

sauvages pour ouvrir un nombre similaire de canaux mécanosensibles [11], - d'autre part, une réduction de la cinétique d'inactivation du canal, aussi bien dans sa composante rapide (inactivation directe ou indirecte du canal de manière dépendante du calcium) que lente (reflétant un glissement de la partie supérieure de la machinerie de mécanotransduction sur les filaments d'actine *via* des moteurs de myosine, diminuant la tension dans l'ensemble du système).

Ces résultats sont largement cohérents avec un modèle dans lequel l'absence d'Harmonine induit une relaxation globale de l'appareil de mécanotransduction : l'ancrage supérieur du *tip-link* au cytosquelette est réduit entraînant une diminution de la tension dans le système, cette perte de tension se répercutant jusqu'au canal de mécanotransduction par l'intermédiaire du *tip-link*. Cela engendre *de facto* une diminution de la probabilité d'ouverture du canal (Figure 2B-C). La fonction d'Harmonine pourrait être d'organiser d'autres composants cytoplasmiques

autour de CDH23 et de la membrane plasmique locale, afin d'optimiser la réponse de la machinerie mécanosensible à la tension et donc à la détection des ondes sonores.

Ce travail identifie Harmonine comme un authentique élément de la machinerie de mécanotransduction des cellules ciliées cochléaires. ♦

### Harmonin is a component of the auditory mechanotransduction apparatus

#### REMERCIEMENTS

*L'auteur tient à remercier tout le personnel du laboratoire du Dr Müller, ainsi que Dr B. Coste et Dr S. Grillet pour leurs commentaires pertinents sur le manuscrit.*

#### CONFLIT D'INTÉRÊTS

*L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.*

#### RÉFÉRENCES

1. El-Amraoui A, Lefevre G, Hardelin JP, et al. Syndrome de Usher de type 1 et développement de la touffe ciliaire des cellules sensorielles de l'oreille interne. *Med Sci (Paris)* 2005 ; 21 : 737-40.

2. Beurg M, Fettiplace R, Nam JH, et al. and Localization of inner hair cell mechanotransducer channels using high-speed calcium imaging. *Nat Neurosci* 2009 ; 12 : 553-8.
3. Siemens J, Lillo C, Dumont RA, et al. and Cadherin 23 is a component of the tip link in hair-cell stereocilia. *Nature* 2004 ; 428 : 950-5.
4. Kazmierczak P, Sakaguchi H, Tokita J, et al. Cadherin 23 and protocadherin 15 interact to form tip-link filaments in sensory hair cells. *Nature* 2007 ; 449 : 87-91.
5. Verpy E, Leibovici M, Zwaenepoel I, et al. A defect in harmonin, a PDZ domain-containing protein expressed in the inner ear sensory hair cells, underlies Usher syndrome type 1C. *Nat Genet* 2000 ; 26 : 51-5.
6. Gilgenkrantz S. Harmonine, un joli nom pour une protéine impliquée dans un des syndromes de Usher. *Med Sci (Paris)* 2001 ; 17 : 379-380.
7. Adato A, Michel V, Kikkawa Y, et al. Interactions in the network of Usher syndrome type 1 proteins. *Hum Mol Genet* 2005 ; 14 : 347-56.
8. Boeda B, El-Amraoui A, Bahloul A, et al. and Myosin VIIa, harmonin and cadherin 23, three Usher 1 gene products that cooperate to shape the sensory hair cell bundle. *EMBO J* 2002 ; 21 : 6689-99.
9. Siemens J, Kazmierczak P, Reynolds A, et al. The Usher syndrome proteins cadherin 23 and harmonin form a complex by means of PDZ-domain interactions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002 ; 99 : 14946-51.
10. Lefevre G, Michel V, Weil D, et al. A core cochlear phenotype in USH1 mouse mutants implicates fibrous links of the hair bundle in its cohesion, orientation and differential growth. *Development* 2008 ; 135 : 1427-37.
11. Grillet N, Xiong W, Reynolds A, et al. Harmonin mutations cause mechanotransduction defects in cochlear hair cells. *Neuron* 2009 ; 62 : 375-87.

## NOUVELLE

### Contribution de l'autophagie dans l'apprêtement d'antigènes viraux endogènes

Luc English, Magali Chemali, Michel Desjardins

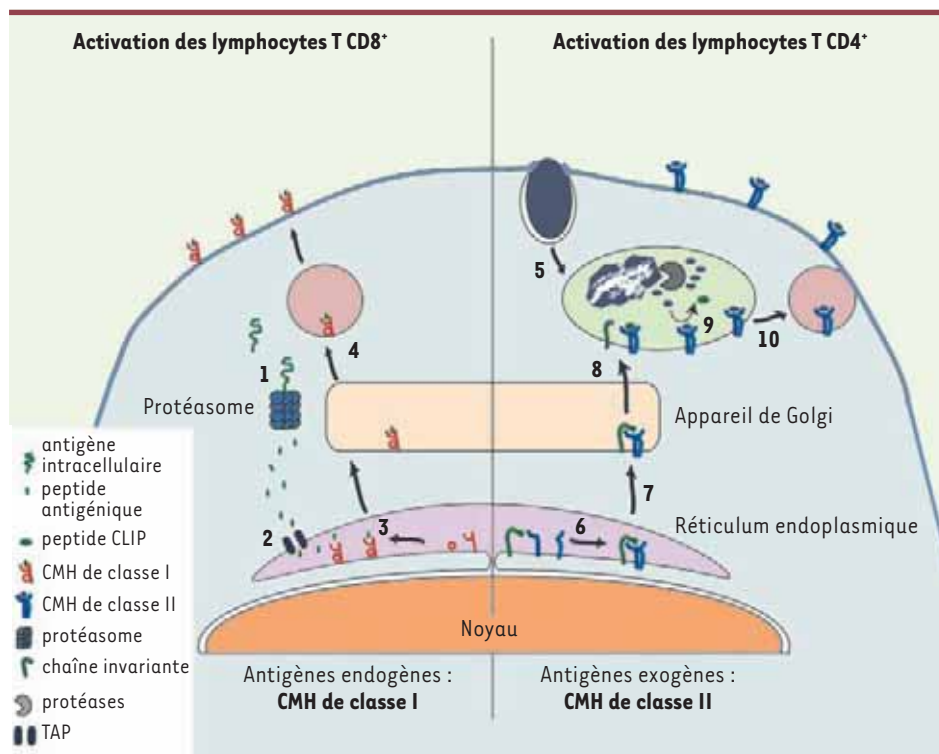
L. English, M. Chemali : département de pathologie et biologie cellulaire.  
M. Desjardins : département de pathologie et biologie cellulaire, département de microbiologie et immunologie.  
Université de Montréal, Pavillon Roger-Gaudry, 2900, boulevard Édouard- Montpetit, Montréal, Québec, H3T 1J4 Canada  
[michel.desjardins@umontreal.ca](mailto:michel.desjardins@umontreal.ca)

#### Xénophagie, immunité innée et immunité acquise

L'autophagie désigne le processus par lequel la cellule capture du matériel cytoplasmique afin de le dégrader dans des lysosomes. Ce mécanisme permet notamment de recycler les constituants cellulaires et de maintenir l'homéostasie nécessaire au bon fonctionnement de la cellule. Parallèlement à sa fonction catabolique, l'autophagie joue un rôle capital dans différents mécanismes liés à l'immunité. Pour faire face à l'intru-

sion de micro-organismes pathogènes (bactéries, virus ou parasites), la cellule est en effet capable de détourner l'autophagie de son rôle primordial « d'usine de recyclage » afin de séquestrer l'envahisseur dans une double membrane et de le dégrader [1]. Cette élimination des pathogènes par autophagie (appelée xénophagie) constitue un des fondements de l'immunité dite « innée » [2]. En revanche, l'établissement d'un lien direct entre la xénophagie et l'immunité dite « acquise »,

c'est-à-dire une immunité spécifique permettant d'éliminer le non-soi, a été beaucoup plus récent. En effet, ce n'est qu'en 2005 que le groupe de Munz a montré que l'antigène viral EBNA (*Epstein Barr virus nuclear antigen*), une des protéines du virus Epstein Barr, pouvait être transféré dans des autophagosomes et présenté sur des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II [3]. Ces molécules du CMH de classe II sont pourtant classiquement décrites comme les responsables de la



**Figure 1. Voies dites classiques d'apprêtement des antigènes menant à la présentation antigénique par les molécules du CMH.** Les antigènes présentés sur des molécules du CMH de classe I sont exclusivement endogènes et sont digérés par le complexe du protéasome dans le cytoplasme (1). Les peptides ainsi formés sont transportés à l'intérieur du réticulum endoplasmique par les transporteurs TAP (2) afin d'être chargés sur les molécules du CMH de classe I (3). Par la suite, les complexes peptide-CMH de classe I sont exportés à la surface cellulaire par la voie de sécrétion constitutive (4). Les antigènes présentés sur des CMH de classe II sont exclusivement exogènes et sont acquis principalement par endocytose ou phagocytose (5). Les deux chaînes constituant les CMH de classe II,

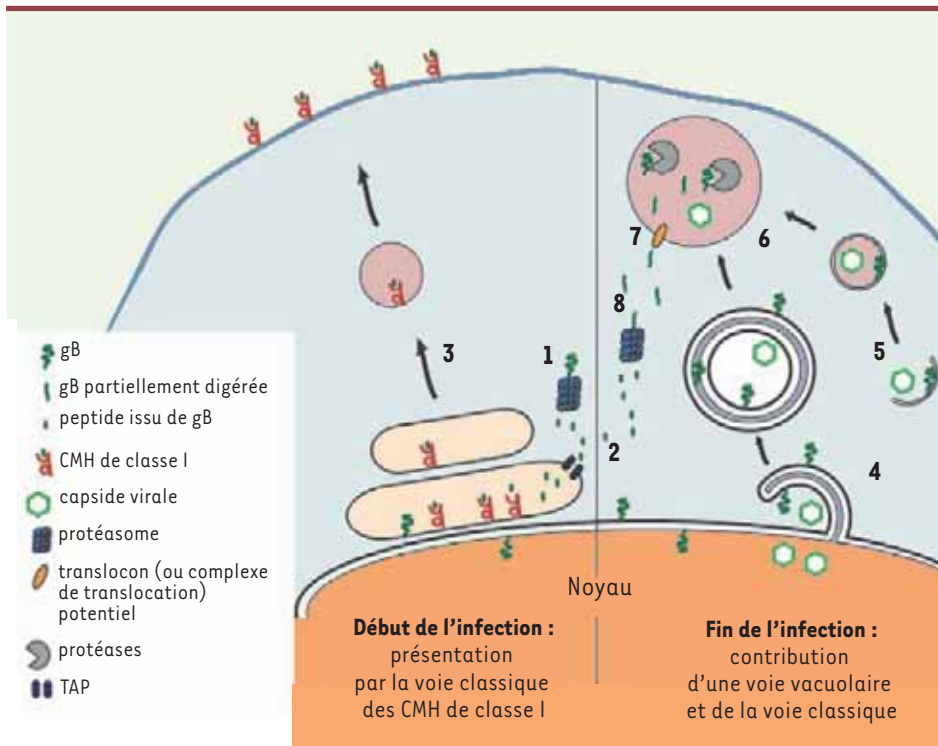
synthétisées dans le réticulum endoplasmique, s'associent à la chaîne invariante (6) et sont transportées jusqu'au compartiment endocyttaire (7). La digestion partielle dans ce compartiment libère alors la chaîne invariante laissant seulement un fragment peptidique (appelé CLIP) dans la niche peptidique des molécules de CMH de classe II (8). Les peptides issus de la dégradation des antigènes exogènes remplacent le peptide CLIP dans la niche peptidique des CMH (9) et les complexes peptide-CMH de classe II sont alors exportés à la surface cellulaire par les endosomes de recyclage (10). TAP : *Transporter associated with antigen processing* ; CLIP : *Class II-associated invariant chain peptide*.

présentation d'antigènes extérieurs à la cellule, par exemple ceux qui sont issus de la dégradation protéolytique d'une bactérie ou d'un parasite internalisé par phagocytose. Ces antigènes dits « exogènes » sont dégradés et apprêtés dans un compartiment vacuolaire avant d'être présentés à la surface de la cellule (Figure 1). Par opposition, les protéines cellulaires ou les protéines virales synthétisées par une cellule infectée sont présentées à la surface par l'autre classe de molécules présentatrices, les CMH de classe I. Ces antigènes dits « endogènes » sont dégradés par le complexe du protéasome dans le cytoplasme de la cellule et non par les protéases de compartiments vacuolaires. Les peptides qui résultent de cette digestion sont par la suite transférés dans le réticulum endoplasmique pour être chargés sur les CMH de classe I (Figure 1).

### Rôle de l'autophagie dans la présentation de peptides viraux par les CMH de classe I

Les travaux du groupe de Munz montrent donc que l'autophagie permet de transgresser les lois fondamentales de la présentation antigénique en autorisant la présentation de protéines virales endogènes sur des CMH de classe II. Une question subsiste donc : l'autophagie peut-elle à nouveau enfreindre les lois classiques de la présentation en permettant, cette fois, de dégrader et d'apprêter des antigènes endogènes dans un compartiment vacuolaire avant de les présenter sur des molécules du CMH de classe I ? Jusqu'à récemment, les résultats de nombreux travaux suggèrent cette possibilité, sans pour autant définitivement la valider. En effet, l'autophagie permet d'éliminer des agrégats de protéines cyto-

plasmiques ubiquitinylées [4]. Or, dans les cellules dendritiques, des agrégats similaires appelés DALIS (*dendritic cell aggregates-like structures*) influencent fortement le répertoire peptidique présenté par les molécules du CMH de classe I [5]. Par ailleurs, plusieurs travaux ont permis de localiser des organismes pathogènes comme *Toxoplasma gondii* [6], *Listeria monocytogenes* [7] ou encore *Mycobacterium tuberculosis* [8] dans des compartiments autophagiques. La découverte parallèle de peptides provenant de ces pathogènes sur des molécules du CMH de classe I (et de classe Ib) laisse entrevoir un rôle possible de l'autophagie dans la génération des peptides servant à cette forme de présentation [9]. Afin de répondre aux nombreuses questions soulevées par ces différents travaux, nous avons étudié le rôle de



**Figure 2.** Contribution de l'autophagie à l'apprêtement vacuolaire d'antigènes viraux menant à la présentation antigénique par les CMH de classe I. En début d'infection, l'apprêtement de la gB du virus HSV-1 s'effectue par la voie dite classique de présentation antigénique sur les CMH de classe I. La gB est digérée par le complexe du protéasome dans le cytoplasme (1) et les peptides issus de cette dégradation sont transportés à l'intérieur du réticulum endoplasmique par les transporteurs TAP (2). C'est à l'intérieur du réticulum endoplasmique que le chargement peptidique a lieu. Les complexes peptide-CMH sont par la suite exportés à la surface cellulaire par la voie de sécrétion constitutive (3). Dans la phase tardive de l'infection, la gB est transportée par les autophagosomes vers un compartiment vacuolaire où elle est partiellement apprêtée. Un nouveau type d'autophagosomes, dérivant de l'enveloppe nucléaire (4) ainsi que des autophagosomes classiques (5) permettent le transfert de la gB au niveau d'un compartiment vacuolaire. Dans les deux cas, les autophagosomes interagissent avec le compartiment lysosomal pour former des autophagolysosomes (6). La gB est ainsi partiellement digérée par les hydrolases de cet organite et les peptides issus de cette dégradation seraient ensuite transportés hors des autophagolysosomes (7) pour rejoindre la voie classique de présentation antigénique par les CMH de classe I (8).

partiment vacuolaire où elle est partiellement apprêtée. Un nouveau type d'autophagosomes, dérivant de l'enveloppe nucléaire (4) ainsi que des autophagosomes classiques (5) permettent le transfert de la gB au niveau d'un compartiment vacuolaire. Dans les deux cas, les autophagosomes interagissent avec le compartiment lysosomal pour former des autophagolysosomes (6). La gB est ainsi partiellement digérée par les hydrolases de cet organite et les peptides issus de cette dégradation seraient ensuite transportés hors des autophagolysosomes (7) pour rejoindre la voie classique de présentation antigénique par les CMH de classe I (8).

l'autophagie dans la présentation de peptides viraux par les CMH de classe I à la suite de l'infection de macrophages de souris par le virus *Herpes simplex* de type 1 (HSV-1) [10].

Nous avons notamment mesuré les niveaux de présentation d'un peptide immunodominant de la glycoprotéine B (gB) du virus HSV-1 par les molécules du CMH de classe I. Nos résultats montrent clairement que l'infection de macrophages par HSV-1 déclenche une réponse immunitaire organisée en deux phases. Dans la première phase, les cellules infectées présentent en surface le peptide antigénique issu de la dégradation et de l'apprêtement de la gB via la voie classique de présentation par les CMH de classe I (Figure 2). Dans la phase tardive de l'infection, en revanche, la réponse immunitaire devient fortement dépendante de la dégradation de la

gB dans un compartiment vacuolaire dont la formation dépend de mécanismes autophagiques. Par ailleurs, notre étude dévoile l'existence d'un nouveau type d'autophagosomes présents uniquement dans les cellules infectées. Ces autophagosomes sont formés par la projection de la membrane nucléaire riche en protéine virale gB dans le cytoplasme, suivie d'un enroulement des feuillettes internes et externes de cette membrane, le tout aboutissant à la formation d'une vésicule à quatre feuillettes pouvant également englober des particules virales. Malgré tout, le rôle distinct ou complémentaire de ces autophagosomes nucléaires par rapport aux autophagosomes classiques (eux aussi abondants dans la phase tardive de l'infection) dans le processus de présentation de peptides viraux via la voie vacuolaire reste encore à établir.

Cependant, la membrane nucléaire, et par conséquent la membrane constituant ces nouveaux autophagosomes, est en continuité avec la membrane du réticulum endoplasmique (RE). Or, ce compartiment contient toute la machinerie nécessaire à la présentation de peptides antigéniques sur des molécules CMH de classe I. Il est donc logiquement envisageable que les autophagosomes que nous décrivons soient particulièrement compétents pour présenter des antigènes viraux sur des molécules du CMH de classe I du fait de leur origine RE/membrane nucléaire jusque-là insoupçonnée. ♦

#### Autophagy contributes to endogenous viral antigens processing

#### CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.



## RÉFÉRENCES

- Swanson MS. Autophagy: eating for good health. *J Immunol* 2006 ; 177 : 4945-51.
- Levine B, Deretic V. Unveiling the roles of autophagy in innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol* 2007 ; 7 : 767-77.
- Paludan C, Schmid D, Landthaler M, et al. Endogenous MHC class II processing of a viral nuclear antigen after autophagy. *Science* 2005 ; 307 : 593-6.
- Pankiv S, Clausen TH, Lamark T, et al. p62/SQSTM1 binds directly to Atg8/LC3 to facilitate degradation of ubiquitinated protein aggregates by autophagy. *J Biol Chem* 2007 ; 282 : 24131-45.
- Lelouard H, Gatti E, Cappello F, et al. Transient aggregation of ubiquitinated proteins during dendritic cell maturation. *Nature* 2002 ; 417 : 177-82.
- Andrade RM, Wessendarp M, Gubbels MJ, et al. CD40 induces macrophage anti-*Toxoplasma gondii* activity by triggering autophagy-dependent fusion of pathogen-containing vacuoles and lysosomes. *J Clin Invest* 2006 ; 116 : 2366-77.
- Py BF, Lipinski MM, Yuan J. Autophagy limits *Listeria monocytogenes* intracellular growth in the early phase of primary infection. *Autophagy* 2007 ; 3 : 117-25.
- Gutierrez MG, Master SS, Singh SB, et al. Autophagy is a defense mechanism inhibiting BCG and *Mycobacterium tuberculosis* survival in infected macrophages. *Cell* 2004 ; 119 : 753-66.
- Vyas JM, Van der Veen AG, Ploegh HL. The known unknowns of antigen processing and presentation. *Nat Rev Immunol* 2008 ; 8 : 607-18.
- English L, Chemali M, Duron J, et al. Autophagy enhances the presentation of endogenous viral antigens on MHC class I molecules during HSV-1 infection. *Nat Immunol* 2009 ; 10 : 480-7.

## NOUVELLE

### La taline Une allure d'haltérophile et la pratique du stretching pour mieux transmettre les forces

Corinne Albiges-Rizo, Daniel Bouvard, Anne-Pascale Bouin,  
Emmanuelle Planus, Eva Faurobert, Marc R. Block

CRI U823, Université Joseph Fourier,  
Institut Albert Bonniot, équipe 1,  
DYSAD ERL CNRS 3148, site santé La Tronche,  
BP170, 38042 Grenoble Cedex 9, France.  
[corinne.albiges-rizo@ujf-grenoble.fr](mailto:corinne.albiges-rizo@ujf-grenoble.fr)

> L'adhérence des cellules à la matrice extracellulaire et leur migration sont contrôlées par des récepteurs hétérodimériques ( $\alpha\beta$ ) transmembranaires, les intégrines, qui organisent au niveau de leur domaine cytoplasmique une plateforme moléculaire permettant un véritable lien physique entre le cytosquelette d'actine et le microenvironnement [1]. Ces structures sont des structures dynamiques capables de s'assembler, de se désassembler et de se transformer, influençant ainsi fortement la physiologie de la cellule en termes de migration, de prolifération, de différenciation et d'organisation de la matrice extracellulaire. Outre qu'elles instaurent ainsi une signalisation bidirectionnelle, les intégrines sont aussi des mécanorécepteurs qui permettent à la cellule de percevoir les propriétés physiques de son microenvironnement et ainsi de répondre et de s'adapter non seulement aux propriétés chimiques, mais également mécaniques, de la matrice extracellulaire. Les intégrines ne possèdent pas d'activité enzymatique et n'engagent pas de liaison directe avec l'actine. Leur fonction repose donc sur l'association de

molécules adaptatrices et d'enzymes au niveau de leur domaine cytoplasmique. La taline est l'une des nombreuses protéines capables de lier le domaine cytoplasmique de la sous-unité  $\beta$  de l'intégrine à l'actine [2].

#### La taline, cheville ouvrière de l'action des intégrines

L'origine du nom taline dérive du mot latin *talus*, la cheville : cela préfigure les propriétés de lien physique et d'articulation de cette molécule, mais aussi sa flexibilité. La taline existe sous deux formes : la taline 1 et 2, mais leur rôle respectif n'a pas encore été précisé. Cette protéine de 270 kDa est constituée d'une tête globulaire de 47kDa au niveau de sa partie amino-terminale, qui peut être clivée du reste de la molécule par la calpaïne II (Figure 1). La tête est composée d'un domaine FERM<sup>1</sup>, subdivisé en sous-domaines F1, F2, F3, et F3 est responsable de la liaison de la taline avec le domaine cytoplasmique de l'intégrine. Les interactions de la tête de la taline

<sup>1</sup> F pour protéine 4.1, E pour ezrine, R pour radixine et M pour moésine

avec des molécules de signalisation telles que la PIP $\gamma$ 90, le PIP $_2$  (*phosphatidyl inositol diphosphate*), la FAK (*focal adhesion kinase*) et l'ubiquitine ligase E3 Smurf1 (*smad ubiquitination regulatory factor 1*), assurent une régulation de la fonction de la taline et par voie de conséquence influencent l'activation de l'intégrine. La tige carboxy-terminale de la taline contient un site supplémentaire de liaison à l'intégrine, deux sites de liaison à l'actine et plusieurs sites de liaison à la vinculine. Elle serait aussi responsable de l'interaction entre deux monomères de taline conduisant à la formation d'un homodimère antiparallèle.

#### Taline et activation des intégrines

Alors que la tige carboxy-terminale de la taline assure le lien avec le cytosquelette, le rôle fondamental de la tête semble être d'activer les intégrines entraînant leur changement conformationnel qui se manifeste par l'extension de leurs domaines extracellulaires (Figure 2). Ce changement conformationnel est la conséquence de la coupure d'un pont salin entre les deux domaines cytoplasmiques  $\alpha$  et  $\beta$  de l'intégrine