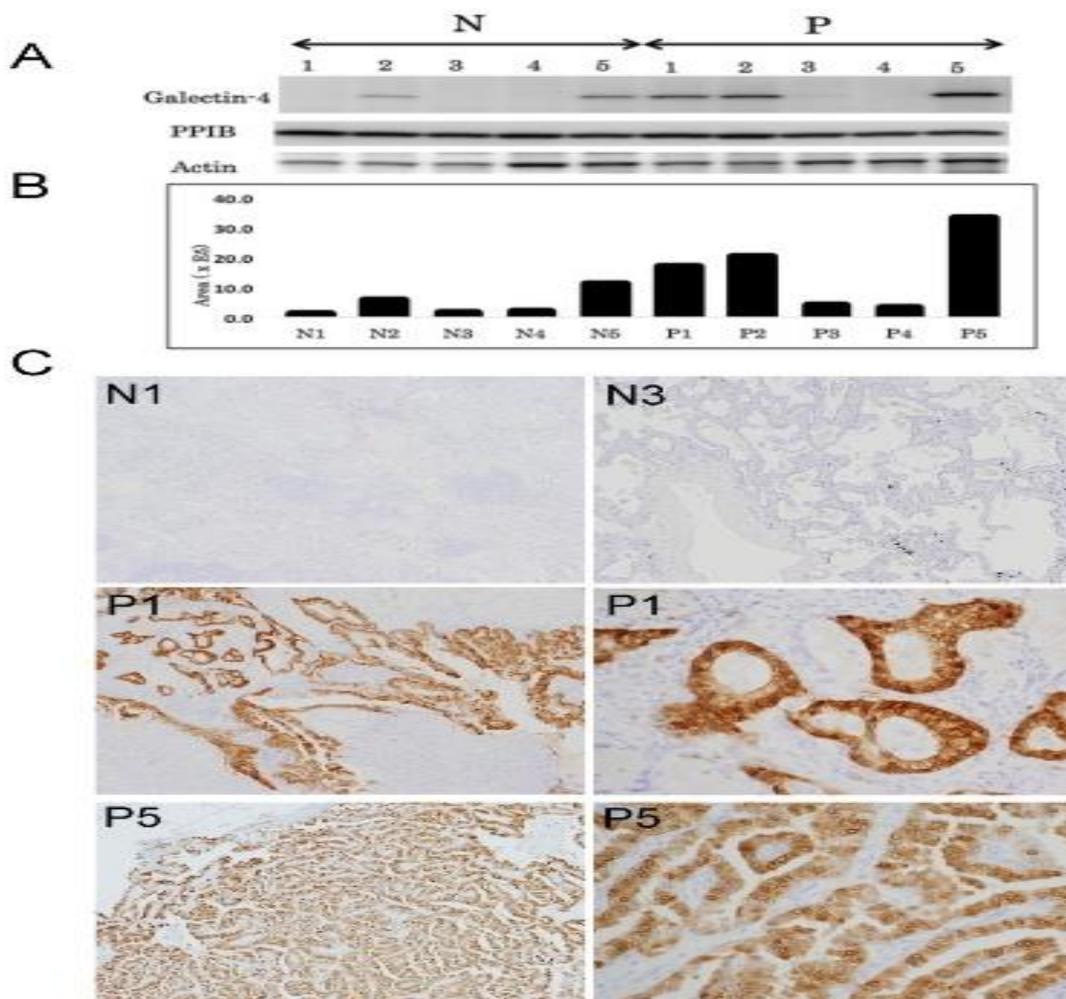


Fig. 10. Validation de l'expression différentielle de la Gal-4. (A) Un résultat représentatif du western blot pour l'expression de Gal-4 et du PPIB. (B) Histogramme montrant les niveaux d'expression relative de Gal-4. (C) Modèles d'expression immunohistochimique de Gal-4 dans le tissu pulmonaire normal et les tissus d'adénocarcinome pulmonaire (Hayashi et al., 2013).

III.2.2. Cancer colorectal

Gal-4 est principalement exprimée dans l'épithélium luminal du tractus gastro-intestinal, et sa perte d'expression joue un rôle clé dans la tumorigénèse colorectale (Rao et al., 2017).

Gal-4 était fortement exprimée dans le revêtement épithélial des cryptes du côlon humain normal, qui était considérablement réduite dans les adénomes et presque absente dans les carcinomes invasifs. Les données présentées dans (Fig. 11) que la perte progressive de Gal-4 de l'épithélium normal au développement d'un carcinome invasif est directement corrélée au paradigme ci-dessus et prédit que la perte de Gal-4 est l'un des facteurs contribuant importants à l'apparition et à la progression du CCR. Le niveau de Gal-4 était diminué dans les tissus du côlon présentant une inflammation chronique et la maladie de Crohn. Étant donné que l'inflammation est une condition prédisposante qui peut conduire à un néoplasie, la perte de Gal-4 peut également jouer un rôle dans l'inflammation. Parce que les épithéliums normaux sont différenciés, Gal-4 a été jusqu'à présent principalement utilisé comme marqueur de la différenciation des cellules épithéliales (Satelli and al., 2011).

Dans les cellules CRC, Gal-4 pourrait réticuler les protéines de la voie de signalisation Wnt (APC, axine et β -caténine), stabilisant ainsi le complexe de destruction, et favorisant la dégradation de β -caténine dans le cytoplasme (Satelli et al., 2011). Par conséquent, la β -caténine ne pouvait pas entrer dans le noyau pour activer les gènes cibles Wnt, ce qui entraîne une régulation négative de cycline D1, p21 et p15, et l'inhibition de la prolifération de la cellule, la migration et la motilité. En outre, Gal-4 a été confirmé à IL-6, qui à son tour simultanément inhibe l'activation du facteur nucléaire-kappa B (NF- κ B) et transducteur de signaux et activateur de transcription 3 (STAT3) au CRC (Kim et al., 2013 ; Lang et al., 2007). La sursuppression de la voie de signalisation IL-6/NF- κ B /STAT3, le taux de facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF), cyclooxygénase- 2 (COX-2), et d'autres gènes impliqués dans la tumorigène serait régulée négativement, inhibant ainsi la progression tumorale. (Cao et Guo, 2016).

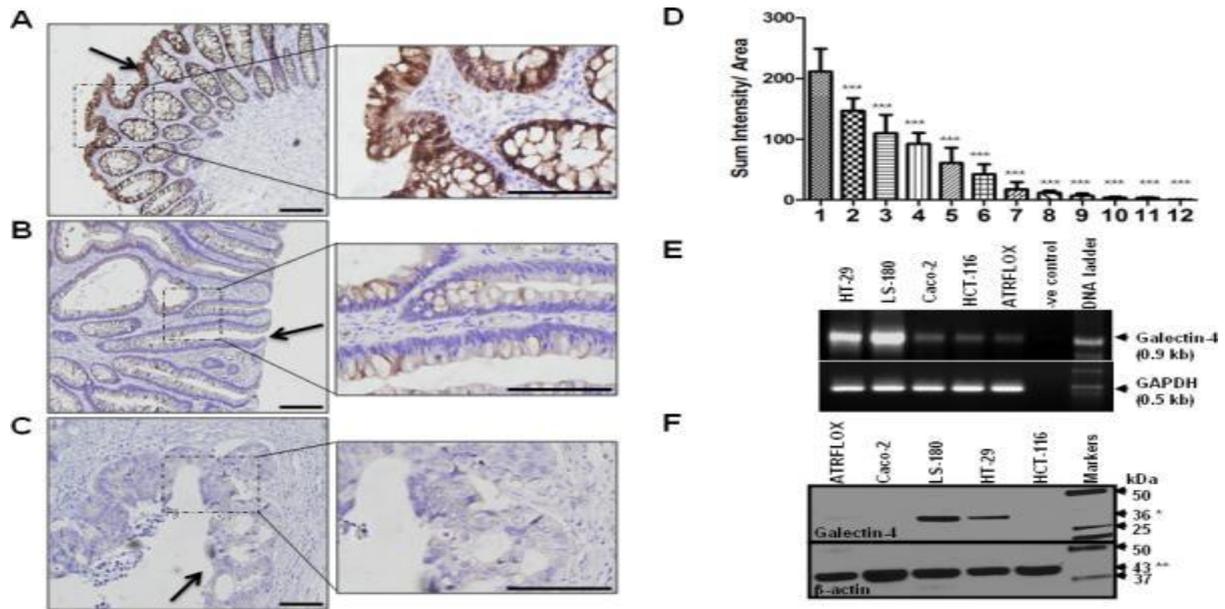


Fig. 11. Immunohistochimie de l'expression de gal-4 dans les coupes de cancer colorectal humain. (A). Tissu normal ; (B). Adénome et (C). Carcinome colorectal invasif. La coloration Gal-4 a été visualisée par DAB (marron). Le grossissement était de 20x (panneau de gauche) et 60x (panneau de droite). La barre d'échelle représente 200 um. Une valeur P de <0,001 (***) a été considérée comme significative. Les flèches indiquent ici le côté luminal du tissu. (RÉ). Quantification de la coloration gal-4 dans des puces à ADN tissulaires du côlon représentant : 1) un tissu normal (n = 82) ; 2) tissu adjacent normal au cancer (n = 20); 3) inflammation chronique du côlon (n = 7); 4) adénome (n = 18); 5) adénome villo tubulaire (n=46); 6) maladie de Crohn (n = 8); 7) adénocarcinome mucineux (n = 38); 8) adénocarcinome (n = 54); 9) adénocarcinome mucineux métastatique (n = 18); 10) carcinome à cellules chevalières (n = 13); 11) adénocarcinome métastatique (n =61); et 12) la muqueuse musculaire (n =24). La coloration Gal-4 DAB a été quantifiée comme décrit sous Matériels et méthodes. Les résultats représentent l'intensité de la somme par unité de surface ; les barres représentent SEM. Les moyennes des groupes ont été comparées à l'aide de l'ANOVA à un facteur avec les tests de comparaison multiple de Bonferroni et des différences significatives ont été trouvées lors de la comparaison des niveaux de gal-4 entre des états pathologiques normaux et divers (***) indique P <0,001). (E). Analyse RT-PCR. Trois des 50 l du mélange réactionnel de transcription inverse obtenu à partir de 5 g d'ARN total isolé de chaque lignée cellulaire ont été utilisés comme matrice dans la PCR. L'ADNc de Gal-4 a été amplifié en utilisant son jeu d'amorces spécifique. La glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase (GAPDH) a été amplifiée en tant que contrôle interne. Des volumes égaux de ces mélanges PCR ont été séparés sur des gels d'agarose à 1 % contenant du bromure d'éthidium. (F). Analyse Western blot (Satelli et al., 2011).

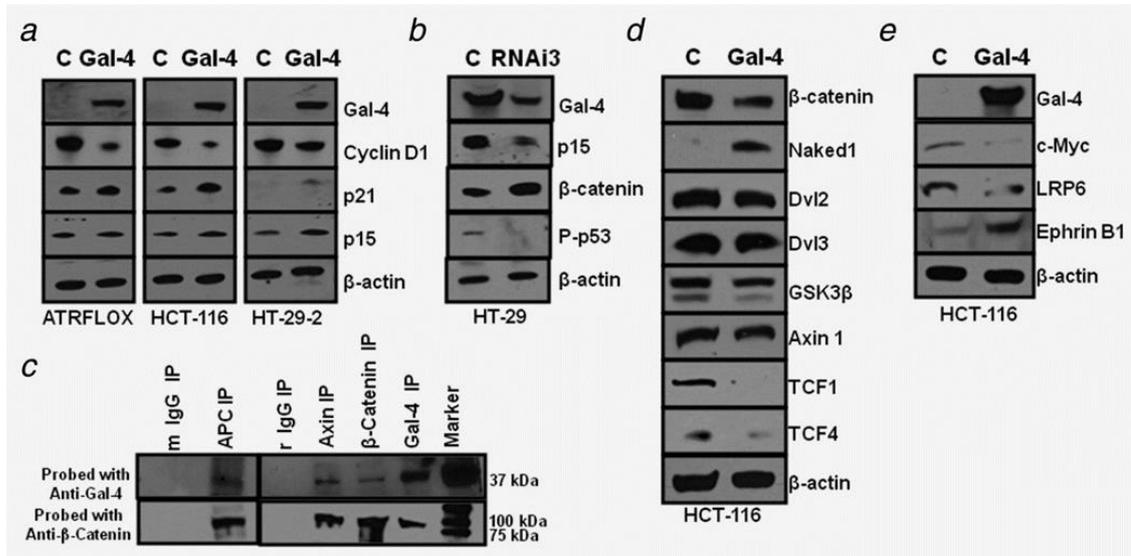


Fig. 12. Profils d'expression de Gal-4. (a) Effet de la transfection transitoire Gal-4 dans les cellules ATRFLOX, HCT-116 et HT-29-2. (b) Effet de la transfection Gal-4 ARNi3 dans des cellules HT-29. (c) Immunoprécipitation de Gal-4 avec des protéines de signalisation Wnt. (d) Effet Gal-4 sur la voie de signalisation Wnt. (e) Effet Gal-4 sur les gènes cibles Wnt (Satelli et al., 2011).

III.2.3. Cancer pancréatique

Gal-4 est l'une des Gals qui montre une expression significativement plus élevée dans les tumeurs kystiques du pancréas humain et dans les adénocarcinomes pancréatiques par rapport au pancréas normal (Belo et al., 2013). Elle est retrouvée dans 80% des cellules tumorales, principalement localisée dans les compartiments cytoplasmique et nucléaire (Manero-Rupérez et al., 2020). De plus, L'expression de Gal-4 est en corrélation avec des niveaux réduits de β -caténane et d'inhibition de la signalisation Wnt, suggérant que l'altération de la migration et de l'invasion induite par Gal-4 est médiée par une régulation négative de la voie Wnt/ β -caténine (Fig. 13). Donc, Ce dernier est un suppresseur de tumeur dans le cancer du pancréas. L'expression de Gal-4 est associée à la taille de la tumeur et à la différenciation histopathologique. Cela a indiqué que l'expression de cette protéine peut être liée à la biologie de tumeur pancréatique (Hu et al., 2019).

Enfin, l'expression de Gal-4 est finement régulée aux premiers stades de la formation tumorale, et cet effet peut dépendre de diverses fonctions de ce dernier. Ce peut être augmenté tôt dans le cancer du pancréas, agissant comme une « adhésive » de surface cellulaire et un

inhibiteur cytosolique des caractéristiques migratoires, permettant une évacuation plus facile du site tumoral en réduisant le contact cellule-cellule et en améliorant les caractéristiques migratoires (Belo et al., 2013).

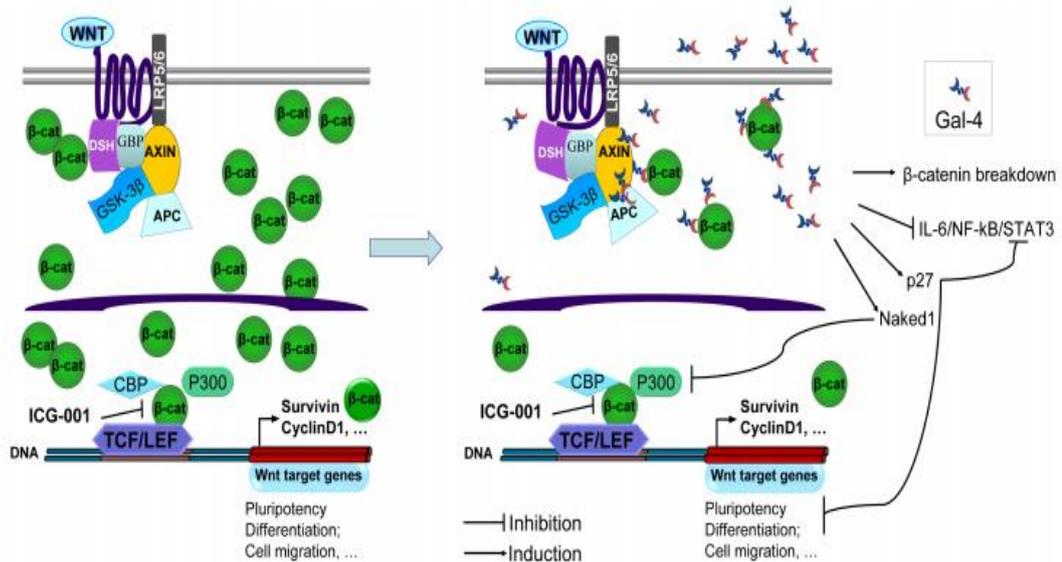


Fig. 13. Modèle des effets Gal-4 sur la signalisation Wnt canonique (Maftouh et al., 2014).

III.3. Système UAS/Gal4 chez la drosophile

Ce système d'étude a été développé en 1993 par Andrea Brand et Norbert Perrimon. Il est devenu un élément essentiel de la boîte à outils du généticien de la drosophile. Largement utilisé pour piloter l'expression des gènes dans une multitude de modèles spécifiques aux cellules et aux tissus, le système a été adapté et étendu pour former la base de nombreux outils modernes pour la manipulation de l'expression des gènes chez la drosophile et d'autres organismes modèles (Legaz et al., 2012 ; Caygill et al., 2016).

Le système GAL4 repose sur deux composants : (1) GAL4, un activateur transcriptionnel de levure, qui est exprimé de manière tissu-spécifique et (2) un transgène sous le contrôle de la séquence d'activation en amont qui est liée par GAL4 (UASG). Les deux composants sont réunis dans un simple croisement génétique (Fig. 14). Dans la descendance du croisement, le transgène n'est transcrit que dans les cellules ou tissus exprimant la protéine GAL4. Des modifications récentes du système GAL4 ont amélioré le contrôle à la fois de l'initiation et de la restriction spatiale de l'expression du transgène (Southall et al., 2008).

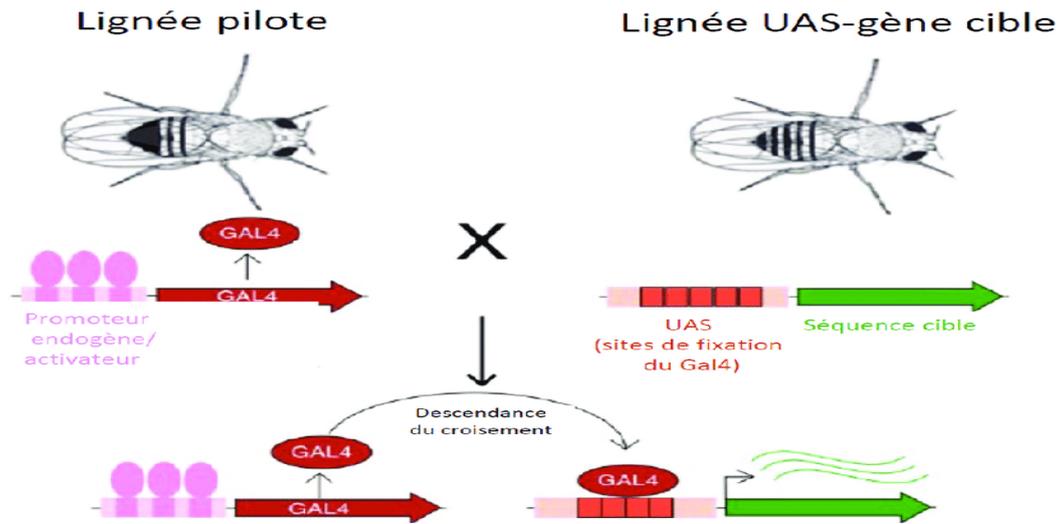


Fig. 14. Présentation du système UAS/Gal4 (Southall et al., 2008).

III.4. Contrôle de l'inflammation intestinale

Gal-4 est sélectivement exprimée et sécrétée par les cellules épithéliales intestinales et se lie puissamment aux péripériques activés et les cellules T de la lamina propria muqueuse à l'épitope CD3. La liaison dépendante des glucides de Gal-4 à l'épitope CD3 est entièrement fonctionnelle et inhibe l'activation, le cycle et l'expansion des lymphocytes T. Gal-4 a induit l'apoptose des péripériques activés et les cellules T de la lamina propria muqueuse via des voies dépendantes de la calpaïne, mais pas de la caspase. En outre, le blocage de Gal-4 par des oligonucléotides antisens a réduit la mort des lymphocytes T induite par un inhibiteur du TNF- α et réduit la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, y compris l'IL-17 par les lymphocytes T (Guota, 2012).

Dans un modèle de colite expérimentale, la Gal-4 a amélioré l'inflammation des muqueuses, induit l'apoptose des lymphocytes T des muqueuses et diminué la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires. Ainsi, la Gal-4 joue un rôle unique dans l'intestin et suggère un nouveau rôle de cette protéine dans le contrôle de l'inflammation intestinale par une induction sélective de l'apoptose des lymphocytes T et une restriction du cycle cellulaire. Enfin, Gal-4 est un nouvel agent anti-inflammatoire qui pourrait être thérapeutiquement efficace dans les maladies avec une expansion et une apoptose perturbées des cellules T telles que la maladie intestinale inflammatoire (Guota, 2012).

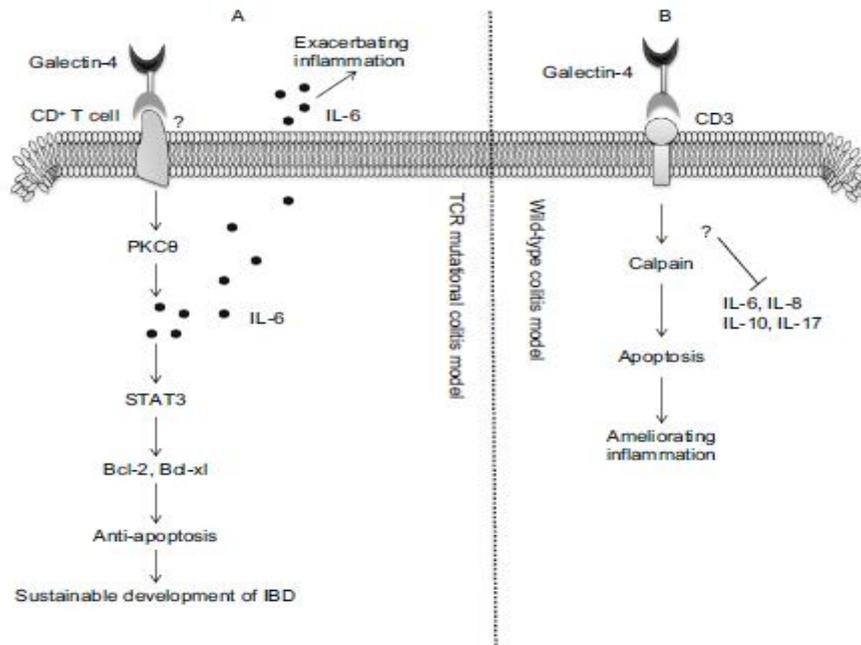


Fig. 15. Les différents mécanismes moléculaires de Gal-4 dans l'exacerbation ou l'amélioration de l'inflammation. (A) (Exacerber inflammation) : En se liant au récepteur (peut-être CAG) exprimé par les cellules T CD4+, la Gal-4 stimule la production d'IL-6 sur le modèle de colite mutationnelle TCR. L'IL-6 pourrait directement exacerber les MICI et inhiber l'apoptose des cellules T CD4+ en activant STAT3 voie, qui mène finalement au développement durable des MII. (B) (Amélioration de l'inflammation) : Gal-4 améliore la MII en induisant l'apoptose des lymphocytes T et en réduisant la sécrétion de cytokines inflammatoires (IL-6, IL-8, IL-10 et IL-17) sur le type sauvage de modèle de colite (Cao et Guo, 2016).

Conclusion

Gal-4 est principalement exprimée dans le tube digestif et est associée à la stabilisation des radeaux lipidiques, au trafic apical des protéines, à la cicatrisation des plaies et à l'inflammation. Elle a été initialement identifiée comme une protéine de jonction adhérente exprimée dans l'épithélium (Xia et al., 2013).

Gal-4 est une protéine avec deux domaines glucidiques qui ont été signalés comme étant altérés dans le cancer du pancréas, le carcinome hépatocellulaire, le cancer colorectal, le carcinome du sein (Hayashi et al., 2013 ; Cai et al., 2014). Le rôle de Gal-4 peut être différent selon le type de cancer. Dans les cellules pancréatiques, il peut diminuer la migration et les métastases, en revanche, dans les cellules cancéreuses colorectales, la faible expression de Gal-4 augmente la migration et la prolifération cellulaire. Elle a également été rapporté que les taux sériques varient dans différents types de cancer tels que le carcinome hépatocellulaire, le cancer du pancréas, le cancer colorectal, le cancer du sein, dans lesquels la concentration a été rapportée à être augmentée par rapport à celle des tissus normaux (Denis et al., 2013).

Jusqu'à présent, bien qu'il y ait un nombre de données publiées concernant l'expression de Gal-4 dans cancer, les informations disponibles restent limitées. Cette protéine a récemment montré un effet suppresseur de tumeur dans différents cancers, bien que la façon dont l'expression de ce gène est régulée reste inconnue (Barrow et al., 2013 ; Cai et al., 2014 ; Quintana et al., 2021).

Références bibliographiques

- Aboulhagag NA, El-Deek HE and Sherif MF. (2018). Expression of galectin-1 and galectin-3 in renal cell carcinoma; immunohistochemical study *Annals of diagnostic pathology*, 36, 31-7.
- Advedissian T, Deshayes F, Poirier F, Grandjean C and Viguier M. (2015). Les galectines-Des lectines pas comme les autres. *médecine/sciences*, 31(5), 499-505.
- Allo VCM, Toscano MA, Pinto, N and Rabinovich GA. (2018). Galectins: Key players at the frontiers of innate and adaptive immunity. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, 30(172), SE97-SE107.
- Barrow H, Rhodes JM and Yu LG. (2013). Simultaneous determination of serum galectin-3 and -4 levels detects metastases in colorectal cancer patients. *Cell Oncol*, 36, 9-13.
- Belo AI, van der Sar AM, Tefsen B and van Die I. (2013). Galectin-4 reduces migration and metastasis formation of pancreatic cancer cells. *PLoS One* 8, e65957.
- Boscher C, Zheng YZ, Lakshminarayan R and al. (2012). Galectin-3 protein regulates mobility of N-cadherin and GM1 ganglioside at cell-cell junctions of mammary carcinoma cells. *J Biol Chem*, 287, 32940-52.
- Brewer FC. (2002). Binding and cross-linking properties of galectins. *Biochim Biophys Acta*, 1572, 255-62.
- Brinchmann MF, Patel DM and Iversen MH. (2018). The Role of Galectins as Modulators of Metabolism and Inflammation. *Mediators Inflamm*.
- Bum-Erdene K, Leffler H, Nilsson UJ and Blanchard H. (2016). Structural characterisation of human Galectin-4 N-terminal carbohydrate recognition domain in complex with glycerol, lactose, 3'-sulfolactose and 2'-fucosyllactose. *Scientific reports*, 6(1), 1-13.
- Bum-Erdene K, Leffler H, Nilsson UJ and Blanchard H. (2015). Structural characterization of human galectin-4 C-terminal domain: elucidating the molecular basis for recognition of glycosphingolipids, sulfated saccharides and blood group antigens. *The FEBS journal*, 282(17), 3348-67.
- Cagnoni AJ, Perez Saez JM, Rabinovich GA and Mariño KV. (2016). Turning-off signaling by siglecs, selectins, and galectins: chemical inhibition of glycan-dependent interactions in cancer. *Frontiers in oncology*, 6, 109.
- Cai Z, Zeng Y, Xu B, Gao Y, Wang S, Zeng J, Chen L, Huang A, Liu XL and Liu JF. (2014). Galectin-4 serves as a prognostic biomarker for the early recurrence/metastasis of hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci*, 105, 1510-17.
- Cao ZQ and Guo XL. (2016). The role of galectin-4 in physiology and diseases. *Protein and cell*, 7(5), 314-4.
- Caygill EE and Brand AH. (2016). The GAL4 system: a versatile system for the manipulation and analysis of gene expression. *Drosophila*, 33-52.
- Chan YC, Lin HY, Tu Z, Kuo YH, Hsu SD and Lin CH. (2018). Dissecting the Structure-Activity Relationship of Galectin-Ligand Interactions. *International journal of molecular sciences*, 19(2), 392.
- Chang WA, Tsai MJ, Kuo PL and Hung JY. (2017). Role of galectins in lung cancer. *Oncology letters*, 14(5), 5077-84.
- Chen HY, Weng IC, Hong MH, Liu FT. (2014). Galectins as bacterial sensors in the host innate response. *Curr. Opin. Microbiol*, 17, 75-8.

- Danielsen EM and Hansen GH. (2008). Lipid raft organization and function in the small intestinal brush border. *Physiol. Biochem*, 64, 377–82.
- Danielsen EM and van Deurs B. (1997). Galectin-4 and small intestinal brush border enzymes form clusters. *Mol Biol Cell*, 8, 2241–51.
- Delacour D, Gouyer V, Zanetta JP, Drobecq H, Leteurtre E, Grard G, ... and Huet G. (2005). Galectin-4 and sulfatides in apical membrane trafficking in enterocyte-like cells. *The Journal of cell biology*, 169 (3), 491-501.
- Denis H, Edouard RG, Marie M, Pierre N and Dominique H. (2013). Expression Patterns Suggest that Despite Considerable Functional Redundancy, Galectin-4 and -6 Play Distinct Roles in Normal and Damaged Mouse Digestive Tract.
- Gao Z, Liu Z, Wang R, Zheng Y, Li H and Yang L. (2020). Galectin-3 Is a Potential Mediator for Atherosclerosis. *J Immunol Res*.
- Giovannone N, Smith LK, Treanor B, and Dimitroff CJ. (2018). Galectin-glycan interactions as regulators of B cell immunity. *Frontiers in immunology*, 9, 2839.
- Grosset AA, Labrie M, Vladioiu MC, Yousef EM, Gaboury L and St-Pierre Y. (2016). Galectin signatures contribute to the heterogeneity of breast cancer and provide new prognostic information and therapeutic targets. *Oncotarget*, 7(14), 18183.
- Gupta GS. (2012). *Animal lectins : form, function and clinical application*. Springer science and Business Media.
- Haudek KC, Spronk KJ, Voss PG and al. (2010). Dynamics of galectin-3 in the nucleus and cytoplasm. *Biochim Biophys Acta*, 1800, 181-9.
- Hayashi T, Saito T, Fujimura T, Hara K, Takamochi K, Mitani K, Mineki R, Kazuno S, Oh S and Ueno T. (2013). Galectin-4, a novel predictor for lymph node metastasis in lung adenocarcinoma.
- Hippo Y, Yashiro M, Ishii M, Taniguchi H, Tsutsumi S, Hirakawa K, Kodama T, Aburatani H et al. (2001). Differential gene expression profiles of scirrhous gastric cancer cells with high metastatic potential to peritoneum or lymph nodes. *Cancer Res*, 61, 889–895.
- Hisrich BV, Young RB, Sansone, AM, Bowens, Z, Green LJ, Lessey BA, and Blenda AV. (2020). Role of human galectins in inflammation and cancers associated with endometriosis. *Biomolecules*, 10(2), 230.
- Hong MH, Weng IC, Li FY, Lin WH and Liu FT. (2021). Intracellular galectins sense cytosolically exposed glycans as danger and mediate cellular responses. *Journal of Biomedical Science*, 28(1), 1-9.
- Hu D, Ansari D, Zhou Q, Sasor A, Said Hilmersson K and Andersson R. (2019). Galectin 4 is a biomarker for early recurrence and death after surgical resection for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 54 (1), 95-100.
- Ideo H, Seko A and Yamashita K. (2007). Recognition mechanism of galectin-4 for cholesterol 3-sulfate. *J Biol Chem* 282, 21081–9.
- Jeschke U, Hutter S, Heublein S, Vrekoussis T, Andergassen U, Unverdorben L, Papadakis G and Makrigiannakis A. (2013). Expression and function of galectins in the endometrium and at the human fetomaternal interface. *Placenta*, 34(10), 863-72.

- Johannes L, Jacob R and Leffler H. (2018). Galectins at a glance. *Journal of cell science*, 131(9).
- Kim SW, Park KC, Jeon S M, Ohn T B, Kim, TI, Kim WH and Cheon JH. (2013). Abrogation of galectin-4 expression promotes tumorigenesis in colorectal cancer. *Cellular Oncology*, 36(2), 169-78.
- Labrie M, De Araujo LOF, Communal L, Mes-Masson AM and St-Pierre Y. (2017). Tissue and plasma levels of galectins in patients with high grade serous ovarian carcinoma as new predictive biomarkers. *Scientific reports*, 7(1), 1-13.
- Lang SA, Moser C, Gaumann A, Klein D, Glockzin G, Popp FC, Dahlke MH, Piso P, Schlitt HJ, Geissler EK et al. (2007). Targeting heat shock protein 90 in pancreatic cancer impairs insulin-like growth factor-I receptor signaling, disrupts an interleukin-6/signal transducer and activator of transcription 3/hypoxia-inducible factor-1 α autocrine loop, and reduces orthotopic tumor growth. *Clin Cancer Res*, 13, 6459–68.
- Leffler H. (2018). Galectin history, some stories, and some outstanding questions. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, 30(172), SE129-SE135.
- Legaz S. (2011). Visualisation par le système GAL4/UAS du transport par des nanoparticules de poly (Acide lactique) chez la Drosophile.
- Lin CY, Yang ZS, Wang WH, Urbina AN, Lin YT, Huang JC and Wang SF. (2021). The Antiviral role of Galectins toward Influenza A Virus infection an alternative strategy for Influenza therapy. *Pharmaceuticals*, 14(5), 490.
- Luis J, Eastlake K, Khaw PT and Limb GA. (2020). Galectins and their involvement in ocular disease and development. *Experimental eye research*, 108120.
- Lujan AL, Croci, DO and Tudela JAG. (2018). Glycosylation-dependent galectin–receptor interactions promote chlamydia trachomatis infection. *Proc. Natl. Acad. Sci.*
- Machado I, Lopez Guerrero JA, Navarro S, Mayordomo E, Scotlandi K, Picci P and Lombart Bosch A. (2013). Galectin-1 (GAL-1) expression is a useful tool to differentiate between small cell osteosarcoma and Ewing sarcoma. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*, 462(6), 665-71.
- Maftouh M, Belo AI, Avan A and al. (2014). Galectin-4 expression is associated with reduced lymph node metastasis and modulation of Wnt/beta-catenin signalling in pancreatic adenocarcinoma. *Oncotarget*, 5, 5335–49.
- Manero-Rupérez N, Martínez-Bosch N, Barranco LE, Visa L and Navarro P. (2020). The galectin family as molecular targets: hopes for defeating pancreatic cancer. *Cells*, 9(3), 689.
- Maruszevska-Cheruiyot M, Stear Mand D and Łysoniewska K. (2021). Galectins-important players of the immune response to CNS parasitic infection. *Brain. Behavior and Immunity-Health*, 100221.
- Mason CP and Tarr AW. (2015). Human lectins and their roles in viral infections. *Molecules*, 20(2), 2229-71.
- Matsumoto N, Katoh S, Yanagi S, Arimura Y, Tokojima M, Ueno M, Hirashima M and Nakazato M. (2013). A possible role of galectin-9 in the pulmonary fibrosis of patients with interstitial pneumonia. *Lung*, 191(2), 191-8.
- Modenutti CP, Capurro JIB, Di Lella S and Martí MA. (2019). The Structural Biology of Galectin-Ligand Recognition: Current Advances in Modeling Tools, Protein Engineering, and Inhibitor Design. *Frontiers in Chemistry*, 7.

- Ohtsubo K and Marth JD. (2006). Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease. *Cell*, 126(5), 855-67.
- Panjwani N. (2014). Role of galectins in re-epithelialization of wounds. *Ann Transl Med*, 2(9), 89.
- Pike LJ. (2005). Growth factor receptors, lipid rafts and caveolae: an evolving story. *Biochim Biophys Acta*, 1746, 260–73.
- Popa SJ, Stewart SE and Moreau K. (2018). Unconventional secretion of annexins and galectins. *Seminars in cell and developmental biology*, 02, 022.
- Quintana JI, Delgado S, Núñez-Franco R, Jiménez-Osés G, Jiménez-Barbero J and Ardá A. (2021). Galectin-4 N-Terminal Domain: Binding Preferences Toward A and B Antigens With Different Peripheral Core Presentations. *Frontiers in chemistry*, 9, 193.
- Rao US and Rao PS. (2017). Surface-bound galectin-4 regulates gene transcription and secretion of chemokines in human colorectal cancer cell lines. *Tumor Biology*, 39(3).
- Rechreche H, Mallo GV, Montalto G, Dagorn JC and Iovanna JL. (1997). Cloning and expression of the mRNA of human galectin-4, an S-type lectin down-regulated in colorectal cancer. *Eur J Biochem*, 248, 225-30.
- Rumilla KM, Erickson LA, Erickson AK, Lloyd RV. (2006). Galectin-4 expression in carcinoid tumors. *Endocr Pathol*, 17, 243–9.
- Rustiguel JK, Kumagai PS, Dias-Baruffi M, Costa-Filho AJ and Nonato MC. (2015). Recombinant expression, purification and preliminary biophysical and structural studies of C-terminal carbohydrate recognition domain from human galectin-4. *Protein Expr Purif*, 118, 39–48.
- Saal I, Nagy N, Lensch M, Lohr M, Manning JC, Decaestecker C, Andre S, Kiss R, Salmon I and Gabius HJ. (2005). Human galectin-2: expression profiling by RTPCR/immunohistochemistry and its introduction as a histochemical tool for ligand localization. *Histology and histopathology* 20 (4), 1191-208.
- Satelli A, Rao P, Thirumala S and Rao US. (2011). Galectin-4 functions as a tumor suppressor of human colorectal cancer. *International journal of cancer*, 129(4), 799-809.
- Sciacchitano S, Lavra L, Morgante A, Ulivieri A, Magi F, De Francesco GP ...and Ricci A. (2018). Galectin-3: one molecule for an alphabet of diseases, from A to Z. *International journal of molecular sciences*, 19(2), 379.
- Shimada C, Xu R, Al-Alem L, Stasenko M, Spriggs D R and Rueda B R. (2020). Galectins and ovarian cancer. *Cancers*, 12(6), 1421.
- Simons K and Ehehalt R. (2002). Cholesterol, lipid rafts, and disease. *J Clin Investig*, 110, 597–603.
- Sindrewicz P, Li X, Yates, E A, Turnbull JE, Lian LY and Yu LG. (2019). Intrinsic tryptophan fluorescence spectroscopy reliably determines galectin-ligand interactions. *Scientific reports*, 9(1), 1-12.
- Southall TD, Elliott DA and Brand AH. (2008). The GAL4 system: a versatile toolkit for gene expression in *Drosophila*. *Cold Spring Harbor Protocols*, (7).
- Stancic M, Slijepcevic D, Nomden A, Vos MJ, De Jonge JC, Sikkema AH, Gabius HJ, Hoekstra D, Baron W. (2012). Galectin-4, a novel neuronal regulator of myelination. *Glia*, 60, 919–35.

- Stegmayr J, Zetterberg F, Carlsson MC, Huang X, Sharma G, Kahl-Knutson B, ... and Leffler H. (2019). Extracellular and intracellular small-molecule galectin-3 inhibitors. *Scientific reports*, 9(1), 1-12.
- Sun Q, Zhang Y, Liu M, Ye Z, Yu X, Xu X and Qin Y. (2019). Prognostic and diagnostic significance of galectins in pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis. *Cancer cell international*, 19(1), 1-14.
- Suthahar N, Meijers WC, Silljé HH, Ho JE, Liu FT and de Boer RA. (2018). Galectin-3 activation and inhibition in heart failure and cardiovascular disease: an update. *Theranostics*, 8(3), 593.
- Than NG, Romero R, Balogh A, Karpati E, Mastrolia SA, Staretz-Chacham O ... and Kim CJ. (2015). Galectins: Double-edged swords in the cross-roads of pregnancy complications and female reproductive tract inflammation and neoplasia. *Journal of pathology and translational medicine*, 49(3), 181.
- Varki A, Cummings RD, Aebi M, Packer NH, Seeberger PH, Esko JD and Prestegard JJ. (2015). Symbol nomenclature for graphical representations of glycans. *Glycobiology*, 25(12), 1323-24.
- Velasco S, Díez-Revuelta N, Hernández-Iglesias T, Kaltner H, André S, Gabius HJ and Abad-Rodríguez J. (2013). Neuronal Galectin-4 is required for axon growth and for the organization of axonal membrane L1 delivery and clustering. *J Neurochem*, 12, 49–62.
- Vokhmyanina OA, Rapoport EM, André S, Severov VV, Ryzhov I, Pazynina GV, Korchagina E, Gabius HJ and Bovin NV. (2012). Comparative study of the glycan specificities of cell-bound human tandemrepeat-type galectin-4, -8 and -9. *Glycobiology*, 22, 1207-17.
- Vladoiu MC, Labrie M and St-Pierre Y. (2014). Intracellular galectins in cancer cells: potential new targets for therapy. *International Journal of Oncology*, 44(4), 1001-14.
- Wang L, Zhao Y, Wang Y and Wu X. (2018). The role of galectins in cervical cancer biology and progression. *BioMed research international*.
- Xia L, Huang W, Tian D, Zhu H, Qi X, Chen Z and Wu K. (2013). Overexpression of forkhead box C1 promotes tumor metastasis and indicates poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 57(2), 610-24.