

exemple après ligature du canal pancréatique ou dans certains modèles d'hyperglycémie.

Enfin, l'extrapolation des données expérimentales à l'homme est hasardeuse: si la capacité proliférative des cellules β de rongeur n'est pas remise en doute, il existe en revanche des données assez convaincantes indiquant que les cellules β humaines ne prolifèrent pas. Si ces données n'ont pas été sous-estimées,

alors il est difficile d'imaginer qu'il n'existerait pas de cellules souches dans le pancréas humain adulte.

En conclusion, ce travail a une double portée: (1) scientifique, montrant que, chez le rongeur, l'homéostasie de la masse de cellules β peut s'expliquer par la prolifération des cellules β préexistantes; (2) politique, proposant que le pancréas adulte ne contienne plus de cellules souches et qu'une future théra-

pie cellulaire du diabète ne pourra passer que par l'utilisation de cellules souches embryonnaires humaines. ♦

Do pancreatic stem cells exist ?

RÉFÉRENCE

1. Dor Y, Brown J, Martinez OI, Melton DA. Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. *Nature* 2004; 429: 41-6.

NOUVELLE

Les gènes ATG et la macro-autophagie

Patrice Codogno

Inserm U.504, Glycobiologie et signalisation cellulaire, Institut André Lwoff, 16, avenue Paul-Vaillant-Couturier, 94807 Villejuif, France.
codogno@vjf.inserm.fr

conjugaison, similaires à l'ubiquitinylation et la sumoylation des protéines [5] (Figure 1). Le premier conjugué, formé des protéines Atg5-Atg12, permet le recrutement du deuxième qui résulte de la conjugaison en carboxyterminal de la protéine Atg8 (MAP-LC3 chez les mammifères) par la phosphatidyléthanolamine (PE). Le complexe Atg5-Atg12 est recyclé vers le cytosol avant la formation complète de l'autophagosome. La protéine Atg4 hydrolyse la liaison entre Atg8 et la PE. En conséquence de cette hydrolyse, seule une fraction du complexe Atg8-PE reste associée à la membrane interne de l'autophagosome constituant un marqueur spécifique de cet organite. La protéine Atg6 qui interagit avec la phosphatidylinositol 3-phosphate kinase (PI3K) de type III sur la membrane du réseau *trans*-golgien (Figure 1) est nécessaire à la formation de l'autophagosome, de même que le phosphatidylinositol 3-phosphate (PtdIns3P), produit de l'activité de la PI3K de type III [6]. Les rôles intimes d'Atg6 et du PtdIns3P dans la formation de l'autophagosome restent encore à élucider.

> Le terme autophagie englobe un ensemble de mécanismes cataboliques aboutissant à la dégradation de constituants cellulaires par le lysosome [1]. La découverte de la macro-autophagie, une des formes majeures de l'autophagie, est contemporaine de celle du lysosome par Christian de Duve [2]. La macro-autophagie, active à un niveau basal dans la plupart des cellules (prise en charge du renouvellement des protéines à durée de vie longue et de certains organites comme la mitochondrie), est stimulée en situation de stress; ce processus représente un mécanisme de survie cellulaire et d'adaptation, par le recyclage - notamment des acides aminés - et l'élimination des macromolécules et des structures cellulaires altérées [3].

La découverte des gènes ATG (*autophagy related genes*), au milieu des années 1990, chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* (pour revue, voir [4]) a été importante non seulement pour la dissection en termes moléculaires de la macro-autophagie mais aussi pour comprendre

son importance en physiologie et physiopathologie [3]. Sur le plan cellulaire, la macro-autophagie débute par la formation d'une vacuole, l'autophagosome, qui séquestre de façon non sélective les constituants du cytoplasme. L'autophagosome est délimité par plusieurs feuilletts lipidiques (en général quatre) dont l'origine est encore mal connue. Plusieurs compartiments cellulaires (réticulum endoplasmique, appareil de Golgi et réseau *trans*-golgien) et la membrane plasmique concourent probablement à la formation de l'autophagosome. Une quinzaine de protéines Atg, pour la plupart conservées de la levure à l'homme, sont nécessaires à sa biogenèse. À l'exception d'Atg9, ces protéines ne possèdent pas de domaine transmembranaire. Les protéines Atg, recrutées dans le cytoplasme, s'associent de façon transitoire avec la membrane pré-autophagosomale et à celle de l'autophagosome.

La formation de l'autophagosome repose essentiellement sur deux systèmes de

La recherche de nouveaux partenaires de la protéine antiapoptotique bcl-2, par le criblage d'une banque d'ADNc de cerveau de souris, a conduit à l'identification de la bécline 1 (en anglais, *beclin*: *becl* du fait de son interaction avec bcl-2, le suffixe *in* en raison de la structure *coiled-coil* de la protéine) [7]. Cette protéine est, chez les organismes pluricellulaires, l'orthologue de la protéine Atg6 de levure [8].

Le gène *beclin 1* est localisé sur le chromosome 17 (17q21) proche du locus du gène *BRCA1*, gène de susceptibilité aux cancers du sein et de l'ovaire [9]. Des délétions mono-alléliques du gène *beclin 1* sont observées dans 40% à 70% des cancers spontanés du sein et de l'ovaire. Sa réintroduction dans des lignées cellulaires de

carcinome mammaire réduit leur prolifération et leur pouvoir tumorigène *ex vivo* et *in vivo* après transplantation chez la souris athymique [8]. Son invalidation arrête précocement le développement embryonnaire chez la souris [10, 11]. En revanche, les souris *beclin 1*^{+/-}, qui sont viables, développent plus fréquemment des tumeurs spontanées et induites dans de nombreux organes. De ces études, il ressort que *beclin 1* est un gène suppresseur de tumeur et agit par un mécanisme d'haplo-insuffisance. Enfin, il a été montré que l'invalidation, par des ARN interférents, de l'expression de la bécline 1 diminuait la longévité de *Caenorhabditis elegans* [12]. L'invalidation d'autres produits des gènes *ATG* a un effet identique

sur la longévité de ce nématode. La fonction d'élimination des macromolécules et organites endommagés, probablement par peroxydation, pourrait expliquer l'effet positif de la macro-autophagie sur la longévité [13, 14].

Un paradoxe de la macro-autophagie tient au fait que ce mécanisme d'adaptation et de survie est aussi associé à la mort cellulaire. Sur des bases morphologiques, la mort autophagique ou mort cellulaire programmée de type II a été distinguée, depuis de nombreuses années, de la mort apoptotique ou mort cellulaire programmée de type I au cours du développement des organismes pluricellulaires [15]. La découverte des gènes *ATG* fournit maintenant un support moléculaire au rôle de la macro-autophagie au cours du développement (études réalisées chez *C. elegans*, la drosophile, la souris) par sa capacité de remodelage tissulaire [14, 16]. La mort autophagique intervient aussi dans des circonstances autres que celles du développement, notamment dans divers contextes pathologiques et de stress. Elle est très probablement impliquée dans la mort des cellules de Purkinje dans un modèle murin de dégénérescence du cervelet due à des mutations dans le récepteur du glutamate $\delta 2$, les souris *Lurcher* [17, 18]. Dans les cellules cancéreuses, la mort autophagique a été décrite en réponse à de nombreuses thérapies antitumorales [19]. Néanmoins, la distinction entre apoptose et mort autophagique n'est pas toujours aisée car des caractéristiques apoptotiques et autophagiques peuvent être observées dans la même cellule. Au cours de la mort par apoptose, des vacuoles autophagiques sont aussi fréquemment observées dans les cellules. Le rôle de la macro-autophagie dans ce contexte semble variable. En effet, différentes situations ont été observées où la macro-autophagie est soit un phénomène protecteur vis-à-vis de l'apoptose soit un événement proapoptotique [19]. De même, des acteurs de l'apoptose (les caspases) peuvent intervenir dans le déroulement d'une mort de type auto-

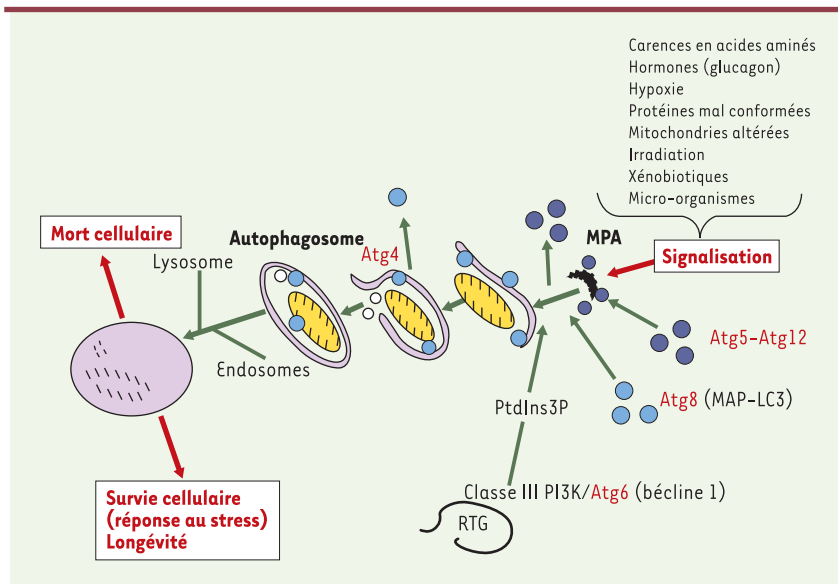


Figure 1. Macroautophagie. Le conjugué protéique Atg5-Atg12, recruté à partir du cytoplasme, permet la conjugaison d'Atg8 (MAP-LC3) et de la phosphatidyléthanolamine sur la membrane pré-autophagosomale (MPA). La formation de l'autophagosome nécessite aussi la production de phosphatidylinositol 3-phosphate (PtdIns3P) par la phosphatidylinositol 3-phosphate kinase (PI3K) type III localisée probablement sur la membrane du réseau trans-golgien (RTG) où elle interagit avec la protéine bécline 1 (Atg6). Après formation de l'autophagosome, la plupart des protéines Atg sont recyclées vers le cytosol, à l'exception notable d'une fraction Atg8-phosphatidyléthanolamine, qui est un marqueur de l'autophagosome, insensible à la déconjugaison réalisée par Atg4 du fait de sa topologie membranaire. Après fusion avec des endosomes (précoces et/ou tardifs), le matériel séquestré dans l'autophagosome est digéré dans le lysosome (y compris la copule protéique du complexe Atg8-phosphatidyléthanolamine intravacuolaire). La macroautophagie est stimulée par divers signaux qui sont transduits le long de voies de signalisations dont la voie PI3K de type I/PKB/mTOR pour aboutir à la membrane autophagosomale. L'articulation exacte entre la signalisation et le déclenchement de la formation de l'autophagosome reste à mieux définir.

phagique [20]. Cette relation moléculaire entre acteurs de l'apoptose et mort autophagique a récemment été soulignée par une étude montrant que l'inhibition de l'activité basale de certaines caspases (caspase-8) entraîne la cellule vers une mort autophagique interrompue par l'invalidation de l'expression des gènes *ATG7* et *beclin 1* [21]. En outre, ce travail suggère une grande prudence envers les propositions thérapeutiques visant à bloquer l'activité des caspases pour inhiber l'apoptose dans des pathologies où celle-ci est néfaste, car la cellule peut alors déclencher une mort autophagique. Une part de la complexité de la relation entre macro-autophagie et mort cellulaire tient probablement au fait que les deux phénomènes partagent des communautés moléculaires dont les spécificités propres

nous échappent encore. Certaines voies de signalisation impliquées dans la survie cellulaire, comme la voie de signalisation comprenant la PI3K de type I, les kinases akt/PKB et mTOR le sont aussi dans le contrôle de l'autophagie [6]. Ce chevauchement entre les contrôles de l'autophagie et de l'apoptose a été récemment prolongé par l'implication d'acteurs reconnus de l'apoptose, le céramide [22], TRAIL (*TNF-related apoptosis inducing ligand*) et l'un de ses récepteurs [23], dans le contrôle de l'autophagie. De plus, comme cela a été décrit plus haut, la bécline 1 interagit avec des protéines de la famille de bcl-2 [7, 9]. La découverte récente des bases moléculaires de la macro-autophagie a mis en lumière son implication non seulement au cours de la progression tumorale [24], ou

dans la mort neuronale associée à de nombreuses maladies neurodégénératives (maladies de Parkinson, d'Alzheimer et de Huntington) [25], mais aussi dans certaines formes de myopathies [26], dans la réponse immunitaire innée et sa subversion par certains micro-organismes [27]. Malgré les avancées récentes dans la connaissance de ses contrôles moléculaires, nombre d'interrogations subsistent quant à la macro-autophagie, notamment sur l'origine de la membrane de l'autophagosome, les bases moléculaires de sa sélectivité vis-à-vis de certains organites, comme la mitochondrie, ses liens avec la prolifération et la croissance cellulaire et particulièrement les mécanismes expliquant le basculement de sa fonction vitale vers sa fonction fatale. ♦

Regulation of macroautophagy

RÉFÉRENCES

1. Cuervo AM. Autophagy: in sickness and health. *Trends Cell Biol* 2004; 14: 70-7.
2. De Duve C, Wattiaux R. Functions of lysosomes. *Annu Rev Physiol* 1966; 28: 435-92.
3. Klionsky DJ, Emr SD. Cell biology: autophagy as a regulated pathway of cellular degradation. *Science* 2000; 290: 1717-21.
4. Klionsky DJ, Cregg JM, Dunn Jr WA, et al. A unified nomenclature for yeast autophagy-related genes. *Dev Cell* 2003; 5: 539-45.
5. Ohsumi Y. Molecular dissection of autophagy: two ubiquitin-like systems. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2: 211-6.
6. Petiot A, Ogier-Denis E, Blommaert EFC, et al. Distinct classes of phosphatidylinositol 3'-kinases are involved in signaling pathways that control macroautophagy in HT-29 cells. *J Biol Chem* 2000; 275: 992-998.
7. Liang XH, Kleeman LK, Jiang HH, et al. Protection against fatal Sindbis virus encephalitis by beclin, a novel Bcl-2-interacting protein. *J Virol* 1998; 72: 8586-96.
8. Liang XH, Jackson S, Seaman M, et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature* 1999; 402: 672-6.
9. Aita VM, Liang XH, Murty VVVS, et al. Cloning and genomic organization of *Beclin 1*, a candidate tumor suppressor gene on chromosome 17q21. *Genomics* 1999; 59: 59-65.
10. Qu X, Yu J, Bhagat G, et al. Promotion of tumorigenesis by heterozygous disruption of the beclin 1 autophagy gene. *J Clin Invest* 2003; 112: 1809-20.
11. Yue Z, Jin S, Yang C, et al. Beclin 1, an autophagy gene essential for early embryonic development, is a haploinsufficient tumor suppressor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 15077-82.
12. Melendez A, Tallóczy Z, Seaman M, et al. Autophagy genes are essential for dauer development and life-span extension in *C. elegans*. *Science* 2003; 301: 1387-91.
13. Riddle DL, Gorski SM. Shaping and stretching life by autophagy. *Dev Cell* 2003; 5: 364-5.
14. Levine B, Klionsky DJ. Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy. *Dev Cell* 2004; 6: 463-77.
15. Clarke PGH. Development cell death: morphological diversity and multiple mechanisms. *Anat Embryol* 1990; 181: 195-213.
16. Baehrecke EH. Autophagic programmed cell death in *Drosophila*. *Cell Death Differ* 2003; 10: 940-5.
17. Yue Z, Horton A, Bravin M, et al. A novel protein complex linking the d2 glutamate receptor and autophagy: implications for neurodegeneration in Lurcher mice. *Neuron* 2002; 35: 921-33.
18. Selimi F, Lohof AM, Heitz S, et al. Lurcher GIRD2-induced death and depolarization can be dissociated in cerebellar Purkinje cells. *Neuron* 2003; 37: 813-9.
19. Gozuacik D, Kimchi A. Autophagy as a cell death and tumor suppressor mechanism. *Oncogene* 2004; 23: 2891-906.
20. Martin DN, Baehrecke EH. Caspases function in autophagic programmed cell death in *Drosophila*. *Development* 2004; 131: 275-84.
21. Yu L, Alva A, Su H, et al. Regulation of an *ATG-7-beclin 1* program of autophagic cell death by caspase-8. *Science* 2004; 304: 1500-2.
22. Scarlatti F, Bauvy C, Ventruti A, et al. Ceramide-mediated macroautophagy involves inhibition of protein kinase B and upregulation of beclin 1. *J Biol Chem* 2004; 279: 18384-91.
23. Mills KR, Reginato M, Debnath J, et al. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) is required for induction of autophagy during lumen formation *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 3438-43.
24. Edinger AL, Thompson CB. Defective autophagy leads to cancer. *Cancer Cell* 2003; 4: 422-4.
25. Yuan J, Lipinski M, Degtarev A. Diversity in the mechanism of neuronal cell death. *Neuron* 2003; 40: 401-13.
26. Nishino I. Autophagic vacuolar myopathies. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2003; 3: 64-9.
27. Kirkegaard K, Taylor MP, Jackson WT. Cellular autophagy: surrender, avoidance and subversion by microorganisms. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2: 301-14.