montré dans différents types cellulaires pulmonaires (cellules épithéliales, fibroblastes, macrophages) de même qu'après exposition pulmonaire de souris, ou de rats, à des NP, d'oxydes métalliques ou carbonées (noir de carbone, nanotubes de carbone), majoritairement, mais aussi à des dendrimères ou encore des nano-oxydes de terre rare [9]. Cependant, de plus en plus d'études plus récentes, fondées sur une analyse détaillée de l'autophagie, montrent en fait que l'accumulation des vacuoles autophagiques observée pourrait être liée, au moins pour certaines NP, à une altération du processus autophagique probablement du fait de l'interaction des NP avec les lysosomes qui entraîne leur dysfonctionnement et une altération de leur fusion avec les autophagosomes.

Il est clair que le rôle exact de l'autophagie dans la réponse pulmonaire aux NP reste à être élucidé, mais les données actuelles suggèrent que certaines de ces NP pourraient être utilisées dans le contexte de la nanomédecine, afin de

moduler l'autophagie. Les NP représentent ainsi un outil thérapeutique particulièrement novateur et prometteur [10].

L'autophagie semble être impliquée dans la pathogenèse de nombreux modèles pré-cliniques de pathologies pulmonaires. Elle semble potentiellement régulée dans différentes réponses pathologiques pulmonaires (Figure 1). Cependant, une meilleure compréhension de la dualité du rôle de l'autophagie (sélective) permettrait la mise en évidence de mécanismes physiopathologiques représentant potentiellement de nouvelles cibles thérapeutiques. ♦

Implication of autophagy in lung diseases and response to nanoparticles

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Eriksson S. Pulmonary emphysema and alpha1-antitrypsin deficiency. *Acta Med Scand* 1964 ; 175 : 197-205.

2. Mizumura K, Cloonan S, Choi ME, et al. Autophagy: friend or foe in lung disease? *Ann Am Thorac Soc* 2016 ; 13 (suppl 1) : S40-7.
3. Haspel JA, Choi AM. Autophagy: a core cellular process with emerging links to pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2011 ; 184 : 1237-46.
4. Lange P, Halpin DM, O'Donnell DE, MacNee W. Diagnosis, assessment, and phenotyping of COPD: beyond FEV1. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2016 ; 11 (special issue) : 3-12.
5. Nakahira K, Pabon Porras MA, Choi AMK. Autophagy in Pulmonary Diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2016 ; 194 : 1196-207.
6. Kulkarni T, O'Reilly P, Antony VB, et al. Matrix remodeling in pulmonary fibrosis and emphysema. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2016 ; 54 : 751-60.
7. Boczkowski J, Lanone S. Respiratory toxicities of nanomaterials: a focus on carbon nanotubes. *Adv Drug Deliv Rev* 2012 ; 64 : 1694-9.
8. Lanone S, Andujar P, Kermanizadeh A, Boczkowski J. Determinants of carbon nanotube toxicity. *Adv Drug Deliv Rev* 2013 ; 65 : 2063-9.
9. Cohignac V, Landry MJ, Boczkowski J, Lanone S. Autophagy as a possible underlying mechanism of nanomaterial toxicity. *Nanomaterials* 2014 ; 4 : 548-82.
10. Peynshaert K, Manshian BB, Joris F, et al. Exploiting intrinsic nanoparticle toxicity: the pros and cons of nanoparticle-induced autophagy in biomedical research. *Chem Rev* 2014 ; 114 : 7581-609.
11. Vigie P, Camougrand N. Mitophagie et contrôle qualité des mitochondries. *Med Sci (Paris)* 2017 ; 33 : 231-7.

NOUVELLE

L'autophagie, acteur clé de la leucémogénèse et cible thérapeutique dans les hémopathies malignes

Arnaud Jacquiel, Frédéric Luciano, Alexandre Puissant, Guillaume Robert, Patrick Auberger

Insert U1065 (C3M),
Université Nice Côte d'Azur,
Hôpital de l'Archet, bâtiment Archimed,
151 route de St-Antoine de Ginestière,
06204 Nice, France.
patrick.auberger@unice.fr

Autophagie et homéostasie des cellules souches hématopoïétiques

Les progrès récents dans l'identification du statut mutationnel des hémopathies malignes ont permis la mise en évidence de nouvelles altérations des voies métaboliques et de signalisation impliquées dans la leucémogénèse. Dans ce contexte, l'autophagie est devenue un domaine d'investigation majeur pour

son rôle dans la progression et la résistance des leucémies aux thérapies anticancéreuses [15] (→).

L'autophagie est un mécanisme adaptatif de recyclage de macromolécules ou d'organelles endommagées dans des conditions de stress cellulaire. Elle est impliquée dans des processus physiolo-

(→) Voir la Synthèse de C. Joffre et al., page 328 de ce numéro

giques tels que l'homéostasie et la différenciation des cellules souches hématopoïétiques (CSH) et la balance survie/mort cellulaire, fonctions intimement liées à la tumorigénèse. Dans des conditions de stress, ou lors d'une chimiothérapie, l'autophagie induit la nucléation de novo d'une vésicule, le phagophore dont les extrémités se joignent pour former un autophagosome, organe

délimité par une double membrane séquestrant les constituants cytoplasmiques à dégrader. L'autophagosome fusionne ensuite avec un lysosome qui délivre les hydrolases nécessaires à la dégradation du contenu de l'autolysosome ainsi généré (Figure 1). La biogenèse de l'autophagosome dépend de la mise en place de complexes protéiques composés de protéines ATG (*autophagy related*) qui se lient successivement et transitoirement à la membrane de l'autophagosome. La biogenèse du phagophore nécessite notamment la sérine/thréonine kinase ULK1 (*Unc-51-like autophagy-activating kinase 1*) et les protéines ATG13, FIP200 (*FAK family kinase-interacting protein of 200 kDa*) et ATG101. La nucléation du phagophore requiert le complexe ATG6/Beclin-1/ATG14L/VPS34 ou PI3KCIII (*class III phosphoinositide 3-kinase*)/VPS15. L'élongation et la fermeture de l'autophagosome requièrent pour leur part deux systèmes de conjugaison ATG5-ATG12 et ATG8/MAP1LC3 (*microtubule-associated proteins 1A/1B light chain 3*) (Figure 1). En plus de son rôle dans le recyclage de macromolécules, l'autophagie participe à des fonctions physiologiques cruciales telles que l'homéostasie des CSH, la différenciation, la mort, la survie, le cycle cellulaire et le contrôle de la qualité des macromolécules et des organelles intracellulaires, pour ne citer que quelques exemples. Cette pléiade de fonctions rend très certainement compte du rôle clé de ce processus dans la leucémogénèse et dans la résistance des leucémies aux chimiothérapies.

Autophagie et leucémogénèse

L'autophagie est requise pour le maintien des CSH murines. La délétion de *FIP200*, d'*ATG7* ou d'*ATG5* altère le potentiel de survie et la transplantabilité des CSH. Les cellules Lin-Sca1⁺-Kit issues de souris dont le gène *ATG7* a été invalidé conditionnellement (*Vav-ATG7^{-/-}*) présentent un avantage prolifératif, responsable d'un phénotype pré-leucémique [1]. Par ailleurs, la perte d'hétérozygotie d'*ATG5*

favorise la progression tumorale dans un modèle murin de leucémie aiguë myéloïde (LAM) dépendant de la protéine de fusion MLL-ENL¹ [2]. Ces observations attestent que l'inhibition de l'autophagie participe à la leucémogénèse. La dégradation par autophagie de NOTCH-IC, la forme active intracellulaire libre de NOTCH, pourrait rendre compte au moins en partie des défauts de fonctionnalité des CSH [3]. Ainsi, les cellules de moelle osseuse des souris *Vav-ATG7^{-/-}* présentent des taux accrus de NOTCH-IC et l'altération de *Notch*, dans un contexte de déficience en autophagie, restaure la capacité de différenciation des CSH [4]. Ces résultats montrent que l'activation de l'autophagie module des voies de signalisation impliquées dans la prolifération et la différenciation des CSH et que des altérations de ce processus sont susceptibles de faire basculer les CSH d'un statut normal à un statut pré-leucémique. De fait, le profil d'expression de certains gènes *ATG* se retrouve modulé dans les blastes de patients atteints de LAM et représente un marqueur prédictif de survie globale. Ainsi, l'expression de *WIPI-1* (*WD repeat domain phosphoinositide-interacting protein 1*), un gène impliqué dans la nucléation du phagophore, est réduite dans les blastes d'une cohorte de patients atteints de LAM par rapport à des donneurs sains. Par ailleurs, de nombreux gènes clés de l'autophagie sont localisés au sein de régions communément délétées dans les LAM. Ainsi, l'expression d'*ATG12* est diminuée chez les patients atteints de LAM *de novo*. L'expression de *GABARAPL1* et 2 (*GABA[*type A*] receptor-associated protein 1/2*) et de *MAP1LC3B* est réduite dans les blastes de LAM par rapport à la même population myéloïde issue de donneurs sains, ainsi que dans ceux de patients porteurs des translocations *AML1* (*acute myelogenous leukemia 1*)-*ETO* (ou *RUNX1T1* [*RUNX1 translocation partner 1*]) et *PML* (*promyelocytic leukemia*)-*RARA* (récepteur

alpha de l'acide rétinoïque). *A contrario*, bien que l'inhibition de l'autophagie accélère le développement des LAM, la délétion d'*ATG7* ou d'*ATG4B* altère la viabilité des cellules souches de leucémie myéloïde chronique (LMC) [5, 6]. De plus, l'expression de 5 gènes, *ATG4A*, *ATG4B*, *ATG4C*, *ATG5*, et *BECLIN-1*, est augmentée dans ces cellules par rapport aux cellules souches normales, confirmant un rôle différent de l'autophagie entre les LAM et la LMC. Ce paradoxe apparent pourrait trouver son explication dans l'origine de la cellule souche affectée, le moteur de la transformation oncogénique, et le stade de la leucémie (initiation ou progression).

Autophagie et dégradation de protéines de fusion associées aux leucémies

Une autre spécificité de l'autophagie est la dégradation des protéines codées par des translocations spécifiques des leucémies [7, 8]. L'inhibition de l'autophagie permettrait ainsi la stabilisation de ces protéines de fusion oncogéniques. L'acide rétinoïque (ATRA), seul ou en combinaison avec le trioxido d'arsenic (ATO), restaure la différenciation des cellules de leucémie promyélocytaire (LAM3) porteuses de la translocation *PML-RARA* [8]. La rémission complète des LAM3 nécessite la dégradation totale de *PML-RARA*, un processus dépendant de l'autophagie. Un mécanisme identique sous-tend la dégradation de *BCR-ABL*, sous l'action de l'ATO, dans la LMC. En effet, dans ce contexte, la protéine de fusion *BCR-ABL* est prise en charge par P62SQSTM1 (séquestosome-1), ce qui favorise sa dégradation par autophagie. Une forme constitutivement active de *FLT3* (*fms-like tyrosine kinase 3*), *FLT3-ITD* (présentant une duplication en tandem interne dans son domaine juxta-membranaire) retrouvée dans 30 % des LAM est également dégradée par autophagie en réponse au bortezomib (Btz), un inhibiteur du protéasome [9]. Finalement, certaines protéines impliquées dans la leucémogénèse sont également catabolisées par une forme très sélective d'autophagie, l'autophagie relayée par les chaperonnes

¹ Fusion entre MLL (*mixed-lineage leukemia*) et ENL aussi appelé MLLT1 (*super elongation complex subunit*).

(ou CMA). C'est le cas notamment de la protéine MLT11 (*myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia ; translocated to, 11* ; ou AF1Q), impliquée dans la translocation t(1 ; 11) dans les LAM [10].

Ciblage de l'autophagie dans les hémopathies malignes

Dès lors que l'autophagie favorise la leucémogénèse et la résistance aux traitements, il est rapidement apparu que son ciblage pouvait représenter une option thérapeutique pertinente dans certaines hémopathies malignes. Nous aborderons, à titre d'exemple, les hémopathies myéloïdes et les hémopathies B.

Les hémopathies myéloïdes

Le traitement conventionnel des LAM est la combinaison anthracyclines/cytarabine. La cytarabine induit une autophagie cytoprotectrice dans les blastes de LAM sans altérer les leucocytes normaux. L'hydroxychloroquine, un inhibiteur de l'autophagie, induit la mort de lignées cellulaires résistantes à la cytarabine sans affecter les lignées sensibles, confirmant que l'activation de l'autophagie est un des mécanismes de résistance à cette drogue. En conséquence, l'inhibition de l'autophagie, par la bafilomycine A1 (BafA1) ou par la chloroquine, augmente la cytotoxicité de la cytarabine dans les cellules de LAM [11]. S100A8, un membre de la famille des protéines S100 liant le calcium, joue un rôle important dans la résistance aux drogues reposant sur l'autophagie dans les LAM. S100A8 est surexprimée dans les lignées leucémiques résistantes. En interagissant avec Beclin-1, elle favorise la formation du complexe Beclin-1/VPS34, activant ainsi l'autophagie. L'inhibition de S100A8 bloque l'autophagie et augmente la sensibilité des cellules leucémiques à l'arsenic trioxide (ATO) [12]. Finalement, le blocage de la voie Hedgehog² déclenche l'autophagie dans

² La voie de signalisation hedgehog intervient dans la mise en place des organes durant le développement embryonnaire. Elle est impliquée dans plusieurs cancers.

Figure 1. Des altérations de l'autophagie peuvent favoriser la leucémogénèse. Une autophagie fonctionnelle est requise pour la différenciation physiologique des CSH et la production des différents lignages hématopoïétiques. Des déficits du processus autophagique sont à l'origine d'une accumulation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de dommages à l'ADN, propices à la transition des CSH d'un état normal à un état pré-leucémique. Dans un second temps, l'accumulation de mutations, l'activation de différentes voies de survie et la stabilisation de protéines de fusion contribuent à la progression leucémique. Dans le cas de la leucémie promyélocytaire et de la leucémie myéloïde chronique, les traitements ciblés vont activer l'autophagie qui participe à la dégradation des protéines de fusion, conduisant à une restauration de la différenciation myéloïde. CSH : cellule souche hématopoïétique ; LMC : leucémie myéloïde chronique ; PML : leucémie promyélocytaire ; PM : leucémie aigüe myéloïde ; RARα : rétinol acid receptor alpha ; ATRA : acide tout-trans rétinolique ; Abi : Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1 ; Bcr : breakpoint cluster region protein.

les cellules de LMC. L'inhibition combinée de l'autophagie et de la voie Hedgehog favorise ainsi la mort des cellules de LMC sensibles ou résistantes à l'imatinib [13].

Les hémopathies B

Le bortezomib, inhibiteur du protéasome, est très efficace pour éliminer les cellules de leucémies aiguës lymphoblastiques B (LAL-B) et accroît leur sensibilité aux chimiothérapies conventionnelles. Il favorise la formation du complexe Beclin-1/VPS34, ce qui contribue à activer l'autophagie. À l'inverse, l'inhibition de l'autophagie augmente fortement son effet anti-leucémique dans les LAL-B. Dans le myélome multiple (MM), il induit l'accumulation d'agrégats protéiques ; le stress du réticulum endoplasmique qui s'en suit, active l'UPR (*unfolded protein response*) et l'autophagie, comme mécanismes compensatoires, afin de restaurer l'homéostasie protéique. Un criblage à grande échelle a établi que la metformine, un agent anti-diabétique, inhibe l'autophagie induite par le bortezomib et augmente l'effet anti-myélome de ce médicament, confirmant la pertinence thérapeutique de cibler simultanément les voies du protéasome et de l'autophagie dans le MM [14].

Conclusions

En dépit du rôle versatile de l'autophagie dans la tumorigénèse, son

inhibition s'avère de plus en plus une option thérapeutique pertinente afin d'améliorer l'efficacité des protocoles anti-leucémiques. La chloroquine et l'hydroxychloroquine sont actuellement testées dans une quarantaine d'essais cliniques dans les tumeurs solides et hématopoïétiques. Plusieurs études cliniques évaluent actuellement l'effet de l'hydroxychloroquine en association avec la mitoxantrone et l'étoposide, dans les LAM (NCT02631252), avec l'imatinib, dans la LMC (NCT01227135), et avec le bortezomib, dans le MM (NCT00568880). Les effets de la chloroquine et de l'hydroxychloroquine étant probablement beaucoup plus larges que la simple inhibition de l'autophagie, les futurs essais cliniques devront intégrer des inhibiteurs plus sélectifs de l'autophagie afin de confirmer le bénéfice du ciblage de ce processus pour le traitement des hémopathies malignes. ♦

Autophagy, a key player in leukemogenesis and a therapeutic target in hematopoietic malignancies

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Liu F, Lee JY, Wei H, et al. FIP200 is required for the cell-autonomous maintenance of fetal hematopoietic stem cells. *Blood* 2010 ; 116 : 4806-14.
2. Mortensen M, Soilleux EJ, Djordjevic G, et al. The autophagy protein Atg7 is essential for hematopoietic stem cell maintenance. *J Exp Med* 2011 ; 208 : 455-67.

3. Cao Y, Cai J, Zhang S, et al. Autophagy sustains hematopoiesis through targeting notch. *Stem Cells Dev* 2015 ; 24 : 2660-73.
4. Brigger D, Proikas-Cezanne T, Tschan MP, et al. WIP1-dependent autophagy during neutrophil differentiation of NB4 acute promyelocytic leukemia cells. *Cell Death Dis* 2014 ; 5 : e1315.
5. Karvela M, Baquero P, Kuntz EM, et al. ATG7 regulates energy metabolism, differentiation and survival of Philadelphia-chromosome-positive cells. *Autophagy* 2016 ; 12 : 936-48.
6. Rothe K, Lin H, Lin KB, et al. The core autophagy protein ATG4B is a potential biomarker and therapeutic target in CML stem/progenitor cells. *Blood* 2014 ; 123 : 3622-34.
7. Isakson P, Björas M, Boe SO, Simonsen A. Autophagy contributes to therapy-induced degradation of the PML/RARA oncoprotein. *Blood* 2010 ; 116 : 2324-31.
8. Goussetis DJ, Gounaris E, Wu EJ, et al. Autophagic degradation of the BCR-ABL oncoprotein and generation of antileukemic responses by arsenic trioxide. *Blood* 2012 ; 120 : 3555-62.
9. Larrue C, Saland E, Boutzen H, et al. Proteasome inhibitors induce FLT3-ITD degradation through autophagy in AML cells. *Blood* 2016 ; 127 : 882-92.
10. Li P, Ji M, Lu F, et al. Degradation of AF1Q by chaperone-mediated autophagy. *Exp Cell Res* 2014 ; 327 : 48-56.
11. Palmeira dos Santos C, Pereira GJ, Barbosa CM, et al. Comparative study of autophagy inhibition by 3MA and CQ on Cytarabine induced death of leukaemia cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 2014 ; 140 : 909-20.
12. Yang M, Zeng P, Kang R, et al. S100A8 contributes to drug resistance by promoting autophagy in leukemia cells. *PLoS One* 2014 ; 9 : e97242.
13. Zeng X, Zhao H, Li Y, et al. Targeting Hedgehog signaling pathway and autophagy overcomes drug resistance of BCR-ABL-positive chronic myeloid leukemia. *Autophagy* 2015 ; 11 : 355-72.
14. Jagannathan S, Abdel-Malek MA, Malek E, et al. Pharmacologic screens reveal metformin that suppresses GRP78-dependent autophagy to enhance the anti-myeloma effect of bortezomib. *Leukemia* 2015 ; 29 : 2184-91.
15. Joffe C, Djavaheri-Mergny M, Pattingre S, Giuriato S. L'autophagie : le yin et le yang des cancers. *Med Sci (Paris)* 2017, 33 : 328-34.

LA FONDATION PREMUP : UN OPÉRATEUR DE TERRAIN EN PÉRINATALITÉ RECONNU POUR SON EXCELLENCE ET SON INTERDISCIPLINARITÉ

La Fondation de coopération scientifique PremUp, unique en Europe, intervient sur la prévention du handicap à la naissance, par la protection de la santé de la femme enceinte et du nouveau-né.

FONDATION DE COOPÉRATION SCIENTIFIQUE SUR LA GROSSESSE ET LA PRÉMATURITÉ