

FUNDC1 promeut la formation de MAM impliquées dans l'angiogenèse

Julie Laplace^{1,2}, Benjamin Bonneau³

¹M1 Biologie-Santé, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay, France.

²DER de Biologie, École Normale Supérieure Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette

³Institut Curie, Orsay, France.

julie.laplace@ens-paris-saclay.fr

benjamin.bonneau@universite-paris-saclay.fr

► Les MAM (*mitochondria-associated membranes*) sont des régions du réticulum endoplasmique (RE) en interaction directe avec des mitochondries. Elles sont impliquées dans divers processus cellulaires, comme le transfert du calcium (Ca^{2+}) entre les deux organites. L'altération des MAM peut entraîner l'apparition de maladies telles que la maladie de Parkinson [1] ou des dysfonctionnements du métabolisme des lipides [2,3]. L'une des protéines impliquées dans la formation des MAM est FUNDC1 (*FUN14 domain-containing 1*), une protéine de la membrane externe mitochondriale impliquée également dans la fission des mitochondries, la mitophagie¹ et la réponse à l'hypoxie [4]. L'équipe de Kai Huang a montré qu'au niveau des MAM, FUNDC1 interagit avec le canal calcique du RE, $\text{IP}_3\text{R2}$ (*inositol trisphosphate receptor type 2*), augmentant ainsi le transfert de Ca^{2+} vers la mitochondrie [5]. Récemment, cette même équipe [6] s'est intéressée à l'angiogenèse, un processus essentiel durant l'embryogenèse mais aussi pour la réparation tissulaire et la croissance tumorale. La fixation du VEGF (*vascular endothelial growth factor*) sur son récepteur VEGFR2 à la surface des cellules endothéliales, induit différentes réponses cellulaires, comme la migration, la prolifération ou la survie, qui sont nécessaires à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de ces cellules [7,8]. Dans cette étude, les auteurs ont utilisé des approches *in vitro*

et *in vivo* afin d'établir un possible lien entre FUNDC1, les MAM et l'angiogenèse.

Le VEGF favorise la formation des MAM

Grâce à des approches de microscopie, les auteurs ont observé dans un premier temps que le VEGF favorise l'association entre le RE et les mitochondries, et donc la formation des MAM dans des cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine (HUVEC). Les chercheurs ont par la suite montré que le VEGF ne modifie pas la quantité totale de FUNDC1 mais, qu'en revanche, il induit son accumulation au niveau des zones de contact entre le RE et les mitochondries. FUNDC1 se trouve donc enrichi au niveau des MAM suite à une stimulation par le VEGF.

FUNDC1 promeut l'angiogenèse

Pour évaluer le lien entre FUNDC1 et l'angiogenèse, les auteurs de l'étude ont analysé *in vitro* la formation de tubes vasculaires par des cellules HUVEC. Ils ont montré que l'inactivation de FUNDC1, via l'utilisation de siRNA dirigé contre son ARNm, diminue significativement la formation des MAM ainsi que la longueur de ces tubes vasculaires. L'implication de FUNDC1 dans l'angiogenèse a également été confirmée *in vivo*, puisque des souris dans lesquelles le gène *Fundc1* a été spécifiquement invalidé dans les cellules endothéliales présentent une vascularisation réduite de la rétine par rapport aux souris contrôles. De plus, afin d'étudier l'angiogenèse tumorale, les chercheurs ont inoculé des cellules de carcinome dans l'abdomen de souris et ont observé une réduction du poids

tumoral et une diminution de l'expression de CD31 (un marqueur d'angiogenèse) chez les souris déficientes en *Fundc1*. L'ensemble de ces résultats suggèrent donc que FUNDC1 promeut l'angiogenèse *in vitro* et *in vivo*.

Les MAM et l'angiogenèse

Comme le VEGF et FUNDC1 favorisent l'angiogenèse et la formation de MAM, les chercheurs se sont ensuite intéressés au rôle des MAM dans l'angiogenèse. Pour cela, ils ont induit leur formation en utilisant, dans des expériences *in vitro* et *in vivo*, un plasmide codant des séquences peptidiques d'adressage aux membranes de la mitochondrie et du RE (dérivées des protéines mAKAP1 et yUBC6 respectivement), ce « linker » synthétique favorisant ainsi l'association entre les deux organites dans les cellules. L'angiogenèse, évaluée grâce aux approches décrites plus haut, est augmentée lors de l'induction de la formation de MAM et est corrélée à une augmentation de l'expression de VEGFR2. Cette augmentation du récepteur dépend de la présence de FUNDC1 puisque l'inactivation de ce dernier empêche l'expression de VEGFR2 induite par la formation des MAM.

FUNDC1 et la signalisation VEGFR2

Les chercheurs se sont donc intéressés au lien entre FUNDC1 et la signalisation VEGFR2. En utilisant des plasmides contenant le gène codant la luciférase sous contrôle du promoteur de *VEGFR2*, ils ont pu identifier la région de ce promoteur impliquée dans la régulation

¹ Forme spécifique d'autophagie permettant à la cellule de dégrader les mitochondries défectueuses.

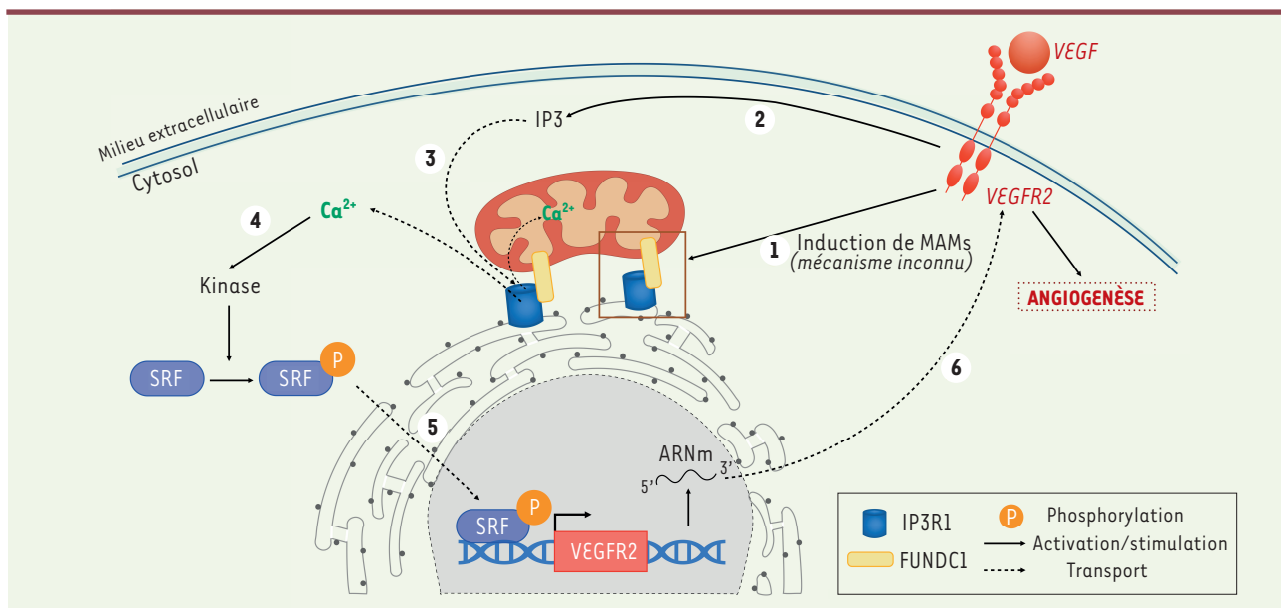


Figure 1. Formation des MAM et activation de l'angiogénèse par le VEGF. L'activation du récepteur VEGFR2 (vascular endothelial growth factor receptor 2) par son ligand favorise d'une part la formation de MAM (mitochondria-associated membranes) via l'interaction entre FUNDC1 (FUN14 domain-containing 1) et IP₃R1 (inositol triphosphate receptor type 1), et permet également d'activer la production de l'IP₃ (inositol triphosphate). IP₃ se fixe sur son récepteur, IP₃R1, présent au niveau du réticulum endoplasmique, et conduit à la libération du Ca²⁺ dans le cytoplasme et la mitochondrie. Ce calcium promeut l'activation de kinases qui phosphorylent SRF (serum response factor). Le facteur phosphorylé est transloqué dans le noyau et se fixe sur le promoteur du gène VEGFR2 permettant l'activation de sa transcription. La surexpression de VEGFR2 favorise ainsi l'angiogénèse.

transcriptionnelle du gène VEGFR2 par FUNDC1. Cette région contient un site de liaison pour SRF (serum response factor), un facteur de transcription dont la phosphorylation activatrice dépend du Ca²⁺. Des expériences de ChIP (chromatin immuno-precipitation) indiquent d'ailleurs que FUNDC1 promeut la liaison de SRF phosphorylé au promoteur de VEGFR2.

De plus, les auteurs ont montré que FUNDC1 favorise le relargage de Ca²⁺ du RE vers le cytoplasme suite à un traitement par le VEGF, permettant ainsi la phosphorylation Ca²⁺-dépendante de SRF et sa liaison au promoteur de VEGFR2 et aboutissant à la surexpression de VEGFR2.

FUNDC1 et le canal calcique IP₃R1

Pour finir, les auteurs ont mis en évidence dans les cellules endothéliales une interaction entre FUNDC1 et IP₃R1 (inositol trisphosphate receptor type 1), le principal canal calcique du RE, qui est

favorisée par un traitement par le VEGF. Cette interaction pourrait expliquer l'effet promoteur de FUNDC1 sur le relargage de Ca²⁺ et *in fine* sur l'expression de VEGFR2. Afin d'étudier cette interaction plus en détail, les auteurs ont conçu un peptide inhibiteur fondé sur le domaine d'IP₃R1 interagissant avec FUNDC1, ce peptide entre donc en compétition avec FUNDC1 pour l'interaction avec IP₃R1, ce qui abolit l'interaction entre les deux partenaires. Le peptide perturbe la formation de MAM, suggérant que l'interaction avec l'IP₃R1 pourrait être à l'origine de l'effet de FUNDC1 sur les MAM. Il diminue également, après une stimulation par le VEGF, le relargage de Ca²⁺ dans le cytosol, le niveau de phosphorylation de SRF et le niveau d'expression de VEGFR2. *In vivo*, ce peptide diminue l'angiogénèse dans les modèles décrits précédemment.

Ces résultats indiquent donc que l'interaction entre FUNDC1 et IP₃R1 promeut l'angiogénèse en favorisant le relargage de Ca²⁺ dans le cytosol.

FUNDC1 et MAM : de nouvelles cibles thérapeutiques ?

Le VEGF, via son interaction avec son récepteur VEGFR2, promeut l'angiogénèse. Dans cette étude, Wang *et al.* montrent que la protéine FUNDC1 favorise ce processus en régulant l'homéostasie calcique au niveau des MAMs (Figure 1). Ainsi, l'activation de VEGFR2, en plus de la production d'IP₃ [11], induit la formation de MAM, probablement en favorisant l'interaction entre FUNDC1 et IP₃R1 (par un mécanisme non décrit ici). Cette interaction augmente alors le relargage de Ca²⁺ induit par la fixation de l'IP₃ sur son récepteur IP₃R1. Ce Ca²⁺ permet ensuite la phosphorylation du facteur de transcription SRF et son action sur le promoteur de VEGFR2. La surexpression de VEGFR2 permet ainsi d'augmenter la réponse des cellules au VEGF. Cette étude met en évidence une boucle de rétrocontrôle positif induisant une amplification de la réponse au VEGF, et donc de l'angiogénèse.

L'effet de FUNDC1 sur le relargage du Ca^{2+} via son interaction avec $\text{IP}_3\text{R1}$ est donc clé dans le processus d'angiogenèse puisqu'il permet d'amplifier ce signal. Ainsi, les chercheurs ont montré qu'un peptide bloquant l'interaction entre FUNDC1 et $\text{IP}_3\text{R1}$ inhibe l'angiogenèse. Ce peptide pourrait représenter une approche thérapeutique anti-tumorale pour empêcher la vascularisation des cellules cancéreuses.

Les MAM favorisent également le passage de Ca^{2+} du RE vers les mitochondries, ce qui stimule certaines fonctions mitochondriales, comme le cycle de Krebs ou la production de ROS [12,13]. Cette production de ROS est favorisée par l'augmentation de la concentration mitochondriale de Ca^{2+} notamment en condition d'hypoxie [12]. Dans cette condition fréquemment observée dans les tumeurs, les ROS mitochondriaux participent à la stabilisation d'HIF-1 α , un facteur de transcription qui active l'expression de VEGF [14]. Les MAM pourraient donc

promouvoir l'angiogenèse tumorale de plusieurs façons. Une meilleure compréhension des mécanismes favorisant leur formation et leur stabilisation permettrait ainsi de découvrir de nouvelles cibles thérapeutiques afin de réduire l'angiogenèse associée à des situations pathologiques. ♦

FUNDC1 promotes the formation of MAMs involved in angiogenesis

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

- Rodríguez-Arribas M, Yakhine-Diop SMS, Bravo-San Pedro JM, et al. Mitochondria-Associated Membranes (MAMs) : Overview and Its Role in Parkinson's Disease. *Mol Neurobiol* 2017 ; 54 : 6287-03.
- Betz C, Stracka D, Prescianotto-Baschong C, et al. mTOR complex 2-Akt signaling at mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes (MAM) regulates mitochondrial physiology. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013 ; 110 : 12526-34.
- Yang M, Li C, Yang S, et al. Mitochondria-Associated ER Membranes — The Origin Site of Autophagy. *Front Cell Dev Biol* 2020 ; 8 : 595.
- Chen M, Chen Z, Wang Y, et al. Mitophagy receptor FUNDC1 regulates mitochondrial dynamics and mitophagy. *Autophagy* 2016 ; 12 : 689-702.
- Wu S, Lu Q, Wang Q, et al. Binding of FUN14 domain containing 1 with inositol 1,4,5- trisphosphate receptor in mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes maintains mitochondrial dynamics and function in hearts in vivo. *Circulation* 2017 ; 136 : 2248 — 66.
- Wang C, Dai X, Wu S, et al. FUNDC1-dependent mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes are involved in angiogenesis and neoangiogenesis. *Nat Commun* 2021 ; 12 : 2616.
- Melinovici C, Bosca A, Susman S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) — key factor in normal and pathological angiogenesis. *Rom J Morphol Embryol* 2018 ; 59, 455 — 467.
- Michael Simons, Emma Gordon et Lena Claesson-Welsh. Mechanisms and regulation of endothelial VEGF receptor signalling, *Nat Rev Mol Cell Biol* 2016 ; 17 : 611-25.
- Wu W, Lin C, Wu K, et al. FUNDC1 regulates mitochondrial dynamics at the ER- mitochondrial contact site under hypoxic conditions. *EMBO J* 2016 ; 35 : 1368 — 84.
- Lertkietmongkol P, Liao D, Mei H, et al. Endothelial functions of PECAM-1 (CD31). *Opin Hematol* 2016 ; 23 : 253-9.
- Wang X, Bove AM, Simone G, Ma B. Molecular bases of VEGFR-2-mediated physiological function and pathological role. *Front Cell Dev Biol* 2020 ; 8 : 599281.
- Paraidathathu T, De Groot H, Kehrer JP. Production of reactive oxygen by mitochondria from normoxic and hypoxic rat heart tissue. *Free Radical Biol Med* 1992 ; 13 : 289-97.
- Brookes PS, Yoon Y, Robotham JL, et al. Calcium, ATP, and ROS : a mitochondrial love-hate triangle. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004 ; 287 : 817-33.
- Reichard A, Asosingh K. The role of mitochondria in angiogenesis. *Mol Biol Rep.* 2019 ; 46 : 1393-400.



Avec m/s, vivez en direct
les progrès et débats
de la biologie et de la médecine

CHAQUE MOIS / AVEC LES ARTICLES DE RÉFÉRENCE DE M/S
CHAQUE JOUR / SUR WWW.MEDECINESCIENCES.ORG

Abonnez-vous sur

www.medecinesciences.org