



un consensus des gènes sélectionnés pour comparer les différents traitements. Le choix de l'IFN comme cytokine à neutraliser durant une infection chronique virale ou une maladie auto-immune ouvre de nouvelles perspectives thérapeutiques. ♦

### Anti-viral treatment: pro or cons type I IFN?

#### LIENS D'INTÉRÊT

P. Whitehead et B. Drouet sont salariés de Neovacs. D. Zagury est fondateur de Neovacs. A. Bensussan est membre du Conseil scientifique de Neovacs.

#### RÉFÉRENCES

1. Isaacs A, Lindenmann J. Virus interference. I. The interferon. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1957 ; 147 : 258-67.
2. Rönnblom L, Pascual V. The innate immune system in SLE: type I interferons and dendritic cells. *Lupus* 2008 ; 17 : 394-9.
3. Odorizzi PM, Wherry EJ. Immunology. An interferon paradox. *Science* 2013 ; 340 : 155-6.
4. Teijaro JR, Ng C, Lee AM, et al. Persistent LCMV infection is controlled by blockade of type I interferon signaling. *Science* 2013 ; 340 : 207-11.
5. Wilson EB, Yamada DH, Elsaesser H, et al. Blockade of chronic type I interferon signaling to control persistent LCMV infection. *Science* 2013 ; 340 : 202-7.
6. Bolen CR, Robek MD, Brodsky L, et al. The blood transcriptional signature of chronic hepatitis C virus is consistent with an ongoing interferon-mediated antiviral response. *J Interferon Cytokine Res* 2013 ; 33 : 15-23.
7. Sarasin-Filipowicz M, Oakeley EJ, Duong FH, et al. Interferon signaling and treatment outcome in chronic hepatitis C. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 7034-9.
8. Gringeri A, Musicco M, Hermans P, et al. Active anti-interferon-alpha immunization: a European-Israeli, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial in 242 HIV-1--infected patients (the EURIS study). *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1999 ; 20 : 358-70.
9. Sedaghat AR, German J, Teslovich TM, et al. Chronic CD4+ T-cell activation and depletion in human immunodeficiency virus type 1 infection: type I interferon-mediated disruption of T-cell dynamics. *J Virol* 2008 ; 82 : 1870-83.
10. Petri M, Wallace DJ, Spindler A, et al. Sifalimumab, a human anti-interferon- $\alpha$  monoclonal antibody, in systemic lupus erythematosus: a phase I randomized, controlled, dose-escalation study. *Arthritis Rheum* 2013 ; 65 : 1011-21.
11. McBride JM, Jiang J, Abbas AR, et al. Safety and pharmacodynamics of rontalizumab in patients with systemic lupus erythematosus: results of a phase I, placebo-controlled, double-blind, dose-escalation study. *Arthritis Rheum* 2012 ; 64 : 3666-76.
12. Tcherepanova I, Curtis M, Sale M, et al. Results of a randomized placebo controlled phase study of AGS-009, a humanized anti-interferon- $\alpha$  monoclonal antibody in subjects with systemic lupus erythematosus. Berlin : Annual European Congress on Rheumatology-EULAR, 2012.
13. Wang B, Higgs BW, Chang L, et al. Pharmacogenomics and translational simulations to bridge indications for an anti-interferon- $\alpha$  receptor antibody. *Clin Pharmacol Ther* 2013 ; 93 : 483-92.
14. Terrier B, Mouthon L. Lupus érythémateux systémique. Traitements par anticorps monoclonaux et molécules recombinantes. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 65-73.
15. Higgs BW, Zhu W, Morehouse C, et al. A phase Ib clinical trial evaluating sifalimumab, an anti-IFN- $\alpha$  monoclonal antibody, shows target neutralisation of a type I IFN signature in blood of dermatomyositis and polymyositis patients. *Ann Rheum Dis*. 2013 (sous presse).
16. Lauwerys BR, Hachulla E, Spertini F, et al. Down-regulation of interferon signature in systemic lupus erythematosus patients by active immunization with interferon  $\alpha$ -kinoid. *Arthritis Rheum* 2013 ; 65 : 447-56.
17. Bensussan A, Bizzini B, Pouletty P, Gallo R, Zagury D. Les kinoides. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 306-13.

## NOUVELLE

### Régulation de l'autophagie par la leucine

#### Sur la piste de la glutamate déshydrogénase

Séverine Lorin

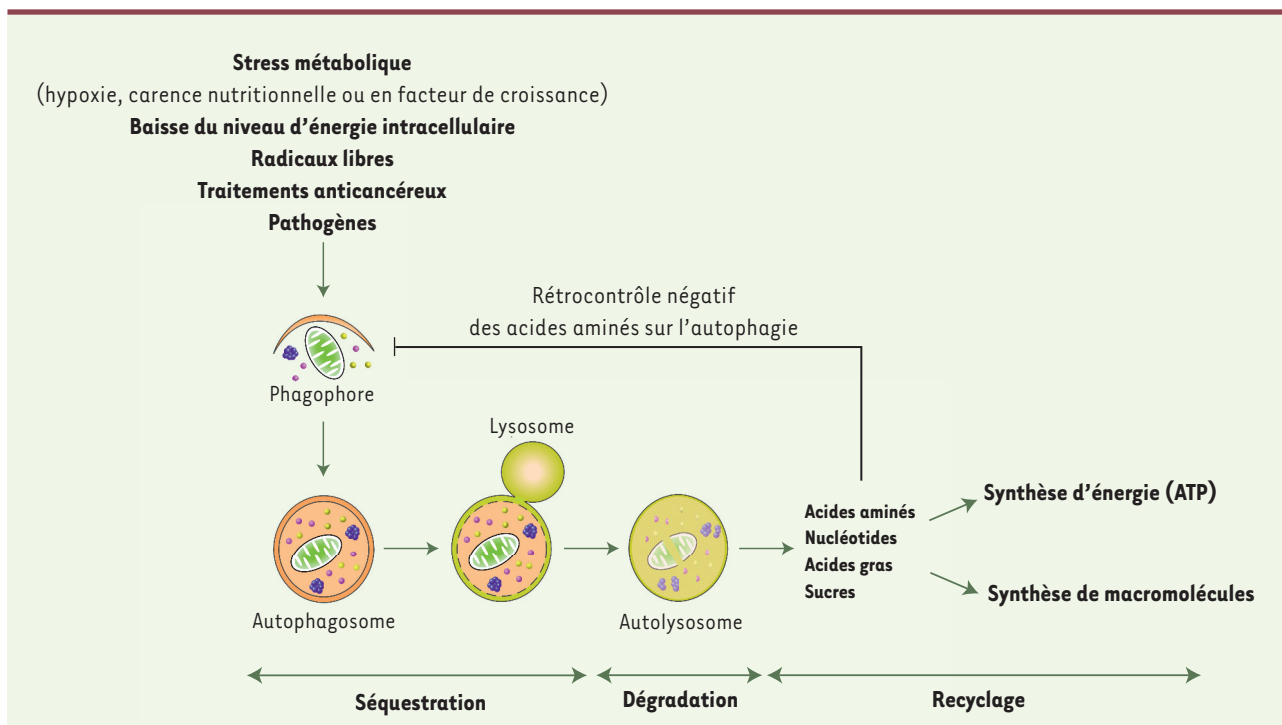
EA4530, faculté de pharmacie, université Paris-Sud, 5, rue Jean-Baptiste Clément, 92290 Châtenay-Malabry, France. [severine.lorin@u-psud.fr](mailto:severine.lorin@u-psud.fr)

#### Aperçu du rôle de l'autophagie et de sa régulation

La (macro)autophagie est la voie principale de dégradation du matériel cytoplasmique intracellulaire [1]. Ce processus, sous le contrôle des gènes de la famille *ATG* (*autophagy-related gene*), conduit à la formation de vacuoles appelées autophagosomes qui séquestrent du matériel cytoplasmique, puis fusionnent avec les lysosomes pour dégrader leur contenu et le recycler (Figure 1). Au niveau basal, l'autophagie est un mécanisme clé qui permet la dégradation de protéines et d'organites excédentaires

ou endommagés, afin d'assurer un contrôle de qualité du cytoplasme et de contribuer à l'homéostasie cellulaire. Mais l'autophagie peut aussi être stimulée en conditions de stress métabolique pour fournir les nutriments et l'énergie nécessaires à la survie cellulaire. Ainsi, en conditions de carence nutritionnelle, les acides aminés produits par la protéolyse autophagique sont recyclés, permettant la production d'ATP afin d'assurer la survie cellulaire. Mais ces acides aminés exercent aussi un rétrocontrôle négatif sur l'autophagie, évitant tout emballement délétère de la machinerie

autophagique. Outre les acides aminés, l'autophagie est régulée par différents paramètres cellulaires comme le niveau d'énergie, de facteurs de croissance ou de radicaux libres. La plupart de ces signaux convergent vers un acteur central de la régulation de l'autophagie, le complexe MTORC1 (*mechanistic target of rapamycin complex 1*), constitué de la kinase à sérine thréonine MTOR et de divers partenaires protéiques. Pour être actif, ce complexe doit se localiser à la surface du lysosome où se trouve son coactivateur Rheb (*Ras homolog enriched in brain*)-GTP, et ce processus est étroitement régulé par



**Figure 1. Schéma simplifié du processus d'autophagie.** L'autophagie (ou plus précisément la macroautophagie) existe dans l'ensemble des cellules à un niveau basal, permettant ainsi de maintenir l'homéostasie cellulaire. Mais l'autophagie peut aussi être induite par de multiples stimulus comme un stress métabolique, une baisse du niveau d'énergie intracellulaire, les radicaux libres, les traitements anticancéreux, la présence de pathogènes, etc. La première étape du processus d'autophagie est la formation d'une petite membrane dans le cytosol, appelée phagophore. Cette membrane s'allonge, séquestre le matériel cytoplasmique à dégrader (macromolécules, agrégats protéiques, organites cellulaires), puis se referme pour former une vésicule à double membrane : l'autophagosome. Après fusion avec le lysosome, le contenu de l'autophagosome est dégradé par les hydrolases lysosomales. Les produits de dégradation résultants (acides aminés, nucléotides, acides gras, sucres) sont exportés dans le cytosol où ils sont utilisés pour la synthèse d'énergie sous forme d'ATP et/ou pour la synthèse de nouvelles macromolécules. Tout ceci permet à la cellule de s'adapter et de survivre en conditions de stress, comme la carence nutritionnelle. Les acides aminés résultant de la protéolyse autophagique exercent un rétrocontrôle négatif sur l'autophagie, afin d'éviter tout emballement incontrôlé de ce processus qui serait potentiellement dangereux.

les GTPases Rag (*Ras-related GTPases*) (Figure 2). Une fois activé, le complexe MTORC1 inhibe l'autophagie et augmente la synthèse protéique et la croissance cellulaire.

### À la recherche du senseur intracellulaire des acides aminés régulant l'autophagie : la glutamate déshydrogénase

Depuis la découverte du contrôle de l'autophagie par les acides aminés dans les années 1980, la nature du senseur intracellulaire responsable de cette régulation est restée une énigme. Parmi l'ensemble des acides aminés, la leucine (et non la valine et l'isoleucine, autres acides aminés branchés) semble avoir une place particulière puisque c'est elle qui

inhibe le plus efficacement l'autophagie, notamment via l'activation de MTORC1. Par ailleurs, des analogues non métabolisables sont capables de reproduire ses effets, suggérant que la leucine n'a pas besoin d'être métabolisée pour inhiber l'autophagie. Tout mécanisme envisagé dans la recherche de ce fameux senseur intracellulaire devait donc prendre en compte cette haute spécificité de la leucine dans la régulation de l'autophagie par les acides aminés.

Plusieurs arguments nous ont conduits à envisager l'implication de la glutamate déshydrogénase GLUD1 dans ce mécanisme. GLUD1 est une enzyme centrale du métabolisme des acides aminés, responsable de la déshydrogénation du glutamate en  $\alpha$ -céto glutarate ( $\alpha$ -KG) dans

la mitochondrie. De façon intéressante, la leucine est un activateur allostérique de cette enzyme [2]. Par ailleurs, l'ajout de glutamine (un donneur de glutamate) et de leucine conduit à l'augmentation du flux métabolique à travers la réaction catalysée par GLUD1, à l'activation de MTORC1 et à l'inhibition de l'autophagie [3]. Sur la base de ces observations, nous avons décidé d'étudier plus avant le rôle de GLUD1. Nous avons ainsi montré que GLUD1 constitue bien ce senseur moléculaire du taux de leucine intracellulaire régulant l'autophagie, GLUD1 étant indispensable pour inhiber l'autophagie en présence de leucine [4].

Les mécanismes moléculaires mis en jeu dans cette régulation sont de deux types (Figure 2). D'une part, GLUD1 contrôle le



taux de radicaux libres (ROS), des activateurs bien connus de l'autophagie. Produits majoritairement au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale, ils permettent l'induction de l'autophagie par la carence nutritionnelle en augmentant l'état d'oxydoréduction d'ATG4B, une protéine impliquée dans la formation des autophagosomes [5]. Lors de la déshydrogénation du glutamate en  $\alpha$ -KG, GLUD1 génère un puissant anti-oxydant, le NADPH, qui pourrait être utilisé pour diminuer le taux de ROS via le système glutathion/glutathion réductase et/ou limiter la production de ROS au niveau du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale (via la Nnt [nicotinamide nucleotide transhydrogenase]) [6]. D'autre part, GLUD1 contrôle l'autophagie en activant MTORC1 par divers mécanismes impliquant l' $\alpha$ -KG (Figure 2). En effet, après « métabolisation » par le cycle de Krebs, l' $\alpha$ -KG libère du GTP et de l'ATP. Le GTP est utilisé pour activer Rag [7], mais il est aussi utilisé pour activer Rheb, tandis que l'ATP inhibe l'AMPK (AMP kinase). L' $\alpha$ -KG stimule aussi MTORC1 par l'activation des prolyl hydroxylases (PHD) [8].

### Autres mécanismes mis en évidence

Parallèlement à ce travail, deux autres mécanismes permettant de réguler l'autophagie en réponse au taux d'acides aminés disponibles ont été mis en évidence. Le premier met en jeu la v-ATPase du lysosome, organelle où s'effectue l'étape ultime de la protéolyse autophagique [9]. Impliquée dans le pompage des protons  $H^+$  à travers la membrane lysosomale, cette enzyme agit comme un senseur de la concentration intralysosomale en acides aminés et régule l'activité de MTORC1 (Figure 2). En effet, suite à l'augmentation de la concentration en acides aminés dans la lumière du lysosome, la v-ATPase change de conformation et recrute Ragulator à la surface du lysosome. Cette protéine, en jouant le rôle de GEF (GTP exchange factor) envers l'une des sous-unités de

la GTPase Rag, permet son ancrage au lysosome, le recrutement consécutif de MTORC1 et l'inhibition de l'autophagie. Le second mécanisme implique la leucyl-ARNt synthétase (LARS) (Figure 2) [10]. Connue pour être impliquée dans le chargement de la leucine sur l'ARNt correspondant, cette enzyme peut aussi jouer le rôle de senseur du taux de leucine cytosolique. En effet, la liaison de la leucine à LARS lui confère une nouvelle propriété : elle devient une GAP (GTPase activating protein) de la GTPase Rag, permettant l'hydrolyse du GTP sur l'une de ses sous-unités et son activation. Comme précédemment, Rag conduit à l'activation du complexe MTORC1 et à l'inhibition de l'autophagie.

### Pour conclure

À l'heure actuelle, trois mécanismes ont été identifiés comme impliqués dans la régulation de l'autophagie en réponse au taux d'acides aminés intracellulaires : tous trois conduisent à l'activation de MTORC1 et deux d'entre eux ciblent spécifiquement la leucine. L'une des questions intéressantes à explorer est maintenant de déterminer comment ces différents mécanismes s'organisent les uns par rapport aux autres : sont-ils indépendants ou bien sont-ils reliés ? Il est notamment possible d'envisager que la v-ATPase et/ou LARS soient inhibées par les ROS, ce qui situerait GLUD1 en amont de ces deux voies de régulation, le NADPH produit par GLUD1 (après exportation de la mitochondrie par la navette isocitrate/ $\alpha$ -KG) pouvant diminuer leur taux d'oxydation (Figure 2). Tous ces travaux mettent en évidence un lien étroit entre métabolisme cellulaire et signalisation, et ouvrent la porte à de nouvelles perspectives thérapeutiques. En effet, MTORC1 est surexprimé dans de nombreux cancers, et les cellules cancéreuses sont extrêmement dépendantes de la glutamine, bien au-delà de leurs besoins énergétiques. Dans les cellules cancéreuses, la glutamine (transformée en glutamate, puis en  $\alpha$ -KG et NADPH par la

glutaminolyse) permettrait une activation optimale de MTORC1 dans le but d'assurer une croissance tumorale soutenue. En parallèle, l'inhibition de l'autophagie par MTORC1 éviterait toute surproduction inutile d'énergie [8]. Ainsi, cibler l'inhibition de MTORC1 par la rapamycine et/ou la glutaminolyse pourrait être une stratégie anticancéreuse prometteuse.  $\diamond$

### Leucine sensing in the regulation of autophagy: glutamate dehydrogenase is on the way

### REMERCIEMENTS

Ce travail a été soutenu financièrement par l'Inserm. Je tiens tout particulièrement à remercier P. Codogno et A.J. Meijer, à qui revient la paternité de ce projet, pour leur soutien et leurs conseils tout au long de ce travail.

### LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

### RÉFÉRENCES

1. Meijer AJ, Codogno P. Autophagy: regulation and role in disease. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2009 ; 46 : 210-40.
2. Fahien LA, Teller JK, Macdonald MJ, et al. Regulation of glutamate dehydrogenase by  $Mg^{2+}$  and magnification of leucine activation by  $Mg^{2+}$ . *Mol Pharmacol* 1990 ; 37 : 943-9.
3. Caro LH, Plomp PJ, Lelverre XM, et al. A combination of intracellular leucine with either glutamate or aspartate inhibits autophagic proteolysis in isolated rat hepatocytes. *Eur J Biochem* 1989 ; 181 : 717-20.
4. Lorin S, Tol MJ, Bauvy C, et al. Glutamate dehydrogenase contributes to leucine sensing in the regulation of autophagy. *Autophagy* 2013 ; 9 : 850-60.
5. Scherz-Shouval R, Shvets E, Fass E, et al. Reactive oxygen species are essential for autophagy and specifically regulate the activity of Atg4. *EMBO J* 2007 ; 26 : 1749-60.
6. Albracht SP, Meijer AJ, Rydstrom J. Mammalian NADH:ubiquinone oxidoreductase (complex I) and nicotinamide nucleotide transhydrogenase (Nnt) together regulate the mitochondrial production of HO-implications for their role in disease, especially cancer. *J Bioenerg Biomembr* 2011 ; 43 : 541-64.
7. Duran RV, Opliglier W, Robitaille AM, et al. Glutaminolysis activates Rag-mTORC1 signaling. *Mol Cell* 2012 ; 47 : 349-58.
8. Duran RV, Hall MN. Glutaminolysis feeds mTORC1. *Cell Cycle* 2012 ; 11 : 1-2.
9. Zoncu R, Bar-Peled L, Efeyan A, Wang S, et al. mTORC1 senses lysosomal amino acids through an inside-out mechanism that requires the vacuolar H-ATPase. *Science* 2011 ; 334 : 678-83.
10. Han JM, Jeong SJ, Park MC, et al. Leucyl-tRNA Synthetase is an intracellular leucine sensor for the mTORC1-signaling pathway. *Cell* 2012 ; 149 : 410-24.