

L'autophagie : un mécanisme de survie et de mort cellulaire

par Patrice Codogno

INSERM U504, Institut André Lwoff, Université Paris XI, 16, avenue Paul-Vaillant-Couturier, 94807 Villejuif Cedex.
E-mail : codogno@vjf.inserm.fr

Reçu le 24 novembre 2004

RÉSUMÉ

La macroautophagie ou autophagie est une voie majeure du catabolisme lysosomique qui permet la dégradation de macromolécules et d'organites cellulaires chez les eucaryotes. La découverte des bases moléculaires de l'autophagie a montré son importance au cours du développement, dans le contrôle de la longévité et dans des processus pathologiques comme le cancer, les maladies neurodégénératives et certaines formes de myopathies. L'autophagie est un mécanisme de survie cellulaire lors de périodes de jeûne.

Cette « autophagie nutritionnelle », inhibée par les acides aminés, s'oppose à la mise en place d'un programme d'apoptose. L'autophagie est aussi décrite comme un mécanisme de mort appelée mort autophagique qui se distingue de l'apoptose par ses critères morphologiques et moléculaires. La situation est souvent complexe car la cellule peut utiliser à la fois la machinerie apoptotique et autophagique pour disparaître.

SUMMARY Autophagy in cell survival and death

Macroautophagy hereafter referred to as autophagy is a major lysosomal catabolic pathway for macromolecules and organelles conserved in eukaryotic cells. The discovery of the molecular basis of autophagy has uncovered its importance during development, life extension and in pathologies such as cancer, certain forms of myopathies and neurodegenera-

tive diseases. Autophagy is a cell survival mechanism during starvation that is controlled by amino acids. Starvation-induced autophagy is an anti-apoptotic mechanism. However autophagy is also an alternative to apoptosis through autophagic cell death. In many situations apoptosis and autophagy can both contribute to cell dismantlement.

INTRODUCTION

Le terme autophagie regroupe un ensemble de mécanismes cataboliques aboutissant à la dégradation de constituants cellulaires par le lysosome (Cuervo, 2004). La découverte de la macroautophagie, une des formes majeures de l'autophagie, est contemporaine de celle du lysosome par Christian de Duve (de Duve & Wattiaux, 1966). La macroautophagie, nommée autophagie dans la suite de ce texte, est active à un niveau basal dans la plupart des cellules où elle assure le renouvellement des protéines à durée de vie longue et l'élimination de certains organites comme la mitochondrie. Sa stimulation en situation de stress (carence nutritionnelle, accumulation d'agrégats protéiques) est un mécanisme de survie cellulaire par le recyclage de nutriments, notamment les acides aminés, qui permet le maintien du métabolisme cellulaire et l'élimination des macromolécules et des structures cellulaires altérées (Klionsky & Emr, 2000).

La découverte des gènes *ATG*, au milieu des années 90, chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* (voir pour revue : Klionsky *et al.*, 2003) a été une étape importante non seulement pour la dissection en termes moléculaires de l'autophagie, mais aussi pour comprendre son importance en physiologie et en physiopathologie (Bergamini *et al.*, 2004 ; Larsen & Sulzer, 2002 ; Levine & Klionsky, 2004 ; Ogier-Denis & Codogno, 2003 ; Saftig *et al.*, 2001). Dans la cellule, l'autophagie débute par la formation d'une vacuole, l'autophagosome, qui séquestre de façon non sélective les constituants du cytoplasme (Fig. 1). L'autophagosome est délimité par plusieurs feuilletts lipidiques dont l'origine est encore mal connue (Fengsrud *et al.*, 1995 ; Noda *et al.*, 2002). Plusieurs compartiments cellulaires (réticulum endoplasmique, appareil de Golgi et réseau trans-golgien) et la membrane plasmique peuvent probablement concourir à la formation de l'autophagosome. Une quinzaine de protéines *Atg*, pour la plupart conservées de la levure à

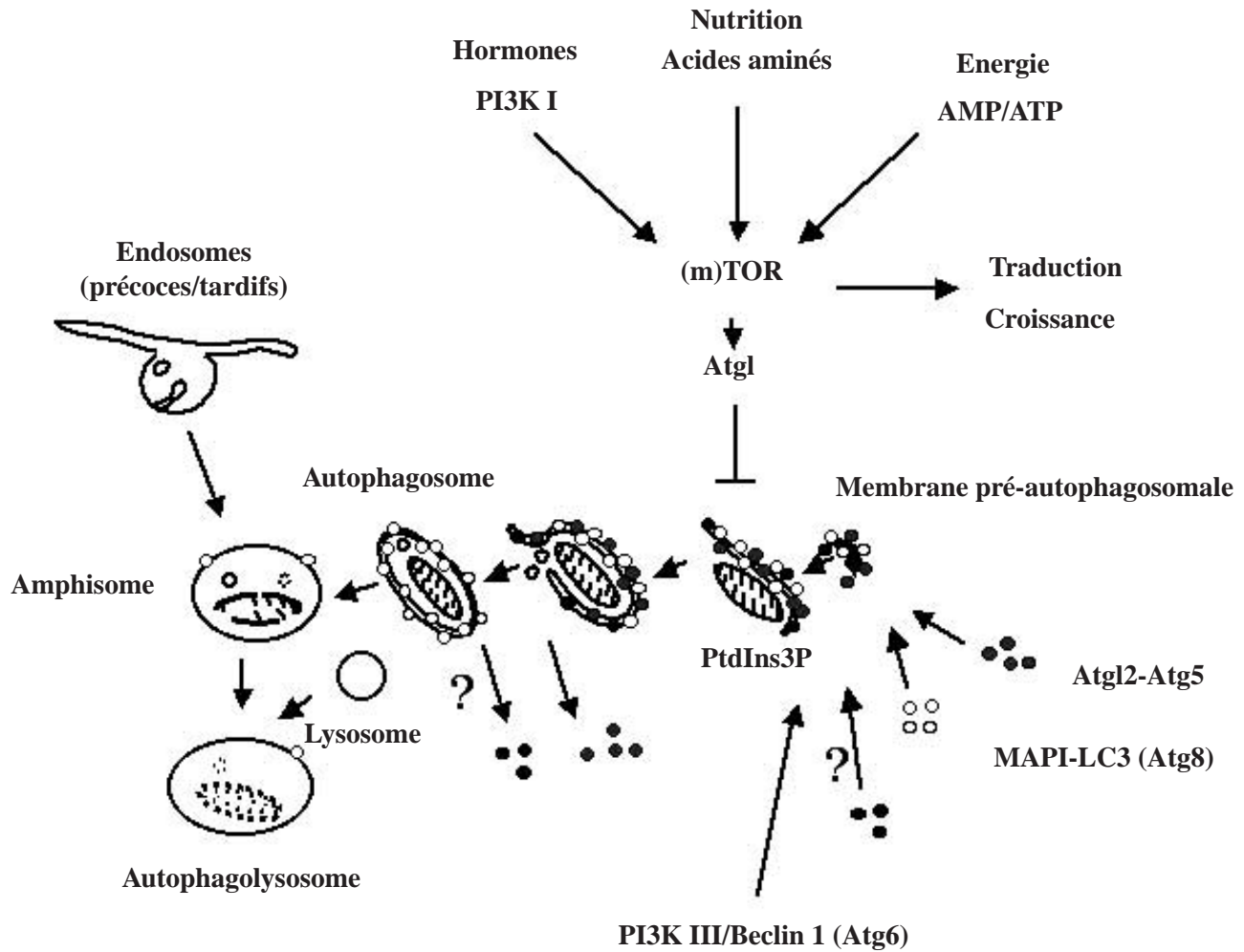


FIG. 1. – Représentation synthétique de l'autophagie.

Le conjugué protéique Atg5-Atg12, recruté à partir du cytoplasme, permet la conjugaison d'Atg8 (MAP-LC3) et de la phosphatidyléthanolamine sur la membrane pré-autophagosomale. La formation de l'autophagosome nécessite aussi la production de phosphatidylinositol 3-phosphate (PtdIns3P) par la phosphatidylinositol 3-phosphate kinase de type III (PI3K III) localisée probablement sur la membrane du réseau trans-golgien où elle interagit avec la protéine beclin 1 (Atg6). Après formation de l'autophagosome, la plupart des protéines Atg sont recyclées vers le cytosol, à l'exception notable d'une fraction Atg8-phosphatidyléthanolamine, qui est un marqueur de l'autophagosome. Après fusion avec des endosomes (précoces et/ou tardifs), le matériel séquestré dans l'autophagosome est digéré dans le lysosome (y compris la copule protéique du complexe Atg8-phosphatidyléthanolamine). La kinase mTOR occupe une position centrale dans le contrôle de l'autophagie. Cette kinase peut intégrer la signalisation hormonale par la voie initiée par la PI3K de type I (PI3K I), la signalisation dépendante des acides aminés et l'état énergétique à travers le ratio AMP/ATP. L'activation de mTOR inhibe l'autophagie et favorise la traduction et la croissance cellulaire. À l'inverse, son inhibition stimule l'autophagie. L'activité de la kinase Atg1 associée à la membrane pré-autophagosomale est sous le contrôle de TOR chez la levure *S. cerevisiae*. La fonction de ce module et son implication dans le déclenchement de la formation de l'autophagosome sont encore à clarifier chez les mammifères.

l'Homme, sont nécessaires à sa biogenèse (Klionsky *et al.*, 2003 ; Ohsumi, 2001).

La découverte récente des bases moléculaires de l'autophagie a mis en lumière son rôle au cours du développement (Levine & Klionsky, 2004), dans le contrôle de la longévité (Bergamini *et al.*, 2004). En physiopathologie, l'autophagie est impliquée dans la progression tumorale (Edinger & Thompson, 2003 ; Ogier-Denis & Codogno, 2003), dans certaines formes de myopathies (Nishino, 2003), dans de nombreuses maladies neurodégénératives (maladies de Parkinson, d'Alzheimer et de Huntington)

(Larsen & Sulzer, 2002 ; Yuan *et al.*, 2003). L'autophagie est un mécanisme inné de défense contre l'invasion microbienne (Kirkegaard *et al.*, 2004 ; Nakagawa *et al.*, 2004 ; Tallóczy *et al.*, 2002). Néanmoins, sa subversion est une étape importante de l'infection par certains microorganismes (Dorn *et al.*, 2002 ; Prentice *et al.*, 2004 ; Swanson *et al.*, 2002).

À côté de l'apoptose ou mort programmée de type I, la mort autophagique ou mort programmée de type II a été décrite dans diverses situations : développement et métamorphose chez les insectes, mort des cellules can-

céreuses (voir pour revue : Bursch, 2001 ; Clarke, 1990 ; Golstein *et al.*, 2003 ; Lockshin & Zakeri, 2004). Les caractéristiques essentielles de cette mort sont une accumulation de vacuoles autophagiques et, contrairement à l'apoptose, une absence de condensation marquée de la chromatine, une absence de fragmentation internucléosomique de la chromatine, une absence d'activation des caspases, une absence de dégradation des éléments du cytosquelette. Néanmoins, la distinction entre les deux types de mort est souvent difficile à faire (Gozuacik & Kimchi, 2004 ; Lockshin & Zakeri, 2004). En effet, au cours de la mort par apoptose, l'apparition de vacuoles autophagiques est fréquemment observée. Cette autophagie peut être, suivant les cas, une composante de la mort cellulaire ou parfois un frein à l'apoptose.

BASES MOLÉCULAIRES DE L'AUTOPHAGIE

La dernière décennie a été marquée par les progrès réalisés dans la connaissance des bases moléculaires de l'autophagie. Une compréhension globale nécessite d'une part de disséquer les mécanismes responsables de la formation et de la maturation des vacuoles autophagiques et, d'autre part, d'identifier les voies de signalisation qui contribuent à sa régulation (Klionsky & Emr, 2000 ; Meijer & Codogno, 2004 ; Ohsumi, 2001).

Formation et maturation de l'autophagosome

Formation de l'autophagosome. La formation de l'autophagosome repose essentiellement sur deux systèmes de conjugaison (Fig. 1), similaires à l'ubiquitinylation et la sumoylation des protéines (voir pour revue récente : Mizushima *et al.*, 2002 ; Ohsumi, 2001 ; Stromhaug & Klionsky, 2001 ; Tanida *et al.*, 2004 ; Yoshimori, 2004). Le premier conjugué formé des protéines Atg5-Atg12 permet le recrutement du deuxième qui résulte de la conjugaison en C-terminal de la protéine Atg8 (MAP-LC3 chez les mammifères) par la phosphatidyléthanolamine (PE). Le complexe Atg5-Atg12 est recyclé vers le cytosol avant la formation complète de l'autophagosome. La protéine Atg4 hydrolyse la liaison entre Atg8 et la PE. En conséquence de cette hydrolyse, seule une fraction du complexe Atg8-PE reste associée aux membranes de l'autophagosome constituant ainsi un marqueur spécifique de cet organite. La protéine Atg6 (beclin 1 chez les organismes multicellulaires) qui interagit avec la phosphatidylinositol 3-phosphate kinase (PI3K) de type III sur la membrane du réseau trans-golgien (Kihara *et al.*, 2001a, 2001b) est nécessaire à la formation de l'autophagosome, de même que le phosphatidylinositol 3-phosphate (PtdIns3P), produit de l'activité de la PI3K de type III (Petiot *et al.*, 2000). Les rôles intimes d'Atg6 et du PtdIns3P dans la formation de l'autophagosome restent encore à élucider. De façon intéressante, le gène *beclin 1* est un gène suppresseur de tumeur dont l'haplo-insuffisance conduit au développement de tumeurs dans de nombreux organes (Liang *et al.*, 1999 ; Qu *et al.*, 2003 ;

Yue *et al.*, 2003). Par ailleurs, la protéine beclin 1 a été découverte lors de la recherche de nouveaux partenaires de la protéine Bcl-2 par double-hybride (Liang *et al.*, 1998). Certaines données de la littérature suggèrent, d'une part, que Bcl-2 pourrait moduler l'autophagie (Saeki *et al.*, 2000 ; Tolkovsky *et al.*, 2002) et que, d'autre part, la protéine beclin 1 participerait à l'exécution d'un programme de mort cellulaire (Yu *et al.*, 2004 ; Yue *et al.*, 2002). Néanmoins, il a été montré que les cellules ES *beclin*^{-/-} présentent la même sensibilité à l'apoptose que les cellules ES *beclin*^{+/+} (Yue *et al.*, 2003). Les conséquences fonctionnelles de l'interaction entre beclin 1 et Bcl-2 restent à déterminer pour mieux comprendre le rôle commun de ces deux protéines dans le contrôle de l'autophagie et de la mort cellulaire.

Maturation de l'autophagosome. Après sa formation, l'autophagosome fusionne avec les compartiments de la voie d'endocytose pour former un amphisome (Berg *et al.*, 1998 ; Liou *et al.*, 1997) (Fig. 1). La formation de l'amphisome s'accompagne d'une acidification et de l'acquisition d'une activité protéolytique avant même la fusion avec le lysosome. Les mécanismes qui interviennent dans cette évolution des vacuoles autophagiques vers le lysosome commencent à être identifiés et ont été récemment discutés (Eskelinen, 2004). Un blocage de la progression de la voie autophagique est observé dans certaines maladies humaines telles que la maladie de Danon et certaines formes de céréoïde-lipofuchsinoses (Eskelinen, 2004 ; Saftig *et al.*, 2001).

Signalisation de l'autophagie

De nombreux stimuli sont capables d'augmenter la réponse autophagique des cellules : privation en acides aminés, réponse hormonale, stress oxydatif, changement du volume cellulaire, accumulation d'agrégats protéiques. Il n'est donc pas surprenant que de nombreuses voies de signalisation aient été décrites comme pouvant réguler l'autophagie (Meijer & Codogno, 2004 ; Møller *et al.*, 2004). Néanmoins, parmi toutes ces voies de signalisation, des études sur des cultures cellulaires de mammifères ont montré que la voie insulinique *via* la PI3K de type I et la kinase TOR ont un rôle privilégié dans la réponse autophagique aux acides aminés et aux changements environnementaux (Meijer & Codogno, 2004 ; van Sluijters *et al.*, 2000) (Fig. 1). Plus récemment le rôle majeur de ces modes de signalisation dans le contrôle de l'autophagie a été établi *in vivo* chez la Drosophile et le nématode *Caenorhabditis elegans* (Melendez *et al.*, 2003 ; Rusten *et al.*, 2004 ; Scott *et al.*, 2004).

Rôle de la PI3K de type I et de mTOR dans le contrôle de l'autophagie

Il ne s'agit pas ici de donner une vision exhaustive de la voie de signalisation de la PI3K de type I et du fonctionnement de la kinase TOR, sujets qui ont été traités dans de nombreuses revues récentes (Anderson & Jackson, 2003 ; Avruch *et al.*, 2001 ; Dennis *et al.*, 1999 ;

Jacinto & Hall, 2003 ; Manning & Cantley, 2003), mais d'expliquer comment l'autophagie observée lors du jeûne est un phénomène contrôlé.

L'activation de la voie de la PI3K de type I par des hormones et celle de la kinase mTOR par les acides aminés ont un effet inhibiteur sur l'autophagie (Meijer & Codogno, 2004). L'inhibition de l'activité de la p70S6 kinase, qui est un effecteur de mTOR, n'est pas nécessaire à l'induction de l'autophagie (Scott *et al.*, 2004). Par contre, l'activité de cette kinase exerce un rétrocontrôle positif sur l'autophagie (Scott *et al.*, 2004). Ce contrôle permettrait d'expliquer le niveau basal d'autophagie observé dans les cellules dans un environnement

nutritif optimal. Cette autophagie permet d'assurer l'élimination de structures cellulaires altérées comme les mitochondries (Fig. 2). Dans ces conditions, le recyclage d'acides aminés par l'autophagie aurait un rôle mineur dans le métabolisme cellulaire. Lors de périodes de jeûne où l'apport d'acides aminés est minimal, l'inactivation de la kinase mTOR entraîne une stimulation de l'autophagie et une inhibition de la p70S6 kinase (Fig. 2). Dans le même temps, l'autophagie stimulée produit notamment des acides aminés nécessaires au maintien du métabolisme cellulaire et à sa rétro-inhibition (Shigemitsu *et al.*, 1999 ; van Sluijters *et al.*, 2000). Cette inhibition est probablement une des causes du déclin de la macroau-

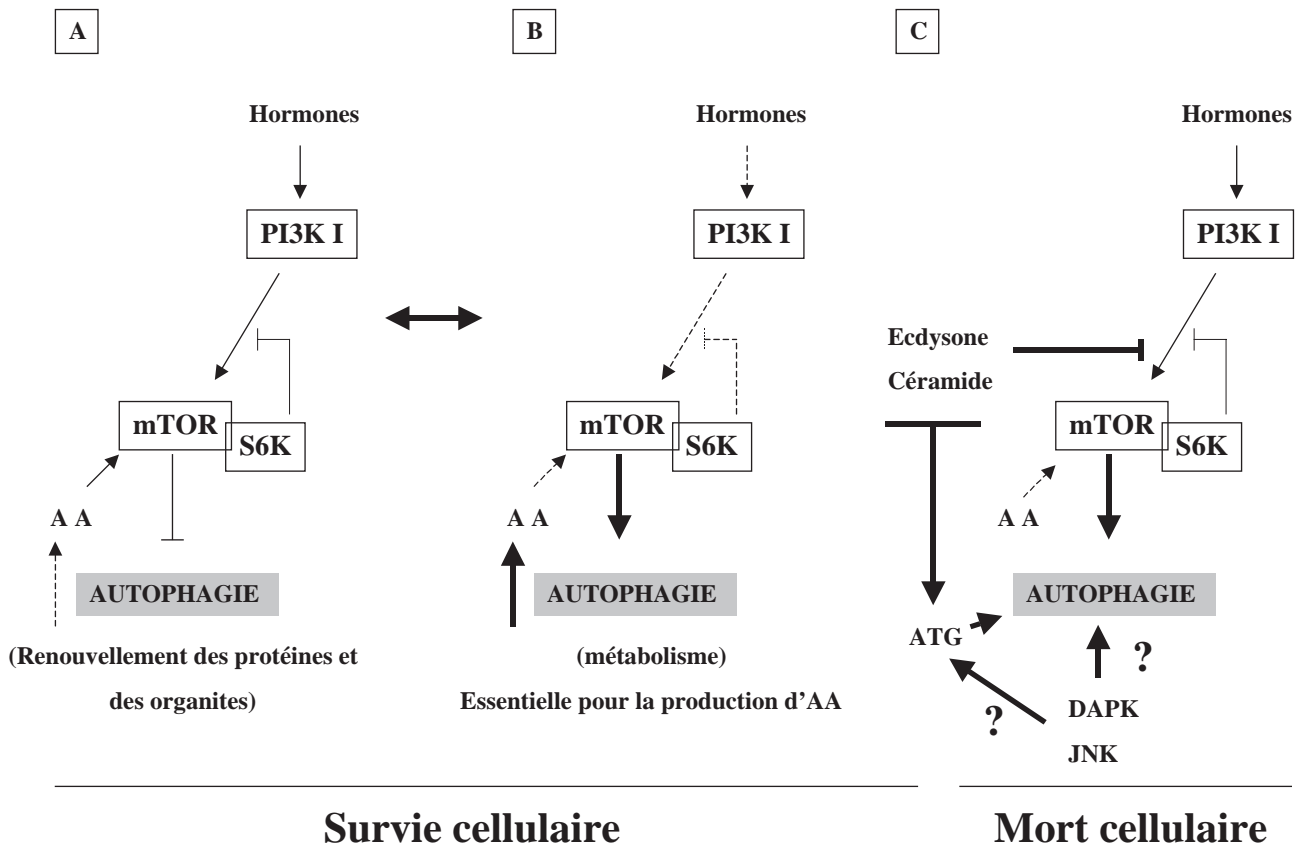


FIG. 2. – Rôle des modules de signalisation phosphatidylinositol 3-kinase de type I et mTOR au cours de l'autophagie et de la mort autophagique.

(A) En présence de nutriments (acides aminés : AA), l'activation de la kinase mTOR, sous l'effet d'une signalisation hormonale via la phosphatidylinositol 3-kinase de type I (PI3K I) et celui des acides aminés, entraîne une inhibition de l'autophagie. L'activation de la p70S6 kinase, un des effecteurs de mTOR exerce un rétrocontrôle négatif sur la voie de la PI3K I ce qui peut avoir comme conséquence un effet positif sur l'autophagie. Cette autophagie basale remplit des fonctions domestiques comme l'élimination de structures et macromolécules altérées. Elle n'est pas essentielle au métabolisme cellulaire.

(B) En période de jeûne, du fait de la faible disponibilité des acides aminés et de la faible activation de la PI3K I, la kinase mTOR est inactivée et l'autophagie stimulée. Cette autophagie permet de produire un réservoir d'acides aminés pour les besoins métaboliques de la cellule et d'exercer un rétrocontrôle négatif sur l'autophagie en activant la kinase mTOR. Lorsque la disponibilité des acides aminés d'origine exogène augmente, il y a un retour vers la situation antérieure (A). L'équilibre entre les situations (A) et (B) définit l'autophagie nutritionnelle qui est un mécanisme de survie. Dans ce contexte, l'autophagie n'est pas caractérisée par une induction de l'expression de gènes *ATG*, peut-être à l'exception de *ATG8/LC3*.

(C) Lors de la participation de l'autophagie à un programme de mort cellulaire, on observe fréquemment une inhibition de la voie PI3K I (ecdysone, céramide) et une induction de l'expression de gènes *ATG* autres que *ATG8/LC3*. Cette autophagie n'est plus rétro-inhibée par les acides aminés. D'autres voies de signalisation (c-Jun NH₂-Terminal kinase, JNK ; Death Associated Protein kinase, DAPK) participent aussi à l'activation de l'autophagie par des mécanismes encore à définir. De même, l'induction de l'expression de gènes *ATG* par ces voies de signalisation reste à étudier.

tophagie, observée dans certains tissus après quelques heures de jeûne, pour prévenir l'autodigestion cellulaire (Mortimore & Pösö, 1987; Dice, 2000).

AUTOPHAGIE ENTRE SURVIE ET MORT CELLULAIRE

Ce domaine ayant été traité dans de nombreuses revues récentes (Bursch, 2001; Edinger & Thompson, 2004; Golstein *et al.*, 2003; Gozuacik & Kimchi, 2004; Jäättelä, 2004; Lockshin & Zakeri, 2004; Ogier-Denis & Codogno, 2003; Piacentini *et al.*, 2003; Yuan *et al.*, 2003) ne sera pas traité ici de façon exhaustive. Néanmoins, il est intéressant d'analyser l'autophagie dans le contexte de la survie et de la mort cellulaire à la lumière des mécanismes moléculaires qui la contrôlent au cours du jeûne. Cette analyse, comme nous le verrons, permet de dégager des caractéristiques de l'autophagie dans ses contextes de survie et de mort cellulaire.

L'autophagie vue de la PI3K/mTOR dans la survie cellulaire

Une invalidation du gène TOR chez la Drosophile entraîne une stimulation de l'autophagie mais surtout une réduction de la croissance cellulaire (Scott *et al.*, 2004). L'autophagie étant un mécanisme qui contribue à la réduction du volume cellulaire, l'invalidation de gènes *ATG* a été réalisée avec comme objectif de rétablir une taille cellulaire proche de la normale dans les cellules TOR négatives. En fait, une dégénérescence cellulaire a été observée. Ces expériences montrent, d'une part, qu'une divergence existe entre les contrôles de la croissance et de l'autophagie au niveau de la kinase TOR et, d'autre part, que l'autophagie est un mécanisme de survie cellulaire. De même, l'invalidation de gènes *ATG* chez la plante *Arabidopsis thaliana* entraîne la mort cellulaire en période de carence azotée (Yoshimoto *et al.*, 2004). Dans les cellules de mammifères, l'autophagie contrôlée par les acides aminés protège les cellules de l'apoptose induite par des agents lysosomotropes (Boya *et al.*, 2004). Une étude récente a montré l'importance de la production des acides aminés par l'autophagie dans la survie du souriceau nouveau-né pour lui permettre de surmonter la brusque interruption d'apport de nutriments d'origine maternelle (Kuma *et al.*, 2004).

A ce stade, il est intéressant de rappeler que la découverte d'une partie des gènes *ATG* a été faite chez des mutants de levure incapables de survivre à la carence en source azotée (Tsukada & Ohsumi, 1993).

A partir des résultats synthétisés ci-dessus, il est possible de dégager certaines caractéristiques de l'autophagie nutritionnelle. Pour se mettre en place et être stimulée par le jeûne, l'autophagie ne nécessite pas l'induction des gènes *ATG* qui sont exprimés de manière constitutive. Une exception semble être le gène LC3/ATG8 dont il a été montré chez la levure que l'expression est sous la dépendance de la kinase TOR (Abeliovich *et al.*,

2000), mais ce point reste à confirmer chez les organismes multicellulaires. Enfin, comme cela a été décrit dans la section précédente, l'activation et la désactivation contrôlées par les acides aminés et les hormones de la voie PI3K de type I et du module mTOR sont des éléments importants de la régulation de l'autophagie (Fig. 2).

L'autophagie vue de la voie PI3K/TOR dans la mort cellulaire

Ayant posé les caractéristiques de l'autophagie nutritionnelle et du rôle de la voie de la PI3K de type I et du module de signalisation mTOR dans son contrôle, nous pouvons à la lumière de la littérature récente décrire certaines particularités de l'autophagie dans son contexte de mort.

Lors du développement larvaire chez la Drosophile une destruction de tissus endoréplicatifs est observée (Thummel, 2001). La mort des cellules dans ces tissus présente une morphologie autophagique et aussi des caractéristiques moléculaires apoptotiques (Baehrecke, 2003). L'ecdysone déclenche l'expression d'un certain nombre de gènes impliqués dans l'exécution du programme de mort cellulaire dont celle des gènes *ATG*. Deux études récentes ont montré la conservation fonctionnelle des produits de ces gènes dans la formation de l'autophagosome chez la Drosophile (Rusten *et al.*, 2004; Scott *et al.*, 2004). De façon remarquable, il a été montré que l'ecdysone, en levant l'effet inhibiteur de la voie de la PI3K, permet le déclenchement de l'autophagie programmée (Fig. 2). Le mécanisme intime par lequel l'ecdysone inhibe la voie PI3K reste cependant à élucider (Rusten *et al.*, 2004).

Dans les cellules cancéreuses mammaires humaines MCF-7, l'antiœstrogène tamoxifène induit une mort autophagique (Bursch *et al.*, 1996, 2000) sans signatures moléculaires ni morphologiques de l'apoptose. Nous avons mis en évidence, dans ce modèle, que le tamoxifène produit une augmentation intracellulaire du sphingolipide céramide (Scarlati *et al.*, 2004). En fait, le céramide déclenche l'autophagie par deux mécanismes; d'une part, il inhibe la voie de signalisation de la PI3K de type I en ciblant la protéine kinase Akt/PKB et, d'autre part, il stimule l'expression de beclin 1 (Fig. 2). Le mécanisme par lequel le céramide agit sur l'expression de beclin 1 est en cours d'étude.

De ces deux exemples ressortent plusieurs caractéristiques communes. D'une part une inhibition de la voie PI3K de type I et d'autre part une stimulation de l'expression d'un ou plusieurs gènes *ATG* (Fig. 2). De plus, cette autophagie n'est pas rétrocontrôlable par les acides aminés. S'il est certain que cette autophagie se distingue de l'autophagie nutritionnelle, il reste à déterminer sa contribution précise au cours de la mort cellulaire.

Si de nombreuses publications récentes rapportent l'induction de mort autophagique par divers composés notamment dans les cellules cancéreuses (Ogier-Denis & Codogno, 2003), les mécanismes par lesquels l'autophagie est induite sont dans la plupart des cas totalement inconnus. La connaissance de ces mécanismes est un

élément important pour mieux définir au plan moléculaire la mort autophagique.

Paradoxalement une étude récente montre que le traitement, entre autres, de cellules d'origine leucémique par un inhibiteur de caspases (le Z-VADfmk) induit une mort de type autophagique (Yu *et al.*, 2004). Une des caractéristiques de cette mort est de mettre en jeu la c-Jun NH₂-Terminal kinase (JNK). De cette étude deux observations importantes ressortent ; d'une part l'activité basale de caspases (ici la caspase 8) peut être impliquée dans des fonctions vitales (Garrido & Kroemer, 2004) et, d'autre part, l'activation de la JNK, fréquemment impliquée dans l'apoptose, stimule la formation de vacuoles autophagiques. Cette communauté de contrôle entre l'autophagie et l'apoptose est encore appuyée par le rôle de la Death Associated Protein kinase et sa protéine homologue DRP-1 dans la formation des bourgonnements membranaires au cours de l'apoptose, et leur rôle dans la mort autophagique probablement par leur action au niveau de la formation de l'autophagosome (Inbal *et al.*, 2002).

LA MITOCHONDRIE : UNE CIBLE DE L'AUTOPHAGIE

Le rôle de la mitochondrie dans l'exécution d'un programme apoptotique est maintenant bien documenté et notamment le phénomène de transition de perméabilité (PT) qui provoque un accroissement de perméabilité de la membrane interne de la mitochondrie et qui est associé à la libération dans le cytoplasme de facteurs pro-apoptotiques mitochondriaux (cytochrome c, AIF) (Ferri & Kroemer, 2001 ; Kroemer & Reed, 2000). Lors du fonctionnement normal de la cellule, certaines mitochondries subissent une altération de leurs constituants membranaires probablement du fait de la production d'espèces réactives de l'oxygène lors de la respiration mitochondriale. Ces mitochondries sont sélectivement retrouvées dans des autophagosomes (Elmore *et al.*, 2001). Dans ces circonstances, l'autophagie permet l'élimination de structures altérées et aussi probablement bloque la mise en place d'un programme apoptotique par défaut en limitant la libération de facteurs pro-apoptotiques mitochondriaux (Boya *et al.*, 2004). Il semblerait que, dans ces conditions, la membrane pré-autophagosomale reconnaisse les mitochondries à éliminer. Comment se fait cette reconnaissance sélective ? Répondre à cette question permettra de mieux comprendre la relation entre la mitochondrie et l'autophagie et aussi le rôle de l'autophagie dans la mort cellulaire. En effet, l'autophagie peut se mettre en place après une signalisation apoptotique qui atteint la mitochondrie (Tolkovsky *et al.*, 2002). Dans ces circonstances, on peut observer une mort présentant à la fois des critères apoptotiques et autophagiques. Certains candidats mitochondriaux ont été suggérés pour participer à la mise en place de l'autophagie : la protéine BNIP3 (Daido *et al.*, 2004 ; Van de Velde *et al.*, 2000), la protéine Hsp11 (Yanagisawa *et*

al., 2003) et la protéine de Uth1 qui contrôle la biogénèse mitochondriale chez *S. cerevisiae* (Camougrand *et al.*, 2004). Cette protéine déclenche une autophagie sélective vis-à-vis des mitochondries (Kissová *et al.*, 2004). Les cellules *Duth1* présentent un défaut d'autophagie mitochondriale mais une autophagie nutritionnelle comparable à celle des cellules sauvages. Il serait intéressant de savoir si la fonction d'Uth1 est conservée chez les mammifères et d'élucider la signalisation qui déclenche cette autophagie sélective. Enfin, à côté des protéines, le rôle de lipides mitochondriaux dans le déclenchement de l'autophagie mitochondriale ne peut être exclu (Kirkland *et al.*, 2002).

Un dernier aspect à considérer dans la relation entre mitochondrie et autophagie est lié à la taille des mitochondries (Terman *et al.*, 2004). Des cycles de fusion et de fission rythment l'homéostasie mitochondriale (Meeusen *et al.*, 2004). Les relations potentielles entre la machinerie autophagique et celle qui contrôle la fusion et la fragmentation des mitochondries sont des champs encore inexplorés.

CONCLUSION

L'élucidation des contrôles moléculaires de l'autophagie (gènes *ATG*, voies de signalisation) a permis de comprendre l'importance de ce mécanisme cellulaire fondamental. Il apparaît que l'autophagie nutritionnelle, dont les caractéristiques moléculaires et morphologiques sont relativement bien définies, permet la survie cellulaire. Son inhibition est souvent fatale pour la cellule et pour l'organisme en période de carence nutritionnelle. Cette autophagie est un phénomène finement contrôlé aussi bien dans sa stimulation que dans sa désactivation. Perturber durablement cette désactivation (interférence avec la voie PI3K/mTOR) peut entraîner la cellule vers une issue fatale. Dans ces situations on observe aussi un changement d'expression de certains gènes *ATG*, ce qui n'est pas un pré-requis pour l'autophagie nutritionnelle. La mort autophagique semble être protéiforme par le nombre d'acteurs qu'elle peut mettre en jeu. Il est probable qu'une meilleure connaissance des mécanismes moléculaires responsables de l'apparition de vacuoles lors de la mort cellulaire permettrait de mieux comprendre l'autophagie dans cette dimension. L'analyse de différents paramètres de l'autophagie sont aussi nécessaires (Mizushima, 2004). En effet, dans certaines situations, il apparaît que les « phénomènes autophagiques » décrits ne présentent pas l'ensemble des caractéristiques morphologiques et moléculaires de l'autophagie observée lors du jeûne (Asanuma *et al.*, 2003 ; Esselens *et al.*, 2004 ; Prentice *et al.*, 2004 ; Swanson *et al.*, 2002). Il est possible que, comme pour l'apoptose, l'autophagie se décline en plusieurs mécanismes apparentés mais non identiques dont la signification reste à élucider pour mieux comprendre son rôle dans de nombreuses situations physiopathologiques (Shintani & Klionsky, 2004).

BIBLIOGRAPHIE

- Abeliovich H., Dunn W. A. Jr., Kim J. & Klionsky D. J., Dissection of autophagosome biogenesis into distinct nucleation and expansion steps. *J. Cell Biol.*, 2000, 151, 1025-1034.
- Anderson K. E. & Jackson S. P., Class I phosphoinositide 3-kinases. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2003, 35, 1028-1033.
- Asanuma K., Tanida I., Shirato I., Ueno T., Takahara H., Nishitani T., Kominami E. & Tomino Y., MAP-LC3, a promising autophagosomal marker, is processed during the differentiation and recovery of podocytes from PAN nephrosis. *Faseb J.*, 2003, 17, 1165-1167.
- Avruch J., Belham C., Weng Q., Hara K. & Yonezawa K., The p70 S6 kinase integrates nutrient and growth signals to control translational capacity. *Prog. Mol. Subcell. Biol.*, 2001, 26, 115-154.
- Baehrecke E. H., Autophagic programmed cell death in *Drosophila*. *Cell Death Differ.*, 2003, 10, 940-945.
- Berg T. O., Fengsrud M., Stromhaug P. E., Berg T. & Seglen P. O., Isolation and characterization of rat liver amphisomes. Evidence for fusion of autophagosomes with both early and late endosomes. *J. Biol. Chem.*, 1998, 273, 21883-21892.
- Bergamini E., Cavallini G., Donati A. & Gori Z., The role of macroautophagy in the ageing process, anti-ageing intervention and age-associated diseases. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2004, 36, 2392-2404.
- Boya P., González-Polo R.-A., Casares N., Perfettini J. L., Laroche N., Métivier D., Meley D., Souquere S., Yoshimori T., Pierron G. *et al.*, Inhibition of macroautophagy triggers apoptosis. *Mol. Cell. Biol.*, 2005, 25, 1025-1040.
- Bursch W., The autophagosomal-lysosomal compartment in programmed cell death. *Cell Death Differ.*, 2001, 8, 569-581.
- Bursch W., Ellinger A., Kienzl H., Torok L., Pandey S., Sikorska M., Walker R. & Hermann R. S., Active cell death induced by the anti-estrogens tamoxifen and ICI 164 384 in human mammary carcinoma cells (MCF-7) in culture: the role of autophagy. *Carcinogenesis*, 1996, 17, 1595-1607.
- Bursch W., Hohegger K., Torok L., Marian B., Ellinger A. & Hermann R. S., Autophagic and apoptotic types of programmed cell death exhibit different fates of cytoskeletal filaments. *J. Cell Sci.*, 2000, 113, 1189-1198.
- Camougrand N., Kissová I., Velours G. & Manon S., Uth1p: a yeast mitochondrial protein at the crossroads of stress, degradation and cell death. *FEMS Yeast Res.*, 2004, 5, 133-140.
- Clarke P. G., Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanisms. *Anat. Embryol. (Berl.)*, 1990, 181, 195-213.
- Cuervo A. M., Autophagy: in sickness and in health. *Trends Cell Biol.*, 2004, 14, 70-77.
- Daido S., Kanzawa T., Yamamoto A., Takeuchi H., Kondo Y. & Kondo S., Pivotal role of the cell death factor BNIP3 in ceramide-induced autophagic cell death in malignant glioma cells. *Cancer Res.*, 2004, 64, 4286-4293.
- de Duve C. & Wattiaux R., Functions of lysosomes. *Annu. Rev. Physiol.*, 1996, 28, 435-492.
- Dennis P. B., Fumagalli S. & Thomas G., Target of rapamycin (TOR): balancing the opposing forces of protein synthesis and degradation. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 1999, 9, 49-54.
- Dice J. F., Lysosomal pathways of protein degradation. Landes Bioscience, Austin, TX, pp. 107, 2000.
- Dorn B. R., Dunn W. A. Jr. & Progulsk-Fox A., Bacterial interactions with the autophagic pathway. *Cell Microbiol.*, 2002, 4, 1-10.
- Edinger A. L. & Thompson C. B., Defective autophagy leads to cancer. *Cancer Cell*, 2003, 4, 422-424.
- Edinger A. L. & Thompson C. B., Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2004, 16, 663-669.
- Elmore S. P., Qian T., Grissom S. F. & Lemasters J. J., The mitochondrial permeability transition initiates autophagy in rat hepatocytes. *Faseb J.*, 2001, 15, 2286-2287.
- Eskelinen E. L., Maturation of autophagic vacuoles in mammalian cells. *Autophagy*, 2004, in press.
- Esselens C., Oorschot V., Baert V., Raemaekers T., Spittaels K., Serneels L., Zheng H., Saffig P., De Strooper B., Klumperman J. *et al.*, Presenilin 1 mediates the turnover of telencephalin in hippocampal neurons via an autophagic degradative pathway. *J. Cell Biol.*, 2004, 166, 1041-1054.
- Fengsrud M., Roos N., Berg T., Liou W., Slot J. W. & Seglen P. O., Ultrastructural and immunocytochemical characterization of autophagic vacuoles in isolated hepatocytes: effects of vinblastine and asparagine on vacuole distributions. *Exp. Cell Res.*, 1995, 221, 504-519.
- Ferri K. F. & Kroemer G., Mitochondria – the suicide organelles. *Bioessays*, 2001, 23, 111-115.
- Garrido C. & Kroemer G., Life's smile, death's grin: vital functions of apoptosis-executing proteins. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2004, 16, 639-646.
- Golstein P., Aubry L. & Levraud J. P., Cell-death alternative model organisms: why and which? *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2003, 4, 798-807.
- Gozuacik D. & Kimchi A., Autophagy as a cell death and tumor suppressor mechanism. *Oncogene*, 2004, 23, 2891-2906.
- Inbal B., Bialik S., Sabanay I., Shani G. & Kimchi A., DAP kinase and DRP-1 mediate membrane blebbing and the formation of autophagic vesicles during programmed cell death. *J. Cell Biol.*, 2002, 157, 455-468.
- Jäättelä M., Multiple cell death pathways as regulators of tumour initiation and progression. *Oncogene*, 2004, 23, 2746-2756.
- Jacinto E. & Hall M. N., Tor signalling in bugs, brain and brawn. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2003, 4, 117-126.
- Kihara A., Kabeya Y., Ohsumi Y. & Yoshimori T., Beclin-phosphatidylinositol 3-kinase complex functions at the trans-Golgi network. *EMBO Rep.*, 2001a, 2, 330-335.
- Kihara A., Noda T., Ishihara N. & Ohsumi Y., Two distinct Vps34 phosphatidylinositol 3-kinase complexes function in autophagy and carboxypeptidase Y sorting in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell Biol.*, 2001b, 152, 519-530.
- Kirkegaard K., Taylor M. P. & Jackson W. T., Cellular autophagy: surrender, avoidance and subversion by microorganisms. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2004, 2, 301-314.
- Kirkland R. A., Adibhatla R. M., Hatcher J. F. & Franklin J. L., Loss of cardiolipin and mitochondria during programmed neuronal death: evidence of a role for lipid peroxidation and autophagy. *Neuroscience*, 2002, 115, 587-602.
- Kissová I., Deffieu M., Manon S. & Camougrand N., Uth1p is involved in the autophagic degradation of mitochondria. *J. Biol. Chem.*, 2004, 279, 39068-39074.
- Klionsky D. J., Cregg J. M., Dunn W. A. Jr., Emr S. D., Sakai Y., Sandoval I. V., Sibirny A., Subramani S., Thumm M., Veenhuis M. *et al.*, A unified nomenclature for yeast autophagy-related genes. *Dev. Cell*, 2003, 5, 539-545.
- Klionsky D. J. & Emr S. D., Autophagy as a regulated pathway of cellular degradation. *Science*, 2000, 290, 1717-1721.
- Kroemer G. & Reed J. C., Mitochondrial control of cell death. *Nat. Med.*, 2000, 6, 513-519.
- Kuma A., Hatano M., Matsui M., Yamamoto A., Nakaya H., Yoshimori T., Ohsumi Y., Tokuhisa T. & Mizushima N., The role of autophagy during the early neonatal starvation period. *Nature*, 2004, 432, 1032-1036.
- Larsen K. E. & Sulzer D., Autophagy in neurons: a review. *Histol. Histopathol.*, 2002, 17, 897-908.
- Levine B. & Klionsky D. J., Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy. *Dev. Cell*, 2004, 6, 463-477.

- Liang X. H., Jackson S., Seaman M., Brown K., Kempkes B., Hibshoosh H. & Levine B., Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature*, 1999, 402, 672-676.
- Liang X. H., Kleeman L. K., Jiang H. H., Gordon G., Goldman J. E., Berry G., Herman B. & Levine B., Protection against fatal Sindbis virus encephalitis by beclin, a novel Bcl-2-interacting protein. *J. Virol.*, 1998, 72, 8586-8596.
- Liou W., Geuze H. J., Geelen M. J. & Slot J. W., The autophagic and endocytic pathways converge at the nascent autophagic vacuoles. *J. Cell Biol.*, 1997, 136, 61-70.
- Lockshin R. A. & Zakeri Z., Apoptosis, autophagy, and more. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2004, 36, 2405-2419.
- Manning B. D. & Cantley L. C., Rheb fills a GAP between TSC and TOR. *Trends Biochem. Sci.*, 2003, 28, 573-576.
- Meeusen S., McCaffery J. M. & Nunnari J., Mitochondrial fusion intermediates revealed *in vitro*. *Science*, 2004, 305, 1747-1752.
- Meijer A. J. & Codogno P., Regulation and role of autophagy in mammalian cells. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2004, 36, 2445-2462.
- Melendez A., Tallóczy Z., Seaman M., Eskelinen E. L., Hall D. H. & Levine B., Autophagy genes are essential for dauer development and life-span extension in *C. elegans*. *Science*, 2003, 301, 1387-1391.
- Mizushima N., Methods for monitoring autophagy. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2004, 36, 2491-2502.
- Mizushima N., Ohsumi Y. & Yoshimori T., Autophagosome formation in mammalian cells. *Cell Struct. Funct.*, 2002, 27, 421-429.
- Møller M. T., Samari H. R., Holden L. & Seglen P. O., Regulation of mammalian autophagy by protein phosphorylation. In *Autophagy*, (ed. D. J. Klionsky), Georgetown, TX: Landes Bioscience, pp. 49-59, 2004.
- Mortimore G. E. & Pösö A. R., Intracellular protein catabolism and its control during nutrient deprivation and supply. *Annu. Rev. Nutr.*, 1987, 7, 539-564.
- Nakagawa, I., Amano, A., Mizushima, N., Yamamoto, A., Yamaguchi, H., Kamimoto, T., Nara, A., Funao, J., Nakata, M., Tsuda, K. et al. (2004). Autophagy defends cell against invading group A *Streptococcus*. *Science* 306, 1037-1040.
- Nishino I., Autophagic vacuolar myopathies. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.*, 2003, 3, 64-69.
- Noda T., Suzuki K. & Ohsumi Y., Yeast autophagosomes: de novo formation of a membrane structure. *Trends Cell Biol.*, 2002, 12, 231-235.
- Ogier-Denis E. & Codogno P., Autophagy: a barrier or an adaptive response to cancer? *Biochim. Biophys. Acta*, 2003, 1603, 113-128.
- Ohsumi Y., Molecular dissection of autophagy: two ubiquitin-like systems. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2001, 2, 211-216.
- Petiot A., Ogier-Denis E., Blommaert E. F., Meijer A. J. & Codogno P., Distinct classes of phosphatidylinositol 3'-kinases are involved in signaling pathways that control macroautophagy in HT-29 cells. *J. Biol. Chem.*, 2000, 275, 992-998.
- Piacentini M., Evangelisti C., Mastroberardino P. G., Nardacci R. & Kroemer G., Does prothymosin-alpha act as molecular switch between apoptosis and autophagy? *Cell Death Differ.*, 2003, 10, 937-939.
- Prentice E., Jerome W. G., Yoshimori T., Mizushima N. & Denison M. R., Coronavirus replication complex formation utilizes components of cellular autophagy. *J. Biol. Chem.*, 2004, 279, 10136-10141.
- Qu X., Yu J., Bhagat G., Furuya N., Hibshoosh H., Troxel A., Rosen J., Eskelinen E. L., Mizushima N., Ohsumi Y. et al., Promotion of tumorigenesis by heterozygous disruption of the beclin 1 autophagy gene. *J. Clin. Invest.*, 2003, 112, 1809-1820.
- Rusten T. E., Lindmo K., Juhasz G., Sass M., Seglen P. O., Brech A. & Stenmark H., Programmed autophagy in the *Drosophila* fat body is induced by ecdysone through regulation of the PI3K pathway. *Dev. Cell*, 2004, 7, 179-192.
- Saeki K., Yuo A., Okuma E., Yazaki Y., Susin S. A., Kroemer G. & Takaku F., Bcl-2 down-regulation causes autophagy in a caspase-independent manner in human leukemic HL60 cells. *Cell Death Differ.*, 2000, 7, 1263-1269.
- Saftig P., Tanaka Y., Lullmann-Rauch R. & von Figura K., Disease model: LAMP-2 enlightens Danon disease. *Trends Mol. Med.*, 2001, 7, 37-39.
- Scarlatti F., Bauvy C., Venturi A., Sala G., Cluzeaud F., Vandewalle A., Ghidoni R. & Codogno P., Ceramide-mediated macroautophagy involves inhibition of protein kinase B and up-regulation of beclin 1. *J. Biol. Chem.*, 2004, 279, 18384-18391.
- Scott R. C., Schuldiner O. & Neufeld, T. P., Role and regulation of starvation-induced autophagy in the *Drosophila* fat body. *Dev. Cell*, 2004, 7, 167-178.
- Shigemitsu K., Tsujishita Y., Hara K., Nanahoshi M., Avruch J. & Yonezawa K., Regulation of translational effectors by amino acid and mammalian target of rapamycin signaling pathways. Possible involvement of autophagy in cultured hepatoma cells. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274, 1058-10565.
- Shintani T. & Klionsky D. J., Autophagy in health and disease: a double-edged sword. *Science*, 2004, 306, 990-995.
- Stromhaug P. E. & Klionsky D. J., Approaching the molecular mechanism of autophagy. *Traffic*, 2001, 2, 524-531.
- Swanson M. S. & Fernandez-Moreira E., A microbial strategy to multiply in macrophages: the pregnant pause. *Traffic*, 2002, 3, 170-177.
- Tallóczy Z., Jiang W., Virgin H. W. IV, Leib D. A., Scheuner D., Kaufman R. J., Eskelinen E. L. & Levine B., Regulation of starvation- and virus-induced autophagy by the eIF2alpha kinase signaling pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, 99, 190-195.
- Tanida I., Ueno T. & Kominami E., LC3 conjugation system in mammalian autophagy. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2004, 36, 2503-2518.
- Terman A., Dalen H., Eaton J. W., Neuzil J. & Brunk U. T., Aging of cardiac myocytes in culture: oxidative stress, lipofuscin accumulation, and mitochondrial turnover. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2004, 1019, 70-77.
- Thummel C. S., Steroid-triggered death by autophagy. *Bioessays*, 2001, 23, 677-682.
- Tokunaga C., Yoshino K. & Yonezawa K., mTOR integrates amino acid- and energy-sensing pathways. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2004, 313, 443-446.
- Tolkovsky A. M., Xue L., Fletcher G. C. & Borutaite V., Mitochondrial disappearance from cells: a clue to the role of autophagy in programmed cell death and disease? *Biochimie*, 2002, 84, 233-240.
- Tsukada M. & Ohsumi Y., Isolation and characterization of Autophagy-Defective mutants of *Saccharomyces-Cerevisiae*. *FEBS Lett.*, 1993, 333, 169-174.
- van Sluijters D. A., Dubbelhuis P. F., Blommaert, E. F. C. & Meijer A. J., Amino-acid-dependent signal transduction. *Biochem. J.*, 2000, 351, 545-550.
- Van de Velde C., Cizeau J., Dubik D., Alimonti J., Brown T., Israels S., Hakem R. & Greenberg A. H., BNIP3 and genetic control of necrosis-like cell death through the mitochondrial permeability transition pore. *Mol. Cell Biol.*, 2000, 20, 5454-5468.
- Yanagisawa H., Miyashita T., Nakano Y. & Yamamoto D., HSpin1, a transmembrane protein interacting with Bcl-2/Bcl-xL, induces a caspase-independent autophagic cell death. *Cell Death Differ.*, 2003, 10, 798-807.
- Yoshimori T., Autophagy: a regulated bulk degradation process

- inside cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2004, 313, 453-458.
- Yoshimoto K., Hanaoka H., Sato S., Kato T., Tabata S., Noda T. & Ohsumi Y., Processing of ATG8s, Ubiquitin-Like Proteins, and Their Deconjugation by ATG4s Are Essential for Plant Autophagy. *Plant Cell*, 2004, 16, 2967-2983.
- Yu L., Alva A., Su H., Dutt P., Freundt E., Welsh S., Baehrecke E. H. & Lenardo M. J., Regulation of an ATG7-beclin 1 program of autophagic cell death by caspase-8. *Science*, 2004, 304, 1500-1502.
- Yuan J., Lipinski M. & Degtrev A., Diversity in the mechanisms of neuronal cell death. *Neuron*, 2003, 40, 401-413.
- Yue Z., Horton A., Bravin M., DeJager P. L., Selimi F. & Heintz N., A novel protein complex linking the delta 2 glutamate receptor and autophagy: implications for neurodegeneration in lurcher mice. *Neuron*, 2002, 35, 921-933.
- Yue Z., Jin S., Yang C., Levine A. J. & Heintz N., Beclin 1, an autophagy gene essential for early embryonic development, is a haploinsufficient tumor suppressor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, 100, 15077-15082.
-