

## L'autophagie et le dernier soupir de la cellule

Sophie Pattingre, Patrice Codogno

Inserm U756, Université Paris-Sud,  
5, rue Jean-Baptiste Clément,  
92296 Châtenay-Malabry, France.  
[sophie.pattingre@u-psud.fr](mailto:sophie.pattingre@u-psud.fr)  
[patrice.codogno@u-psud.fr](mailto:patrice.codogno@u-psud.fr)

### > La cellule s'autodigère t-elle pour survivre ou pour mourir ?

Brièvement voyons d'abord pourquoi un processus cellulaire décrit il y a une cinquantaine d'années [1] suscite un tel regain d'intérêt. L'autophagie - ou plus précisément la macroautophagie (en fait l'autophagie est un terme global qui englobe différents mécanismes qui aboutissent à la dégradation du contenu cellulaire par le lysosome) - est un mécanisme vacuolaire de dégradation du matériel intracellulaire. Son étape initiale est la formation d'un autophagosome dans le cytoplasme, vacuole délimitée par une double membrane, qui séquestre, en général de façon non sélective, des macromolécules et des organites (Figure 1). La découverte chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* des gènes *ATG* (*autophagy related genes*) impliqués dans la formation de l'autophagosome, et leur conservation chez les eucaryotes, a conduit à une explosion d'études des fonctions de ce processus [2]. L'histoire naturelle de l'autophagie est intéressante à comparer à celle de l'apoptose qui a pris son essor après la découverte des gènes *CED* (*Caenorhabditis elegans death*) chez le nématode *C. elegans* [3]. Une première clarification du rôle de l'autophagie a été apportée par la démonstration de sa fonction cytoprotectrice soit à un niveau basal soit après stimulation. À un niveau basal, elle assure un contrôle de qualité des constituants du cytoplasme en éliminant les molécules et structures altérées. Son inhibition par l'invalidation conditionnelle de gènes *ATG* dans le cerveau de souris entraîne une neurodégénérescence et une mort prématurée [4, 5].

La neurodégénérescence est caractérisée par l'accumulation de protéines ubiquitinyliées normalement dégradées par la voie du protéasome. Ces études montrent l'importance de l'autophagie dans la régulation du flux de protéines prises en charge par le protéasome. Lors de périodes de jeûne, l'autophagie est stimulée pour maintenir un niveau intracellulaire de nutriments compatible avec les besoins métaboliques et énergétiques de la cellule. Cette fonction s'applique notamment au moment de la naissance chez le souriceau où l'apport nutritionnel maternel *via* le placenta est brusquement interrompu [6]. L'autophagie contribue pendant les premières heures de la vie aux besoins énergétiques importants de certains organes comme le cœur et le diaphragme. Par ailleurs, sa stimulation par le jeûne est un frein au déclenchement de l'apoptose [7]. Outre ces fonctions, l'autophagie participe à l'immunité innée vis-à-vis de pathogènes infectieux, et acquise par la présentation d'antigènes cytosoliques par le système majeur d'histocompatibilité de classe II. Certains auteurs proposent même le terme d'immunophagie pour définir cette fonction particulière [8]. Une des singularités de l'autophagie tient au fait que ce mécanisme cytoprotecteur peut être aussi un mécanisme de mort cellulaire. Ce n'est que récemment que le rôle de l'autophagie dans la mort cellulaire programmée a pu être expérimentalement validé [9]. La distinction entre les deux types de mort, par apoptose (type 1) ou par autophagie (type 2), est loin d'être aussi stricte puisque l'autophagie peut contribuer dans certaines circonstances au déclenchement de l'apoptose. Comme

cela a été récemment discuté dans ces colonnes [10], le « déterminisme » vital ou mortel de l'autophagie, et sa relation avec l'apoptose, sont le fruit pour partie d'acteurs moléculaires communs, notamment par l'interaction entre la protéine anti-apoptotique Bcl-2 et la protéine autophagique Beclin 1 (*Atg6*) [11]. La modulation de l'autophagie est récemment apparue comme un enjeu thérapeutique dans certaines pathologies comme les maladies neurodégénératives et le cancer [12]. Néanmoins ces nouvelles pistes thérapeutiques nécessitent de mieux maîtriser les acteurs moléculaires qui contrôlent l'autophagie et ses conséquences sur la survie et la mort cellulaire.

### Autophagie et phagocytose des cellules apoptotiques

Qu *et al.* [13] ont étudié le rôle de gènes - connus pour leur rôle dans la formation de l'autophagosome (*Atg5* et *Beclin 1*) - dans la formation des corps embryoides et la cavitation dans un modèle *in vitro* qui reproduit les premières étapes de l'embryogenèse. En effet, les cellules souches embryonnaires (cellules ES) murines, cultivées en l'absence du facteur LIF (*leukemia inhibiting factor*) s'engagent spontanément dans un processus de différenciation. Après une première étape où les cellules s'agrègent, on observe la formation d'un corps embryoides comprenant au centre des cellules ectodermiques et en périphérie des cellules de nature endodermique. À partir du 6<sup>e</sup> jour, cet agrégat se creuse, les cellules ectodermiques internes mourant par apoptose. Cette cavitation, dont la taille augmente jusqu'au



2<sup>e</sup> jour de culture, mime la formation de la cavité amniotique (Figure 1).

Mais, si cette expérience est faite avec des cellules ES *Atg5*<sup>-/-</sup> ou *Beclin 1*<sup>-/-</sup> (cellules ES déficientes en autophagie = ES<sup>aut-</sup>), la cavitation ne se produit pas.

Deux hypothèses ont alors été émises : (1) les cellules ne font plus d'apoptose ; ou (2) les cellules apoptotiques ne sont pas éliminées. En effet, *in vivo*, l'étape ultime de l'apoptose est l'élimination de la cellule apoptotique par des cel-

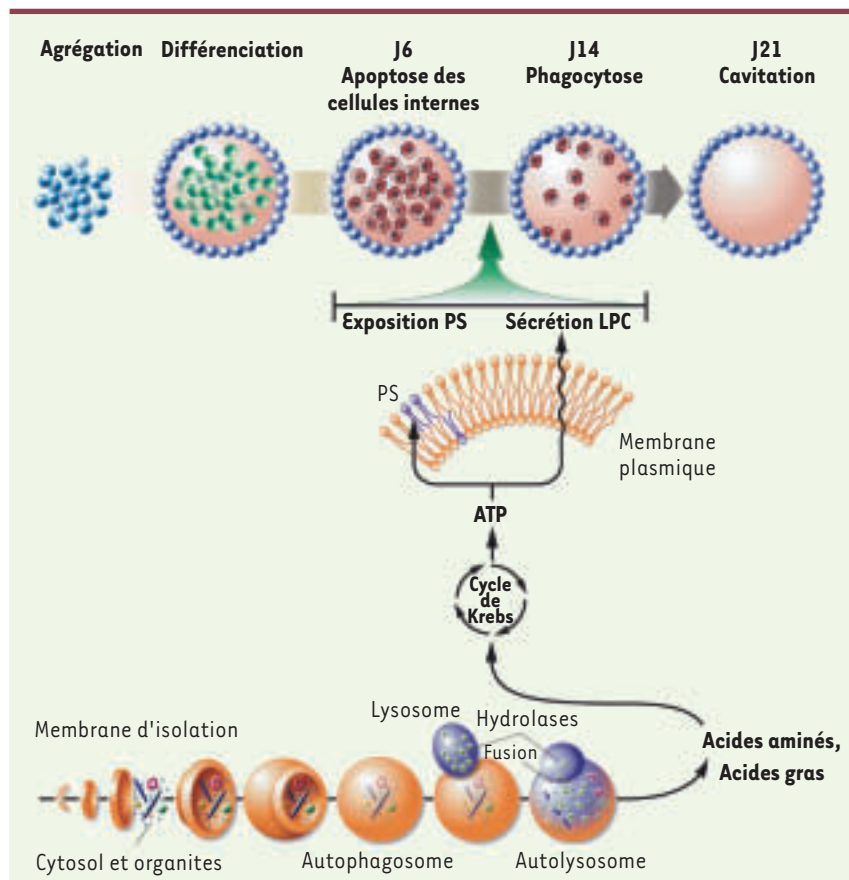
lules phagocytaires (professionnelles ou non). Dans le modèle étudié, les cellules ectodermiques apoptotiques sont normalement phagocytées par les cellules endodermiques, mais ce n'est pas le cas dans les corps embryoides<sup>aut-</sup>.

Le mécanisme par lequel l'autophagie permet la phagocytose des cellules apoptotiques a également été élucidé par l'étude de Qu *et al.* [13]. En effet, deux types de signaux sont émis par la cellule apoptotique [14] : (1) un signal de reconnaissance appelé *eat-me signal* qui correspond à la translocation de la phosphatidylsérine du feuillet interne vers le feuillet externe de la membrane plasmique ; (2) un signal chemoattractant pour les cellules phagocytaires appelé *come-and-get me signal*. Ce signal, quant à lui, repose sur la synthèse et la sécrétion de la lysophosphatidylcholine par la cellule apoptotique.

### Comment l'autophagie permet-elle l'élimination des cellules apoptotiques ?

L'une des fonctions importantes de l'autophagie, qui s'exerce lors de périodes de jeûne [6], est de maintenir le niveau d'ATP cellulaire. Or, les auteurs ont observé une diminution du niveau d'ATP dans les corps embryoides<sup>aut-</sup> et la supplémentation des cellules ES<sup>aut-</sup> par du méthylpyruvate (substrat du cycle de Krebs) restaure le niveau d'ATP et la cavitation (Figure 1). À partir de ces résultats, les auteurs suggèrent que l'autophagie est essentielle pour fournir l'énergie nécessaire à l'émission des signaux requis pour la phagocytose des cellules apoptotiques.

Ces résultats ont enfin été validés *in vivo* dans la rétine et le poumon au cours du développement des souris *Atg5*<sup>-/-</sup>. Ce défaut d'élimination des cellules apoptotiques conduit en effet à l'accumulation de macrophages, suggérant la présence d'un foyer inflammatoire provoqué par la libération du contenu des corps apoptotiques dans l'espace extracellulaire (nécrose secondaire).



**Figure 1. L'autophagie permet l'élimination des cellules apoptotiques.** L'autophagie débute à partir d'une membrane d'isolation qui forme une vacuole ou autophagosome séquestrant des portions de cytoplasme. Le contenu intravacuolaire sera dégradé par les enzymes lysosomales après fusion de l'autophagosome et du lysosome. La dégradation est dans de nombreux cas un mécanisme cytoprotecteur soit par l'élimination des molécules ou structures pouvant mettre en péril la viabilité cellulaire soit par la libération d'acides aminés et d'acides gras indispensables au métabolisme et à la production d'ATP par le cycle de Krebs notamment en période de jeûne. L'étude de Qu *et al.* [13] montre que la production d'ATP *via* l'autophagie est nécessaire à l'expression de signaux émis par la cellule apoptotique pour sa phagocytose par les cellules voisines. Deux types de signaux sont émis par la cellule apoptotique : la translocation de la phosphatidylsérine (PS) du feuillet interne vers le feuillet externe de la membrane plasmique (*eat-me signal*, signal de phagocytose) et la sécrétion de la lysophosphatidylcholine (LPC) (*come-and-get me signal*, signal chemoattractant). Ce rôle de l'autophagie a été démontré dans les corps embryoides qui reproduisent les premières étapes de l'embryogenèse. Les cellules ectodermiques (vert) déclenchent une mort programmée apoptotique. L'élimination des cellules ectodermiques apoptotiques (rouge) par les cellules endodermiques (bleu) de la couche externe permet la cavitation. L'inhibition de l'autophagie se traduit par un engorgement de la cavité par des cellules ectodermiques apoptotiques qui n'ont pas émis les signaux PS et LPC nécessaires à leur élimination.

## En conclusion

Ce travail démontre un rôle inattendu pour l'autophagie à l'étape ultime du programme apoptotique en permettant l'élimination par phagocytose de la cellule morte.

Comme tout travail novateur, cette étude pose un certain nombre de questions, et nous en relèverons deux :

- Alors que des nutriments sont présents dans l'environnement cellulaire, pourquoi l'autophagie est-elle nécessaire à la production d'ATP permettant la mise en place des signaux de phagocytose dans les corps embryoides ?

- Pourquoi les phénotypes des souris *Atg5<sup>-/-</sup>* et *Beclin 1<sup>-/-</sup>* sont-ils différents ? En effet, aucune anomalie majeure n'est observée au cours du développement des souris *Atg5<sup>-/-</sup>* [6] alors que celui des souris *Beclin 1<sup>-/-</sup>* s'arrête au jour J7,5 de gestation [15, 16] ? Deux réponses non exclusives peuvent rendre compte

de cette différence : soit la protéine Beclin 1 est impliquée dans d'autres processus que l'autophagie, soit il existe un phénomène de compensation à l'invalidation du gène *Atg5*. ♦

## Autophagy and clearance of apoptotic cells

### RÉFÉRENCES

1. De Duve C, Wattiaux R. Functions of lysosomes. *Annu Rev Physiol* 1966 ; 28 : 435.
2. Codogno P. Les gènes *atg* et la macroautophagie. *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 734-6.
3. Metzstein MM, Stanfield GM, Horvitz HR. Genetics of programmed cell death in *C. elegans*: past, present and future. *Trends Genet* 1998 ; 14 : 410-6.
4. Hara T, Nakamura K, Matsui M, et al. Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice. *Nature* 2006 ; 441 : 885-9.
5. Komatsu M, Waguri S, Chiba T, et al. Loss of autophagy in the central nervous system causes neurodegeneration in mice. *Nature* 2006 ; 44 : 880-4.
6. Kuma A, Hatano M, Matsui M, et al. The role of autophagy during the early neonatal starvation period. *Nature* 2004 ; 432 : 1032-6.
7. Boya P, Gonzalez-Polo RA, Casares N, et al. Inhibition of macroautophagy triggers apoptosis. *Mol Cell Biol* 2005 ; 25 : 1025-40.
8. Deretic V. Autophagy as an immune defense mechanism. *Curr Opin Immunol* 2006 ; 18 : 375-82.
9. Gozuacik D, Kimchi A. Autophagy and cell death. *Curr Top Dev Biol* 2007 ; 78 : 217-45.
10. Espert L, Denizot M, Grimaldi M, et al. Autophagie et destruction des lymphocytes T CD4 par le VIH-1. *Med Sci (Paris)* 2006 ; 22 : 677-8.
11. Pattingre S, Tassa A, Qu X, et al. Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy. *Cell* 2005 ; 122 : 927-39.
12. Rubinsztein DC, Gestwicki JE, Murphy LO, Klionsky DJ. Potential therapeutic applications of autophagy. *Nat Rev Drug Discov* 2007 ; 6 : 304-12.
13. Qu X, Zou Z, Sun Q, et al. Autophagy gene-dependent clearance of apoptotic cells during embryonic development. *Cell* 2007 ; 128 : 931-46.
14. Grimsley C, Ravichandran KS. Cues for apoptotic cell engulfment: eat-me, don't eat-me and come-get-me signals. *Trends Cell Biol* 2003 ; 13 : 648-56.
15. 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.
16. 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 ; 25 : 15077-82.

## NOUVELLE

### Le danio zébré révèle l'odyssée des précurseurs hématopoïétiques au cours du développement des embryons de vertébrés

Karima Kissa, Emi Murayama, Philippe Herbomel

Unité Macrophages et Développement de l'Immunité, CNRS-URA 2578, Institut Pasteur, 25, rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France. [herbomel@pasteur.fr](mailto:herbomel@pasteur.fr)

► Les cellules souches hématopoïétiques (CSH) sont à l'origine des divers types de cellules sanguines et de leur production continue chez les vertébrés adultes. Au cours du développement des mammifères, la genèse des cellules du sang se fait en deux vagues successives [1, 2]. La première vague, dite primitive, est transitoire, et produit dans le sac vitellin les érythrocytes et les macrophages primitifs de l'embryon. Puis une seconde vague, dite définitive, produit, à partir de CSH, l'ensemble des cellules sanguines caractérisées chez l'adulte, en particulier la diversité des lymphocytes. Cette hématopoïèse définitive a d'abord lieu dans le foie foetal, puis dans

la moelle osseuse, et parallèlement dans le thymus pour ce qui est de la maturation des lymphocytes T. Au cours de l'embryogenèse, le premier site où des cellules présentant le potentiel de CSH ont été identifiées est une région intra-embryonnaire appelée AGM (aorte-gonade-mésonephros) (voir *Nouvelle d'Isabelle Godin et Ana Cumano, page 681 de ce numéro*) [3]. Ce potentiel de CSH a été mis en évidence en montrant la capacité qu'ont ces cellules, lorsqu'elles sont injectées dans une souris adulte irradiée, de restaurer durablement toute l'hématopoïèse. De là, il a été conclu que les organes hématopoïétiques transitoires (foie foetal) puis

définitifs (thymus, moelle osseuse) sont successivement colonisés par des CSH initialement nées dans l'AGM. Bien que ce principe soit admis, aucune démonstration directe d'une continuité de lignage cellulaire depuis l'AGM jusqu'aux organes hématopoïétiques définitifs n'a jamais été faite (voir *Nouvelle d'Isabelle Godin et Ana Cumano, page 681 de ce numéro*) [3]. Malgré les divergences apparues entre les mammifères et les poissons au cours de l'évolution, le patron de signalisation moléculaire gouvernant l'hématopoïèse a été très conservé [4]. Aussi, parce que l'embryon de *danio zébré* (*zebrafish*, d'où l'anglicisme poisson zèbre) se développe