



sances permettront de développer de nouvelles stratégies de bio-contrôle basées sur la stimulation des défenses naturelles des plantes. Néanmoins, les similitudes des mécanismes de l'immunité entre végétaux et animaux mettent en exergue la nécessité de rester attentifs aux interférences qui pourraient advenir avec la santé des utilisateurs. En effet, l'utilisation de produits stimulant l'immunité des plantes pourrait également induire des réponses inflammatoires chez l'homme. ♦

Fighting bacterial infections : the plant immune system is also very efficient!

LIENS D'INTÉRÊT

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

REMERCIEMENTS

Justine Claverie bénéficie d'une thèse co-financée par l'INRA et le Conseil Régional de Bourgogne, Leny Teyssier bénéficie d'une thèse financée par le Conseil Régional de Bourgogne, dans le cadre du projet FEDER « PHYTOSAFE ». Daphnée Brulé bénéficie d'un financement de l'ANR (projet PATRIC, ANR-13-KBBE-0001).

RÉFÉRENCES

1. Boller T, Felix G. A renaissance of elicitors : perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annu Rev Plant Biol* 2009 ; 60 : 379-406.
2. Jamilloux Y, Henry T. Les inflammasomes : plates-formes de l'immunité innée. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 975-84.
3. Zipfel C. Plant pattern-recognition receptors. *Trends Immunol* 2014 ; 35 : 345-51.
4. Ranf S, Gisch N, Schäffer M, et al. A lectin S-domain receptor kinase mediates lipopolysaccharide sensing in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Immunol* 2015 ; 16 : 426-33.
5. Asai T, Tena G, Plotnikova J, et al. MAP kinase signalling cascade in *Arabidopsis* innate immunity. *Nature* 2002 ; 415 : 977-83.
6. Underwood W. The plant cell wall : a dynamic barrier against pathogen invasion. *Front Plant Sci* 2012 ; 3 : 85.
7. Van Loon LC, Rep M, Pieterse CM. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annu Rev Phytopathol* 2006 ; 44 : 135-62.
8. Fagundes D, Bohn B, Cabreira C, et al. Caspases in plants : metacaspase gene family in plant stress responses. *Funct Integr Genomics* 2015 ; 15 : 639-49.
9. Kazan K, Lyons R. Intervention of phytohormone pathways by pathogen effectors. *Plant Cell* 2014 ; 26 : 2285-309.
10. Asai S, Shirasu K. Plant cells under siege : plant immune system versus pathogen effectors. *Curr Opin Plant Biol* 2015 ; 28 : 1-8.
11. Van Avondt K, van Sorge NM, Meyaard L. Bacterial immune evasion through manipulation of host inhibitory immune signaling. *PLoS Pathog* 2015 ; 11 : e1004813.

NOUVELLE

Rôles antitumoraux de l'inhibition de l'autophagie dans le cancer colorectal

Le microbiote intestinal et le système immunitaire viennent à la rescousse

Jonathan Lévy, Béatrice Romagnolo

Institut Cochin, Inserm U1016, CNRS UMR8104, Université Paris Descartes, 24, rue du faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

beatrice.romagnolo@inserm.fr

► L'autophagie est un processus d'auto-cannibalisme permettant la dégradation via les lysosomes, des constituants cellulaires endommagés ou non essentiels [1]. Il s'agit du principal mécanisme physiologique participant au catabolisme de macromolécules (protéines, lipides, carbohydrates, etc.) et à la dégradation d'organelles (mitochondries, réticulum endoplasmique). Ce processus implique la formation de vésicules, les autophagosomes, faisant intervenir un ensemble de protéines codées par les gènes *ATG* (*autophagy related genes*) [1] (→).

(→) Voir la Nouvelle de P. Codogno, *m/s* n° 8-9, août-septembre 2004, page 734

Récemment, un rôle de l'autophagie en tant que médiateur de réponses pathologiques a été mis en évidence, en particulier dans le cancer [2]. Plusieurs études suggèrent un rôle complexe de l'autophagie dans le cancer. L'autophagie est en effet apparue comme un facteur de survie des cellules cancéreuses qui est essentiel dans les cancers pancréatique et mammaire. Son inhibition s'accompagne en revanche, du développement spontané de lymphomes, d'adénocarcinomes pulmonaires et hépatiques. Ces travaux soulignent donc le rôle ambivalent que présente l'autophagie dans le cancer selon les tissus considérés, le contexte

génétique ou le stade auquel l'analyse est réalisée. Notre équipe s'est intéressée au rôle de l'autophagie dans le cancer colorectal. Nous avons entrepris cette étude à partir d'échantillons de cancer coliques humains et dans un modèle murin présentant une mutation du gène suppresseur de tumeur *APC* (*adenomatous polyposis coli*). De manière parfaitement concordante, nos études, confirmées et étendues par d'autres équipes, ont montré que, chez la souris, la perte du gène *APC* entraînait la formation de multiples adénomes intestinaux [3]. Ce modèle murin représente donc un modèle préclinique de choix pour appréhender les mécanismes

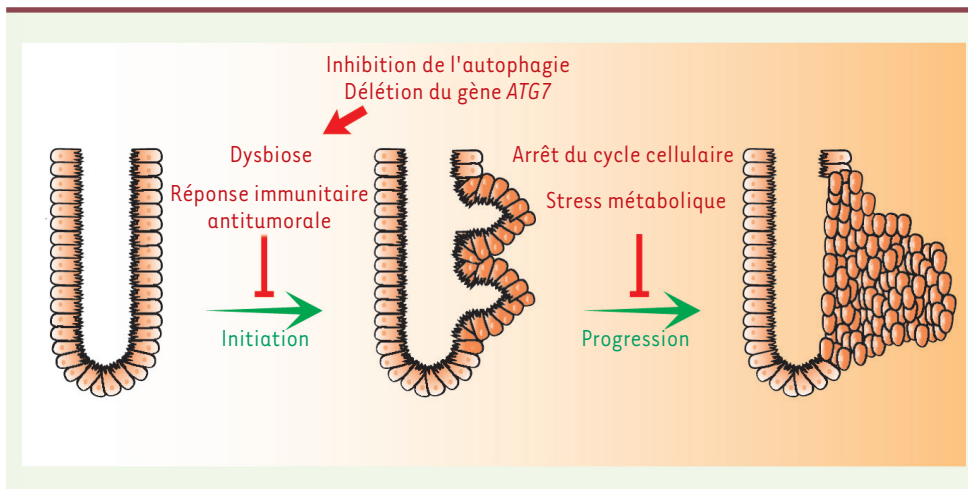


Figure 1. Rôles antitumoraux de l'inhibition de l'autophagie dans la tumorigénèse intestinale. La délétion conditionnelle et inducible du gène *ATG7* dans les cellules épithéliales intestinales diminue l'initiation et la progression tumorale intestinale liée à la perte du gène *APC*. L'inhibition de l'autophagie conduit à une modification de la flore intestinale responsable d'une réponse immunitaire antitumorale. De plus, le blocage de

l'autophagie dans la cellule tumorale conduit à un arrêt du cycle cellulaire et un stress métabolique caractérisé par une accumulation de p53, une diminution des enzymes de la glycolyse et une activation de l'AMPK. *APC* : adenomatous polyposis coli ; *ATG7* : autophagy related gene 7.

associés au développement tumoral intestinal. Chez l'homme, la mutation du gène *APC* est responsable de plus 80 % des cancers colorectaux sporadiques ainsi que de la polypose adénomateuse familiale¹. L'observation d'une augmentation de la transcription de différents gènes de l'autophagie (*ATG*) au cours de la progression tumorale dans la dysplasie², les adénomes murins intestinaux et les cancers coliques humains, a été le point de départ de notre recherche sur l'autophagie. Nous avons par la suite mis en évidence la surexpression de la protéine LC3 (*microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3*) conjuguée au phosphatidyléthanolamine (LC3-II), marqueur de l'autophagosome, conjointement à la diminution de la protéine p62 (aussi appelée sequestosome-1), une protéine cible de l'autophagie. La preuve ultime de l'induction de l'autophagie au cours du développement tumoral a été apportée par des analyses de microscopie électronique. Elles ont permis de révéler la présence d'autophagosomes et d'autophagolysosomes

au sein des cellules tumorales intestinales.

Le blocage de l'autophagie supprime le développement tumoral

Nous avons étudié le rôle de l'induction de l'autophagie dans le cancer colique en examinant le développement tumoral chez des souris invalidées pour le gène *APC* (les souris *APC^{+/-}*) et n'exprimant pas, au sein des cellules épithéliales, le gène autophagique essentiel *ATG7* (*ATG7^{-/-}*) [4]. Un suivi échographique du développement tumoral chez ces animaux a montré que le blocage de l'autophagie permet à la fois d'inhiber l'initiation mais également la progression tumorale. Les souris *APC^{+/-}ATG7^{-/-}* développent en effet peu ou pas de tumeur et leur croissance tumorale est nettement ralentie par rapport à celle observée dans les souris *APC^{+/-}* qui expriment le gène *ATG7*. Nous avons montré que l'inhibition de l'autophagie dans la cellule tumorale entraîne une diminution de la prolifération cellulaire qui est associée à l'induction de la protéine p53, connue pour jouer un rôle fondamental dans la suppression tumorale [5] (→).

De plus, parallèlement à l'induction de p21, une protéine responsable de l'arrêt du cycle cellu-

laire, les cellules tumorales déficientes en autophagie présentent également une diminution de l'expression des enzymes de la glycolyse et une activation du senseur énergétique AMPK (*AMP-activated protein kinase*) (Figure 1). Ainsi, en altérant des cibles de la glycolyse, l'inhibition de l'autophagie pourrait conduire non seulement à une modification du métabolisme énergétique mais également à une diminution de la production de biomasse pouvant participer à la suppression tumorale. L'implication de p53 sur les cibles métaboliques dans ce contexte, reste cependant à démontrer.

L'inhibition de l'autophagie dans la cellule épithéliale induit une réponse immunitaire antitumorale

Au-delà de son implication dans la progression tumorale, l'inactivation conditionnelle du gène *ATG7* s'accompagne d'une impressionnante diminution de la survenue des lésions tumorales résultant de la perte du gène *APC*. L'identification de signatures immunitaires nous a permis d'identifier les mécanismes antitumoraux provoqués par le blocage de l'autophagie au sein des cellules épithéliales. En collaboration avec l'équipe de Jean-Pierre Couty, nous avons en effet analysé la muqueuse saine des souris *APC^{+/-}ATG7^{-/-}*, avant l'émergence

¹ Aussi appelée polypose adénomateuse colorectale ou polypose rectocolique familiale, il s'agit d'une maladie héréditaire se manifestant par le développement de centaines ou milliers d'adénomes du rectum ou du côlon, dégénéralant plus tard en cancer.

² Dysplasie épithéliale intestinale : développement anormal des cellules épithéliales, considéré comme une lésion précancéreuse.

(→) Voir la Synthèse de O. Albagli, m/s n° 10, octobre 2015, page 869



des tumeurs liées à la perte sporadique du second allèle du gène *APC*. Ces études ont révélé une activation d'interféron de type I, connu pour jouer un rôle clé dans la réponse antitumorale, ainsi qu'une production d'IL(interleukine)-12 accompagnée d'une infiltration de lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques, T CD4 de type Th1 et T régulateurs. Associée à cette infiltration, nous avons observé une surexpression des chimiokines CX3CL1 (*chemokine [C-X3-C motif] ligand 1* ou fractalkine), CXCL9 (*chemokine [C-X-C motif] ligand*) et CXCL10. De façon intéressante, chez l'homme, ce profil immunitaire d'infiltration est corrélé à une survie sans récurrence prolongée et à un accroissement de la survie globale des patients atteints de tumeurs colorectales [6]. Ces premiers résultats laissent supposer que l'effet antitumoral observé après l'inhibition de l'autophagie pouvait être relié à une réponse immunitaire antitumorale. Cette hypothèse a été confortée par le fait que l'administration d'anticorps anti-CD8 (dirigés contre les lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques) permet d'annihiler l'effet antitumoral.

La flore intestinale agit directement sur le microenvironnement immunitaire

Afin de déterminer le mécanisme par lequel l'inhibition de l'autophagie dans la cellule épithéliale altère le microenvironnement immunitaire, nous avons évalué son effet direct sur la cellule épithéliale. Nous avons pu observer que la perte du gène *ATG7* (→) altère la différenciation des cellules de Paneth³ [7] (→) et des cellules caliciformes⁴, deux types de cellules sécrétrices constitutives de l'épithélium intestinal et jouant un rôle fondamental dans la défense antimicrobienne. Les défauts de sécrétion par ces

cellules ainsi engendrés sont associés à une augmentation de la perméabilité de la barrière intestinale et à une translocation de certaines bactéries au travers de l'épithélium (pour lequel l'autophagie est inhibée). En collaboration avec Mathias Chamaillard et Patricia Lepage, nous avons pu, de plus, démontrer que ces modifications sont associées à un changement qualitatif et quantitatif de la flore bactérienne qui se caractérise par une surabondance de bactéries Gram⁺, principalement des *Firmicutes* et une faible abondance de *Proteobacteria* [12] (→).

Afin de déterminer le rôle de la flore dans l'induction de la réponse immunitaire antitumorale associée à l'inhibition de l'autophagie, nous avons administré, par voie orale, aux souris *APC^{+/-}ATG7^{-/-}*, une combinaison d'antibiotiques à spectre large. Ce traitement conduit à une abolition de l'expression des cytokines ainsi que de l'infiltration des lymphocytes T CD3, en particulier des lymphocytes T CD8⁺ cytotoxique. L'effet anticancéreux, relayé par l'inhibition de l'autophagie, est donc absent, ce qui se traduit chez les souris *APC^{+/-}ATG7^{-/-}* alors dépourvues de flore, par l'apparition de nombreuses lésions. Cette étude souligne l'interaction complexe qui existe entre la flore intestinale, la réponse antitumorale et l'inhibition de l'autophagie [4] (Figure 1). Il reste désormais à déterminer si ce triumvirat est nécessaire à la suppression tumorale ou si une modification de la flore est suffisante pour imposer cette suppression. Les mécanismes par lesquels les bactéries commensales peuvent avoir un effet sur le microenvironnement immunitaire antitumoral restent à définir. Néanmoins, notre étude conforte les données illustrant le rôle clé du microbiote dans la réponse à différentes thérapies antitumorales. Le microbiote pourrait être un marqueur prédictif de la réponse théra-

peutique bloquant les molécules de costimulation inhibitrices anti-CTLA-4 (*cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*) et anti-PD-1 (*programmed cell death 1*) [8-11].

Conclusion

L'ensemble de ces résultats montre pour la première fois que l'inhibition de l'autophagie dans la cellule épithéliale permettrait d'empêcher le développement d'un cancer colorectal d'un patient à risque. Nos résultats ouvrent également de nouvelles perspectives pour le traitement des cancers colorectaux et soulignent particulièrement l'importance du microbiote dans la mise en place d'une réponse antitumorale. ♦

Antitumoral functions of autophagy inhibition in colorectal cancer: the intestinal microbiota and the immune system come to the rescue...

LIENS D'INTÉRÊT

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

REMERCIEMENTS

Ce travail a été soutenu financièrement par l'Inserm, l'Institut National du Cancer, le Comité de Paris de la Ligue Contre le Cancer, la Fondation Arc, et par le Cancer Research Personalized Medicine (CARPEM).

RÉFÉRENCES

- Codogno P. Les gènes *ATG* et la macro-autophagie. *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 734-6.
- Galluzzi L, Pietrocola F, Bravo-San Pedro JM, et al. Autophagy in malignant transformation and cancer progression. *Embo J* 2015 ; 34 : 856-80.
- Zeineldin M, Neufeld KL. More than two decades of *Apc* modeling in rodents. *Biochim Biophys Acta* 2013 ; 1836 : 80-9.
- Levy J, Cacheux W, Bara MA, et al. Intestinal inhibition of *Atg7* prevents tumour initiation through a microbiome-influenced immune response and suppresses tumour growth. *Nat Cell Biol* 2015 ; 17 : 1062-73.
- Albagli O. Protéger et sévir : p53, métabolisme et suppression tumorale. *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 : 869-80.
- Tsolini M, Kirilovsky A, Mlecnik B, et al. Clinical impact of different classes of infiltrating T cytotoxic and helper cells (Th1, th2, treg, th17) in patients with colorectal cancer. *Cancer Res* 2011 ; 71 : 1263-71.
- Romagnolo B. Une relation Paneth entre cellules souches et niche intestinale. *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 1058-60.

³ Cellules épithéliales de l'intestin sécrétant du lysosyme.

⁴ Cellules épithéliales participant à la sécrétion du mucus, appelées également cellules à gobelet (*goblet cells*).

RÉFÉRENCES

- Viaud S, Saccheri F, Mignot G, et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science* 2013 ; 342 : 971-6.
- Iida N, Dzutsev A, Stewart CA, et al. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. *Science* 2013 ; 342 : 967-70.
- Vetizou M, Pitt JM, Daillere R, et al. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science* 2015 ; 350 : 1079-84.
- Sivan A, Corrales L, Hubert N, et al. Commensal *Bifidobacterium* promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science* 2015 ; 350 : 1084-9.
- Raisch J, Dalmasso G, Bonnet R, et al. Certaines bactéries de la flore commensale exacerberaient-elles la carcinogenèse colorectale ? *Med Sci (Paris)* 2016 ; 32 : 175-82.

NOUVELLE

La taille de l'axone est un facteur majeur influençant la dépense énergétique et la vulnérabilité des neurones dopaminergiques dans la maladie de Parkinson

Nicolas Giguère, Louis-Éric Trudeau

Départements de Pharmacologie et de Neurosciences, groupe de recherche sur le système nerveux central (GRSNC), faculté de médecine, université de Montréal, CP 6128, succursale centre-ville, Montréal QC, H3C 3J7 Québec, Canada.
louis-eric.trudeau@umontreal.ca
nicolas.giguere@umontreal.ca

> La maladie de Parkinson est la seconde maladie neurodégénérative la plus commune au niveau mondial, touchant 1 % des personnes âgées de 60 ans et plus [1]. Cette maladie est caractérisée, entre autres, par des troubles moteurs comprenant une lenteur des mouvements, de la rigidité, une instabilité posturale et des tremblements. Ces troubles moteurs sont causés par la mort des neurones dopaminergiques [2] (→) de la substance noire compacte (SNc), une région située dans le mésencéphale. Malheureusement, lors de l'apparition de ces troubles du mouvement, une majorité de ces neurones a déjà dégénéré. Les raisons de cette dégénérescence restent à ce jour méconnues, ce qui explique en partie l'absence de traitement curatif.

(→) Voir la Synthèse de D. Thibault et al., *m/s* n° 2, février 2010, page 165

Pistes de pathogenèse

Plusieurs pistes sur la pathogenèse de cette maladie suggèrent que la mort des neurones de la SNc découle de la neuroinflammation, d'altérations dans les mécanismes de dégradation protéique, d'accumulation de protéines mal

repliées ou d'altérations dans la fonction mitochondriale [3]. À titre d'exemple, plusieurs mutations dans des gènes incluant LRRK2 (*leucine-rich repeat kinase 2*), l' α -synucléine, Parkin, Pink1 (*PTEN [phosphatase and tensin homolog]-induced putative kinase 1*) ou DJ-1, ont été identifiées comme causes de certaines formes familiales de la maladie de Parkinson. Bien que le rôle exact de plusieurs de ces protéines soit méconnu, elles semblent toutes influencer à un certain niveau la fonction mitochondriale et réguler des mécanismes comme l'autophagie, la mitophagie, le transport axonal et la fonction synaptique. Qu'une dysfonction de mécanismes cellulaires aussi ubiquitaires cause une mort sélective de sous-groupes limités de neurones, incluant les neurones de la SNc, reste un des principaux mystères de la maladie de Parkinson.

Caractéristiques bioénergétiques particulières des neurones dopaminergiques de la SNc

Une hypothèse pouvant potentiellement expliquer la grande vulnérabilité des

neurones dopaminergiques de la SNc face à une dysfonction mitochondriale, serait que ces neurones possèdent des propriétés bioénergétiques qui les distinguent des neurones moins vulnérables. À ce jour, aucune étude n'avait évalué cette possibilité directement. Récemment [4], nous avons comparé, dans un modèle de culture primaire, la fonction mitochondriale des neurones dopaminergiques de la SNc à celle des neurones dopaminergiques de l'aire tegmentaire ventrale (VTA), une région voisine dans le mésencéphale, qui est peu affectée dans la maladie de Parkinson. Nous avons démontré qu'en plus d'avoir un niveau de base de phosphorylation oxydative deux fois plus élevé, les neurones dopaminergiques de la SNc ont une capacité énergétique de réserve qui est de 50 % inférieure à celle des neurones dopaminergiques de la VTA. Cela pourrait être un facteur majeur les rendant plus vulnérables à divers stress oxydatifs, malgré une densité plus importante de mitochondries au niveau axonal et une production accrue d'ATP. Cette marge de manœuvre énergétique limitée, cou-