

La ferroptose, une voie de signalisation prometteuse pour de futurs traitements anticancéreux

Romain Fromenteau¹, May El Nmrawy¹, Léa Sellier¹, Bernard Mignotte²

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

² Université Paris-Saclay, UVSQ, LGBC, Versailles, France.

fromenteaur@gmail.com

may.elnmrawy@hotmail.com

lea.sellier27@gmail.com

bernard.mignotte@uvsq.fr

> La ferroptose fait partie des nombreux types de mort cellulaire identifiés à ce jour [1] (→).

(→) Voir la Synthèse de L. Cabon *et al.*, *m/s* n° 12, décembre 2013, page 1117

Elle correspond à une mort cellulaire

régulée, non apoptotique, qui se manifeste par une accumulation de lipides peroxydés à la membrane des cellules [2,3]. Le fer joue un rôle important dans la ferroptose puisqu'il permet la conversion des espèces réactives de l'oxygène (ERO) faiblement oxydantes telles que H₂O₂ en espèces très oxydantes (OH•) via la réaction de Fenton¹ [4]. Ces espèces vont alors pouvoir oxyder les phospholipides membranaires. Cependant, les voies de signalisation permettant l'activation de cette mort cellulaire ne sont encore que très partiellement connus.

La ferroptose a été reliée à des maladies neurodégénératives comme la maladie de Parkinson [5]. Par ailleurs, certains oncosuppresseurs, comme p53 ou BAP1, sensibilisent les cellules à la ferroptose, ce qui contribuerait à leur fonction de suppresseurs de tumeurs [6] (→).

(→) Voir la Synthèse de R. Birsén *et al.*, *m/s* n° 8-9, août-septembre 2021, page 726

L'induction de la ferroptose apparaît donc comme une stratégie thérapeutique innovante pour le traitement des cancers. Dans cette perspective, Zhang *et al.* [7] ont voulu comprendre les voies de signalisation impliquées dans ce processus.

Criblage CRISPR-Cas9 : un outil performant

Afin d'identifier ces voies de signalisation, Zhang *et al.* ont effectué un criblage visant à identifier des gènes codant des protéines impliquées dans la ferroptose [7]. Ils ont utilisé pour cela la technique de « CRISPR-Cas9 screening », un outil performant pour la mise en évidence d'une nouvelle voie de signalisation [8]. L'utilisation de cette technique permet, via une banque d'ARN guide (sgRNA) et l'expression de la nucléase Cas9 [8], d'introduire aléatoirement des mutations dans les cellules utilisées et donc de cibler une grande quantité de gènes et d'identifier ainsi une ou plusieurs protéines importantes. La sélection de cellules résistantes à une induction de la ferroptose par l'éras-tine², suivie d'un séquençage NGS (*next-generation sequencing*) de ces cellules, a permis aux auteurs de sélectionner des gènes potentiellement pro-ferroptotiques. L'implication des gènes identifiés a ensuite été confirmée en inhibant spécifiquement leur expression.

PKCβII et ses partenaires sont impliqués dans la ferroptose

Ce criblage a notamment mis en évidence la contribution du gène codant la protéine kinase C β (PKCβ) à la ferroptose induite par l'éras-tine. Les PKC forment une famille de protéines kinases qui, via

des phosphorylations, activent de nombreuses protéines dans différentes voies de signalisation comme celles impliquant les récepteurs couplés aux protéines G, notamment les immunorécepteurs, mais aussi des voies aboutissant à la prolifération et la différenciation des cellules [9]. La PKCβ présente deux isoformes, produites par épissage alternatif, PKCβI et PKCβII. Les chercheurs ont donc utilisé la technique CRISPR-Cas9 pour inhiber spécifiquement l'expression de l'une ou l'autre de ces isoformes et ont pu ainsi identifier PKCβII comme étant un acteur majeur de cette voie de signalisation. En effet, les quantités de lipides peroxydés (analysés grâce à une sonde BODIPY 581/591, reconnaissant la peroxydation lipidique [10]) et le taux de mort cellulaire, sont réduits dans les cellules n'exprimant plus l'isoforme PKCβII, confirmant son rôle crucial dans la ferroptose. Par ailleurs, les auteurs montrent que des piègeurs de peroxydation lipidique (Fer-1 et liproxstatine-1) inhibent l'activation de la PKCβII montrant ainsi que PKCβII pourrait être un senseur de la peroxydation lipidique liée à la ferroptose.

Les auteurs de l'étude se sont également intéressés à l'identification des partenaires de PKCβII impliqués dans la signalisation de la ferroptose. Après induction de la ferroptose dans des cellules cancéreuses avec l'éras-tine ou RSL3 (un inhibiteur de la glutathione peroxidase 4, GPX4³), la protéine

² L'éras-tine est un inhibiteur du transporteur de cystéine SLC7A11 et provoque notamment une baisse de l'activité de la glutathione peroxidase 4 (Figure 1).

³ Protéine réduisant le peroxyde d'hydrogène.

¹ $Fe^{2+}(aq) + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+}(aq) + HO^- + HO^\bullet$



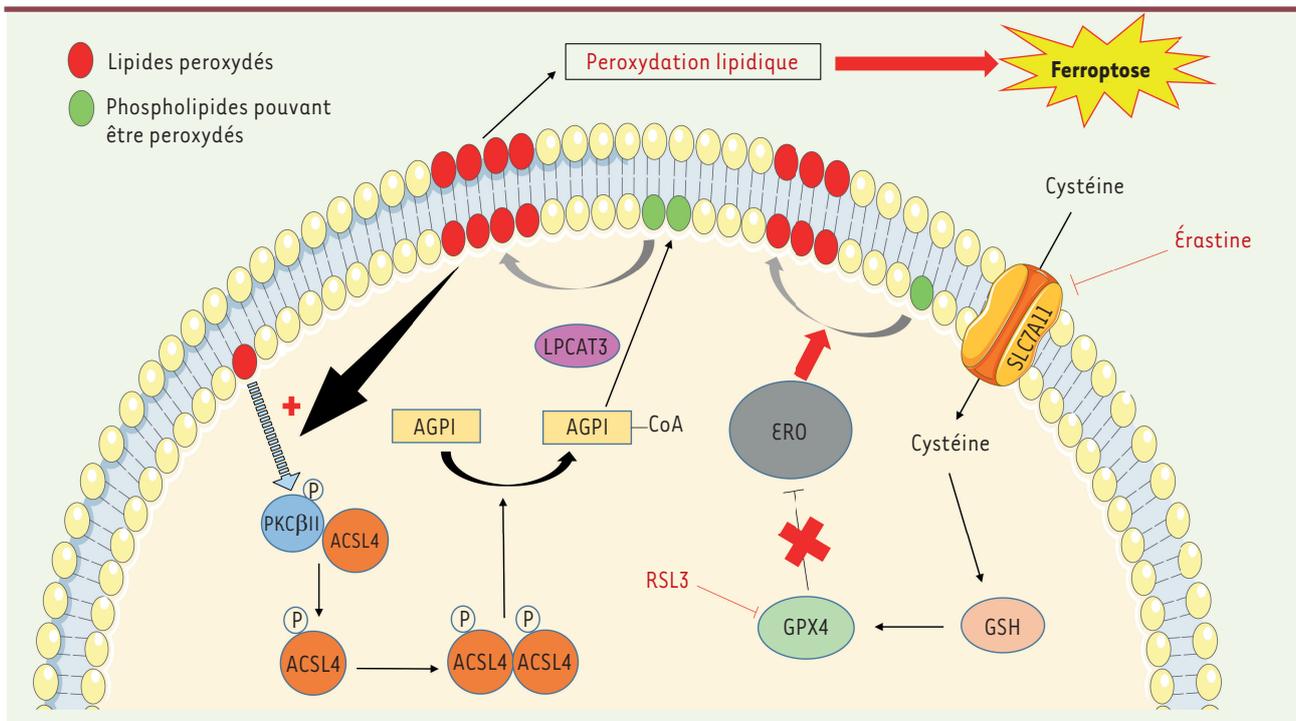


Figure 1. Boucle d'amplification de la ferroptose via l'axe PKC β II-ACSL4. Une phosphorylation de PKC β II via un mécanisme encore inconnu (flèche en pointillé) va induire la phosphorylation et la dimérisation d'ACSL4 dont l'action est de synthétiser des AGPI qui seront transportés à la membrane plasmique via une catalyse de la liaison médiée par la protéine LPCAT3. Ces AGPI vont être oxydés par des espèces réactives de l'oxygène ERO et la production de lipides peroxydés va jouer deux rôles : l'amplification du signal (flèche noire) grâce aux nouveaux lipides peroxydés qui serviront de signal pour la phosphorylation de PKC β II, et l'accumulation de lipides peroxydés aboutissant à la mort cellulaire par ferroptose. L'axe Cystéine-GSH-GPX4 est une voie permettant l'inhibition de la production d'ERO. L'érastine agit notamment en inhibant SLC7A11 (un transporteur de cystéine) tandis que RSL3 est un inhibiteur de GPX4, ce qui permet à ces composés d'induire la ferroptose via une accumulation d'ERO aboutissant à la production de lipides peroxydés. PKC β II : protéine kinase C β II ; ACSL4 : *acyl-CoA synthetase long chain family member 4* ; AGPI : acides gras polyinsaturés ; LPCAT3 : *lysophosphatidylcholine acyltransferase 3* ; ERO : espèces réactives de l'oxygène ; GSH : glutathione ; GPX4 : glutathione peroxidase 4 ; SLC7A11 : *solute carrier family 7 member 11*.

ACSL4 (*Acyl-CoA synthetase long chain family member 4*) est co-précipitée avec la PKC β II. ACSL4, dont le rôle dans la ferroptose était déjà connu, est une enzyme qui catalyse l'incorporation des acides gras polyinsaturés (AGPI) dans les phospholipides. Sa phosphorylation, suite à son activation, est nettement moins importante en présence des inhibiteurs de la PKC β II. La phosphorylation par PKC β II de la thréonine en position 328 de ACSL4 semble tout particulièrement importante puisque lorsqu'ACSL4 est mutée sur ce résidu, son activation puis sa dimérisation ne sont plus observées. En effet, alors que dans des conditions normales le traitement à base d'érastine induit une formation d'AGPI, des cellules produi-

sant une ACSL4 mutée sur la thréonine 328 perdent cette propriété. Ces AGPI vont alors s'insérer dans la membrane plasmique et sont susceptibles d'être oxydés par les ERO produites via la réaction de Fenton. Cette étude met donc en évidence une boucle d'activation puisque ces nouveaux lipides peroxydés à la membrane vont de nouveau pouvoir être reconnus par la PKC β II et *in fine* produire de nouveaux lipides peroxydés conduisant à leur accumulation et donc à la ferroptose (Figure 1). L'inhibition de la PKC β II par des agents pharmacologiques tels que l'enzastaurine montre une diminution de la boucle d'activation et une baisse de la ferroptose. Il reste cependant une question à élucider : l'amplification est

clairement démontrée mais le mécanisme moléculaire par lequel PKC β II est activé demeure inconnu et donc reste à éclaircir !

Une découverte importante pour les traitements anticancéreux

Cette étude a aussi porté sur l'effet de l'axe PKC β II-ACSL4 dans un contexte physiopathologique. En effet, ACSL4 pourrait jouer un rôle comme suppresseur de tumeur ou comme oncogène en fonction du type de cancer et de l'environnement tissulaire [11]. Par ailleurs, le niveau de ferroptose joue un rôle dans la résistance aux immunothérapies [12]. Les tumeurs exprimant une forme sauvage d'ACSL4 phosphorylable en position 328, et dans lesquelles la peroxydation lipidique

est plus élevée, sont plus sensibles à un traitement à base d'anticorps anti-point de contrôle du système immunitaire (anticorps anti-PD1) à la différence des tumeurs exprimant une forme mutée non phosphorylable de la protéine. De plus, des analyses de cytométrie en flux montrent l'existence, dans les tumeurs traitées et possédant la forme sauvage d'ACSL4, d'un important infiltrat immunitaire composé de lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺. En revanche, les tumeurs présentant une forme mutante d'ACSL4 ne présentent aucune variation du nombre de lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ infiltrés qu'elles soient traitées ou non, cette observation confirmant l'importance de la phosphorylation de la thréonine 328 d'ACSL4. L'axe PKCβII-ACSL4 joue donc un rôle important dans les traitements contre les cancers en induisant très probablement la ferroptose dans des cellules cancéreuses traitées avec des inhibiteurs de points de contrôle

immunitaire, tels que PD1. Cette découverte est encore à approfondir mais elle permettrait par un simple diagnostic du niveau d'ACSL4 dans la tumeur d'optimiser les stratégies d'immunothérapie impliquant ou non les anti-PD1, afin d'induire la mort cellulaire des cellules cancéreuses par ferroptose. ♦

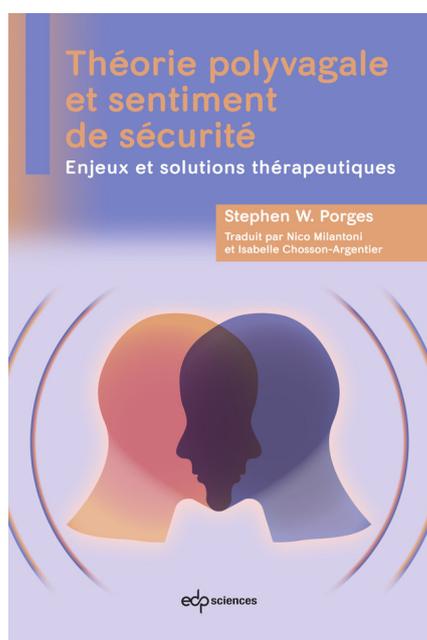
A ferroptosis pathway promising for future immunotherapy treatment

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Cabon L, Martínez-Torres AC, Susin SA. La mort cellulaire programmée ne manque pas de vocabulaire. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 1117-24.
2. Tang D, Chen X, Kang R, et al. Ferroptosis : molecular mechanisms and health implications. *Cell Res* 2021 ; 31 : 107 – 25.
3. Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. Ferroptosis : mechanisms, biology, and role in disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2021 ; 22 : 266 – 82.
4. Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis : An Iron-Dependent Form of Non-Apoptotic Cell Death. *Cell* 2012 ; 149 : 1 060 – 72.
5. Mahoney-Sánchez L, Bouchaoui H, Ayton S, et al. Ferroptosis and its potential role in the pathophysiology of Parkinson's Disease. *Prog. Neurobiol* 2021, 196 : 101 890
6. Birsen R, Grignano E, Chapuis N, et al. Ferroptose et cancer : Implications physiopathologiques et thérapeutiques. *Med Sci (Paris)* 2021 ; 37 : 726 – 34.
7. Zhang HL, Hu BX, Li ZL, et al. PKCβII phosphorylates ACSL4 to amplify lipid peroxidation to induce ferroptosis. *Nat Cell Biol* 2022 ; 24 : 88 – 98.
8. Shalem O, Sanjana NE, Hartenian E, et al. Genome-Scale CRISPR-Cas9 Knockout Screening in Human Cells. *Science* 2014 ; 343 : 84 – 7.
9. Kawakami T, Kawakami Y, Kitaura J. Protein kinase C beta (PKC beta) : normal functions and diseases. *J Biochem* 2002 ; 132 : 677 – 82.
10. Drummen GPC, Liebergen LCM van, Op den Kamp JAF, et al. C11-BODIPY (581/591), an oxidation-sensitive fluorescent lipid peroxidation probe : (micro) spectroscopic characterization and validation of methodology. *Free Radic Biol Med* 2002 ; 33 : 473 – 90.
11. Quan J , Bode AM, Luo X ACSL family : The regulatory mechanisms and therapeutic implications in cancer *Eur J Pharmacol* 2021 ; 909 : 174 397.
12. Wang W, Green M, Choi JE, et al. CD8+ T cells regulate tumor ferroptosis during cancer immunotherapy. *Nature* 2019 ; 569 : 270 – 4.



Une introduction à la théorie polyvagale

La théorie polyvagale de Stephen W.Porges explicitée pour les non-spécialistes

La théorie polyvagale a constitué une véritable révolution dans la compréhension du système nerveux autonome et de notre fonctionnement physique, psychique et social.

Ce nouveau livre s'adresse à un large public. Doté d'un lexique, il rapporte le dialogue entre le Dr Buczynski et le Dr Porges, ce qui rend la lecture aisée et vivante, ponctuée de multiples exemples. La traduction a été réalisée par des experts : Nico Milantoni est psychologue, praticien et formateur de la méthode Hipérion. Isabelle Chosson-Argentier est Docteur en pharmacie, conseil en nutrition, micronutritionniste, phyto- et aromathérapeute, praticienne de la méthode Hipérion.

ISBN : 978-2-7598-2762-6 264 pages - 29 € TTC

En vente sur laboutique.edpsciences.org

