

Mécanismes d'adaptation à la disponibilité en acides aminés indispensables : rôles de la voie GCN2/eIF2 α /ATF4

Pierre Fafournoux, Julien Averous, Alain Bruhat, Valérie Carraro, Céline Jousse, Anne-Catherine Maurin, Florent Mesclon et Laurent Parry

Unité de Nutrition Humaine, UMR 1019, INRA de Clermont-Theix, Université de Clermont-Ferrand, 63122 Saint Genès Champanelle, France

Auteur correspondant : Pierre Fafournoux, pierre.fafournoux@clermont.inra.fr

Reçu 29 janvier 2016

Résumé – Chez les mammifères, des systèmes d'adaptation du métabolisme sont nécessaires afin de surmonter les privations nutritionnelles en acides aminés/protéines, ainsi que certains épisodes de malnutrition. La protéine kinase GCN2, qui phosphoryle la sous-unité α du facteur d'initiation de la traduction eIF2, est un détecteur des déficits en acides aminés. Dans un premier temps, cette revue décrit brièvement les principales caractéristiques du métabolisme des acides aminés. Dans un deuxième temps, elle décrit le rôle de GCN2 dans la régulation de nombreuses fonctions physiologiques.

Mots clés : Acides aminés / nutrition / GCN2

Abstract – Adaptation to the availability of essential amino-acids: role of GCN2/eIF2 α /ATF4 pathway.

In mammals, metabolic adaptations are required to overcome nutritional deprivation in amino-acids/proteins as well as episodes of malnutrition. GCN2 protein kinase, which phosphorylates the α subunit of the translation initiation factor eIF2, is a sensor of amino-acid(s) deficiencies. On one hand, this review briefly describes the main features of amino-acid metabolism. On the other hand, it describes the role of GCN2 in regulating numerous physiological functions.

Key words: Amino-acids / nutrition / GCN2

Abréviations

IDO : indoleamine 2,3 dioxygénase
LTM : mémoire à long terme
LTP : plasticité synaptique à long terme
mTORC1 : *mammalian target of rapamycin complex 1 or mechanistic target of rapamycin complex 1*
GCN2 : *general control nonderepressible 2*
PVOD : *pulmonary veno-occlusive disease*
VEGF : *vascular endothelial growth factor*

Introduction

Chez les mammifères, l'apport en nutriments est discontinu et hautement variable. Pendant les périodes de jeûne ou de déséquilibre nutritionnel, les organismes supérieurs ont développé des mécanismes complexes capables d'amortir l'effet de ces fluctuations. Un premier niveau de régulation est basé sur des relations entre tissus spécialisés (tissu adipeux, foie et masse musculaire). Un deuxième niveau de régulation est assuré par la capacité de chacun de ces tissus à moduler

certaines activités enzymatiques en réponse à une modification nutritionnelle. Pour cela, les cellules doivent réguler l'expression d'un certain nombre de leurs gènes *via* des processus hormonaux ou nerveux auxquels s'ajoute un contrôle direct par la concentration en nutriments. Ainsi, la plupart des macro- et micronutriments sont capables de contrôler eux-mêmes l'expression de gènes cibles (Foufelle *et al.*, 1998; Bruhat *et al.*, 1999; Pégrier *et al.*, 2004; Kilberg *et al.*, 2005).

Homéostasie des acides aminés

Chez les adultes en bonne santé, neuf acides aminés (valine, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, tryptophane, histidine) sont indispensables, c'est-à-dire qu'il ne peuvent pas être synthétisés *de novo* par l'organisme et doivent être impérativement apportés par l'alimentation (McLarney *et al.*, 1996). De plus, dans certaines situations physiologiques ou pathologiques, certains acides aminés non indispensables peuvent le devenir, comme par exemple, la cystéine chez les enfants en croissance. On parle alors d'acides aminés conditionnellement indispensables. Un apport alimentaire insuffisant en acides aminés indispensables va entraîner une hydrolyse des protéines de façon à fournir les acides aminés manquants. Étant donné qu'il n'y a pas de réserve dédiée, la mobilisation des acides aminés se fait aux dépens de protéines fonctionnelles, et donc d'éléments essentiels pour l'organisme (comme le muscle à la suite de l'hydrolyse des protéines musculaires). Cette situation peut rapidement entraîner des symptômes cliniques. Les principaux facteurs affectant le métabolisme azoté et l'amino-acidémie sont le statut nutritionnel ainsi que différentes formes d'agressions.

Le statut nutritionnel

Une situation nutritionnelle très fréquente chez les omnivores à l'état sauvage est la consommation d'un régime alimentaire déficient en un acide aminé indispensable. Un animal n'ayant à sa disposition qu'une seule source protéique d'origine végétale a de fortes chances d'être carencé en un acide aminé indispensable (Chaveroux *et al.*, 2010). Il a été montré, chez les rongeurs et les omnivores (rat, souris, cochon, poulet...), que la consommation d'un régime déficient en un acide aminé indispensable entraîne une diminution rapide et nette de la prise alimentaire. Ce phénotype résulte de la détection par le cerveau de la diminution de la concentration plasmatique de l'acide aminé limitant (Leung *et al.*, 1968; Gietzen, 1993).

Agressions

De nombreuses situations d'agression (trauma, brûlure, sepsis, fièvre...) peuvent conduire à un état de balance azotée négative et à une diminution importante de la masse corporelle. De tels états de cachexie peuvent également être associés à des maladies chroniques comme certaines maladies cardiaques, pulmonaires, hépatiques, rénales ou encore le SIDA et le cancer. Dans cette situation, de fortes variations de concentration en acides aminés sont observées dans le plasma et les urines (Wolfe *et al.*, 1989).

Les voies de signalisation régulées par la disponibilité en acides aminés chez les mammifères

Deux voies essentielles de réponse aux variations de concentrations intracellulaires en acides aminés ont été identifiées chez les mammifères. Elles impliquent respectivement les protéines kinases mTORC1 et GCN2. Le rôle de mTORC1 est de réguler la synthèse protéique ainsi que certaines fonctions physiologiques telles que la croissance ou la prolifération cellulaire. L'activité de mTORC1 est fortement régulée par certains acides aminés indispensables comme la leucine : elle est stimulée par l'augmentation et inhibée par la baisse de la concentration en leucine. Dans le cadre de cette revue, nous ne détaillerons pas davantage les rôles de mTORC1. Ils ont par ailleurs été bien décrits dans plusieurs articles de synthèse récents (Laplante & Sabatini, 2012; Shimobayashi & Hall, 2016).

La voie de signalisation impliquant la protéine kinase GCN2 a également été bien décrite chez les mammifères (Hinnebusch, 1994). L'activité enzymatique de cette kinase est augmentée à la suite d'un déficit en acides aminés. GCN2 possède un domaine homologue à l'histidyl-tRNA synthétase lui permettant de lier les ARN de transfert, dont la concentration augmente à l'intérieur de la cellule lors d'une carence en acide aminés. Il résulte de cette liaison un changement conformationnel permissif conduisant à l'auto-activation de GCN2 qui va alors phosphoryler la sous-unité α du facteur d'initiation de la traduction eIF2. La phosphorylation d'eIF2 α va avoir pour conséquence une inhibition de la formation du complexe d'initiation de la traduction, entraînant une forte inhibition de la synthèse protéique (figure 1). Dans ces conditions et grâce à une structure particulière de sa région 5' non traduite, la traduction du messenger du facteur de transcription ATF4 est augmentée (Dudeck *et al.*, 1987; Lu *et al.*, 2004; Vattem & Wek, 2004). ATF4 peut alors induire la transcription de gènes cibles possédant dans leur promoteur des éléments de réponse aux acides aminés (*Amino*

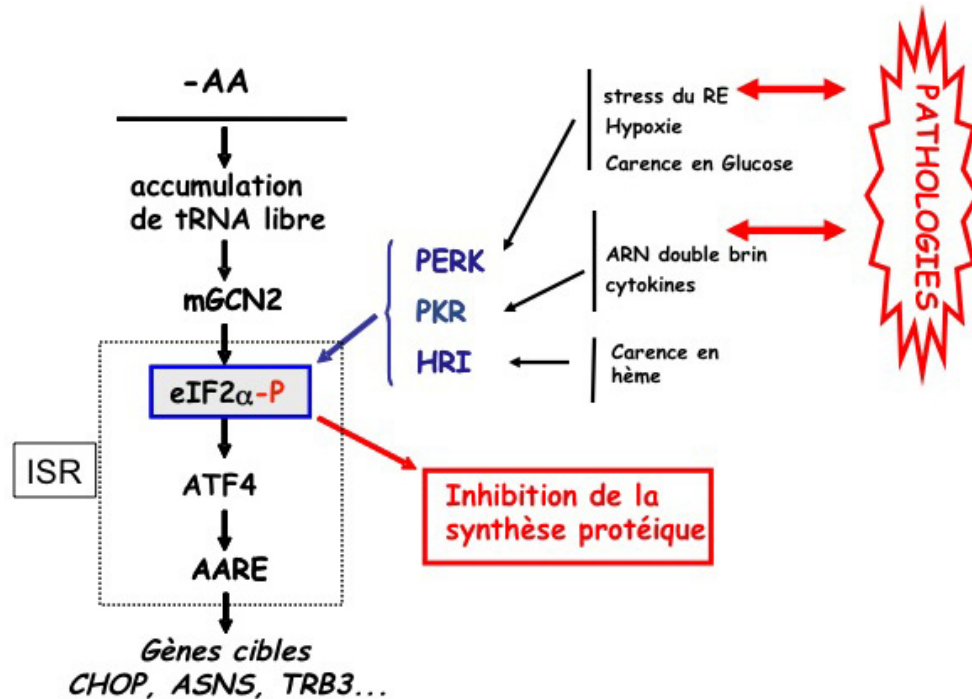


Fig. 1. La voie de signalisation GCN2/ATF4.

Chez le mammifère, en plus de GCN2, trois autres kinases peuvent phosphoryler eIF2 α . La partie aval de la voie de signalisation (encadrée en pointillé) est appelé ISR pour *Integrated Stress Response*. En effet, cette partie de la voie est commune à la réponse à d'autres stress.

Acid Response Element ou AARE) (Harding *et al.*, 2003). Les mécanismes moléculaires impliqués dans cette régulation ont été décrits dans d'autres revues (Chaveroux *et al.*, 2010).

En couplant la détection du déficit en un acide aminé indispensable à la phosphorylation d'eIF2 α , GCN2 ne régule pas seulement les taux de synthèse protéique, elle contrôle également l'expression de nombreux gènes spécifiques, impliqués dans l'adaptation des cellules à la situation de carence. De même, la phosphorylation d'eIF2 α est un élément clé qui se trouve être à la croisée de différentes voies de signalisation de stress. En effet, chez les mammifères, il existe au moins trois autres protéines kinases, en plus de GCN2, capables de phosphoryler eIF2 α . Il s'agit des kinases activées par le stress du réticulum endoplasmique (PERK), la carence en hème (HRI), et les ARN double brin (PKR) (Harding *et al.*, 2002).

Rôles de GCN2

GCN2 est exprimée dans de très nombreux tissus, mais à des niveaux très variables (Castilho *et al.*, 2014). Les souris invalidées pour le gène codant GCN2 sont viables et ne présentent pas de phénotype « basal » apparent. Récemment, plusieurs publications ont

démonstré l'implication de GCN2 dans la régulation de plusieurs fonctions physiologiques ainsi que dans plusieurs pathologies.

Régulation de la prise alimentaire

Dans la nature, le comportement des animaux est dicté en partie par la recherche d'aliments susceptibles d'apporter les nutriments essentiels au fonctionnement de leur organisme. Cette sélection de la nourriture est particulièrement remarquable chez les omnivores, qui ont la capacité d'utiliser des sources diverses pour maintenir un statut nutritionnel équilibré. Outre des facteurs culturels et d'apprentissage, des facteurs innés interviennent également dans la sélection de la nourriture. Comme évoqué précédemment, les omnivores sont capables de détecter une carence alimentaire en un acide aminé indispensable et rejettent ce régime considéré comme nocif. Nous avons montré que : (i) le comportement de diminution de prise alimentaire lors d'un déficit nutritionnel en acide aminé indispensable résulte de l'activation de GCN2 dans le cerveau (Hao, 2005; Maurin *et al.*, 2005); (ii) le noyau arqué de l'hypothalamus joue un rôle très important dans cette régulation. En effet, une activation pharmacologique de GCN2 ciblée au niveau du noyau

arqué entraîne une forte inhibition de la prise alimentaire en dehors de tout déficit nutritionnel en acide aminé (Maurin *et al.*, 2014). L'identité des neurones impliqués dans cette régulation reste à définir ainsi que les mécanismes moléculaires en aval de l'activation de GCN2.

Régulation de l'autophagie

Comme déjà mentionné, l'adaptation à un déficit en nutriments est particulièrement importante dans le cas des acides aminés. En de telles circonstances les cellules doivent donc activer des processus de régulation afin de maintenir leur homéostasie. L'organisme répond en hydrolysant des protéines dans certains tissus pour produire des acides aminés libres afin de maintenir une synthèse protéique minimale. Des travaux pionniers ont montré que le premier tissu qui hydrolyse des protéines à la suite d'une déficience alimentaire en acide aminé est le foie, et ce, par le biais de l'activation de l'autophagie (Mortimore *et al.*, 1989).

Le processus autophagique repose sur un mécanisme complexe impliquant environ 35 gènes (*Atg*, *Autophagy related genes*) qui fonctionnent d'une manière étroitement coordonnée (He & Klionsky, 2009; Galluzzi *et al.*, 2014), en particulier au moyen de nombreuses modifications post-traductionnelles des protéines. Dans les premières heures qui suivent une carence en acides aminés, les cellules sont capables de générer des autophagosomes. Si la carence persiste, le renouvellement des protéines impliquées dans le processus autophagique devient rapidement indispensable, nécessitant l'induction des gènes codant ces protéines à un niveau transcriptionnel.

La régulation de l'autophagie en fonction de la disponibilité des acides aminés implique les deux protéines kinases mTORC1 et GCN2 (Galluzzi *et al.*, 2014; Meijer *et al.*, 2015). Dans des conditions de pléthore, l'activation de mTORC1 inhibe l'autophagie; réciproquement, une privation d'acides aminés inhibe mTORC1, ce qui aura pour conséquence une activation de l'autophagie.

Concernant GCN2, un ensemble de données récentes montre qu'elle régule l'autophagie en fonction de la disponibilité des acides aminés à l'intérieur des cellules. Il a été clairement montré que l'activation de la voie GCN2 consécutive à une carence en acides aminés déclenche tout d'abord l'initiation de l'autophagie. Ceci est particulièrement net au niveau du foie. Si la carence en acides aminés se prolonge, l'activation de la voie GCN2/eIF2 α /ATF4 augmente la transcription d'un grand nombre de gènes impliqués dans la formation, la maturation et le fonctionnement des autophagosomes (B'chir *et al.*, 2013).

Rôle de GCN2 dans la plasticité neuronale

Il a été démontré que le contrôle de traduction par la voie de signalisation eIF2 α joue un rôle important dans la plasticité synaptique à long terme (LTP) et la consolidation de la mémoire à long terme (LTM) (Kandel, 2001). Deux publications ont mis en évidence l'importance du couple GCN2/P-eIF2 α dans les processus de plasticité synaptique. Costa-Mattioli *et al.* ont montré que LTM et LTP étaient renforcées dans l'hippocampe de souris invalidées pour GCN2 (Costa-Mattioli *et al.*, 2005; 2007). À l'inverse, une inhibition pharmacologique des phosphatases d'eIF2 α (Sal003) bloque LTP et LTM (Costa-Mattioli *et al.*, 2007).

Ces données confirment l'idée que la phosphorylation d'eIF2 α régule LTP et LTM à travers le contrôle de traduction d'ARNm spécifiques, tels que celui d'ATF4. ATF4 est un répresseur de l'expression des gènes régulés par le facteur de transcription CREB (*cAMP response element binding protein*) qui est considéré comme nécessaire pour l'expression de gènes impliqués dans la formation de la mémoire. Dans ce modèle, le rôle joué par la disponibilité en acides aminés dans le microenvironnement cellulaire peut également se poser.

GCN2 et le système immunitaire

La voie de signalisation contrôlée par GCN2 est impliquée dans la régulation du système immunitaire à différents niveaux. Premièrement, elle a été impliquée dans le devenir des agents pathogènes dans les cellules épithéliales infectées. Par exemple, l'infection des cellules épithéliales par *Shigella* et *Salmonella* entraîne une forte baisse de concentration des acides aminés intracellulaires en raison de dommages à la membrane de la cellule hôte. Cette carence en acides aminés active la voie GCN2/eIF2 α /ATF4 qui déclenche une réponse protectrice immunitaire innée contre les bactéries (Tattoli *et al.*, 2012). Cette réponse implique une augmentation nette de l'activité autophagique dans les cellules infectées, une production de cytokines inflammatoires *via* l'induction d'ATF3 et ATF4 et la potentialisation de la voie NF- κ B.

Deuxièmement, la voie GCN2-eIF2 α est utilisée dans le dialogue entre les cellules dendritiques et les lymphocytes T afin de promouvoir l'anergie, en modérant la réponse des cellules T. En effet, les cellules dendritiques activées expriment de grandes quantités d'AAACE (*Amino Acid Consuming Enzymes*) tels que l'indoleamine 2,3 dioxygénase (IDO) et l'arginase, ce qui conduit à la diminution locale de tryptophane et d'arginine (Munn *et al.*, 2005; Mellor & Munn, 2008). L'augmentation des niveaux d'ARN de transfert (ARNt) non chargés en tryptophane et/ou

arginine dans des cellules T CD4⁺ voisines va activer GCN2, qui, à son tour, favorise l'arrêt du cycle cellulaire et la différenciation en cellules T régulatrices. Il a ainsi été proposé que GCN2 joue le rôle de détecteur moléculaire dans les cellules T, ce qui leur permet de détecter et de répondre au signal produit par les cellules dendritiques par l'intermédiaire de l'induction d'IDO. En particulier, l'activation de GCN2 dans les cellules T *helper* 17 (TH17), un sous-groupe de cellules CD4⁺, inhibe leur différenciation et leur fonction (Sundrud *et al.*, 2009). Ainsi, l'activation de la voie GCN2-eIF2 α peut protéger contre l'inflammation physiopathologique (auto-immunité, cancer) en renforçant les effets tolérogènes de cellules dendritiques exprimant IDO et concomitamment prévenir la différenciation des cellules TH17.

Rôle de GCN2 dans le métabolisme

Guo et Cavener (2007) ont mis en évidence le rôle de GCN2 dans la régulation du métabolisme des lipides au niveau du foie au cours d'un déficit alimentaire en leucine. Ils ont montré que la synthèse des lipides est réprimée dans le foie des souris sauvages par un régime alimentaire sans leucine, alors que la synthèse des lipides persiste chez les souris GCN2^{-/-}, provoquant une stéatose sévère. Des études récentes révèlent que GCN2 est aussi impliquée dans la régulation de la sensibilité à l'insuline et du métabolisme du glucose à la suite d'un déficit alimentaire en acides aminés à chaîne ramifiée (BCAA) (Xiao *et al.*, 2011). Ce type de régime améliore la signalisation insulinaire dans le foie et la sensibilité à l'insuline du corps entier, mesurée par un test de tolérance à l'insuline.

Finalement, il a également été prouvé que GCN2 pouvait également être impliquée dans la régulation du stress oxydant *in vivo*. Chaveroux *et al.* ont montré qu'une alimentation déséquilibrée en acides aminés affecte l'équilibre entre les composés pro- et anti-oxydants, et que cet équilibre est rétabli grâce à l'activation de GCN2 (Chaveroux *et al.*, 2011).

Implication de GCN2 en pathologie

GCN2 et cancer

En raison de leur prolifération incontrôlée, les cellules tumorales sont rapidement exposées à un environnement qui est dépourvu d'oxygène et de nutriments. Il a été montré par Wang *et al.* que GCN2 est nécessaire à l'expression du VEGF (*vascular endothelial growth factor*), un facteur angiogénique majeur (Wang *et al.*, 2013). D'autres travaux ont indiqué que GCN2 et ATF4 étaient également nécessaires à la survie et la croissance tumorales (Ye *et al.*, 2010). Ce rôle

de la voie GCN2/ATF4 est cohérent avec la nécessité pour la tumeur d'augmenter l'approvisionnement en éléments nutritifs et notamment en acides aminés. Il est à noter que certaines tumeurs expriment GCN2 à un niveau élevé (Wang *et al.*, 2013).

Il doit également être mentionné que si la phosphorylation d'eIF2 α peut protéger les cellules d'un stress nutritionnel, elle peut aussi favoriser l'apoptose (Srivastava *et al.*, 1998). La phosphorylation d'eIF2 α pourrait ainsi augmenter l'efficacité des traitements anti-tumoraux (Schewe & Aguirre-Ghiso, 2009). Ces données illustrent que la compréhension du rôle de GCN2 dans la formation de la tumeur et sa capacité de survie est complexe et ne peut être limitée à un modèle.

GCN2 et PVOD (*pulmonary veno-occlusive disease*)

La PVOD est un trouble relativement rare affectant le poumon et le cœur. Récemment, il a été montré que des mutations du gène GCN2 étaient responsables de la PVOD (Eyries *et al.*, 2013). Le lien entre la perte de fonction de GCN2 et l'établissement de la pathologie n'est pas encore clairement établi. GCN2 pourrait jouer un rôle protecteur des vaisseaux sanguins contre le stress oxydatif, comme il a été suggéré par des données précédentes (Best *et al.*, 2014).

Conclusion

La voie GCN2/eIF2 α /ATF4 est conservée chez tous les eucaryotes, de la levure aux mammifères. Chez la levure, cette voie de signalisation régule la biosynthèse des acides aminés en fonction de leur disponibilité. Chez les mammifères, elle est à l'origine de tout un panel de régulations adaptatives dont la fonction est de surmonter au mieux les épisodes de déficit ou de déséquilibre nutritionnels en acides aminés. Au-delà de ces aspects, l'exploration des modèles de souris invalidées pour le gène codant GCN2 suggère que son rôle pourrait avoir suivi la complexification des organismes au cours de l'évolution.

Références

- B'chir, W., Maurin, A.-C., Carraro, V., Averous, J., Jousse, C., Muranishi, Y., Parry, L., Stepien, G., Fafournoux, P., and Bruhat, A. (2013). The eIF2 α /ATF4 pathway is essential for stress-induced autophagy gene expression. *Nucleic Acids Res*, 41, 7683-7699.
- Best, D.H., Austin, E.D., Chung, W.K., and Elliott, C.G. (2014). Genetics of pulmonary hypertension. *Curr Opin Cardiol*, 29, 520-527.

- Bruhat, A., Jousse, C., and Fafournoux, P. (1999). Amino acid limitation regulates gene expression. *Proc Nutr Soc*, 58, 625-632.
- Castilho, B.A., Shanmugam, R., Silva, R.C., Ramesh, R., Himme, B.M., and Sattlegger, E. (2014). Keeping the eIF2 alpha kinase Gcn2 in check. *Biochim Biophys Acta*, 1843, 1948-1968.
- Chaveroux, C., Lambert-Langlais, S., Chérasse, Y., Averous, J., Parry, L., Carraro, V., Jousse, C., Maurin, A.-C., Bruhat, A., and Fafournoux, P. (2010). Molecular mechanisms involved in the adaptation to amino acid limitation in mammals. *Biochimie*, 92, 736-745.
- Chaveroux, C., Lambert-Langlais, S., Parry, L., Carraro, V., Jousse, C., Maurin, A.-C., Bruhat, A., Marceau, G., Sapin, V., Averous, J., and Fafournoux, P. (2011). Identification of GCN2 as new redox regulator for oxidative stress prevention *in vivo*. *Biochem Biophys Res Commun*, 415, 120-124.
- Costa-Mattioli, M., Gobert, D., Harding, H., Herdy, B., Azzi, M., Bruno, M., Bidinosti, M., Ben Mamou, C., Marcinkiewicz, E., Yoshida, M., Mataka, H., Cuello, A.C., Seidah, N., Sossin, W., Lacaille, J.C., Ron, D., Nader, K., and Sonenberg, N. (2005). Translational control of hippocampal synaptic plasticity and memory by the eIF2alpha kinase GCN2. *Nature*, 436, 1166-1173.
- Costa-Mattioli, M., Gobert, D., Stern, E., Gamache, K., Colina, R., Cuello, C., Sossin, W., Kaufman, R., Pelletier, J., Rosenblum, K., Krnjević, K., Lacaille, J.C., Nader, K., and Sonenberg, N. (2007). eIF2 α Phosphorylation Bidirectionally Regulates the Switch from Short- to Long-Term Synaptic Plasticity and Memory. *Cell*, 129, 195-206.
- Dudeck, K.L., Dudenhausen, E.E., Chiles, T.C., Fafournoux, P., and Kilberg, M.S. (1987). Evidence for inherent differences in the system A carrier from normal and transformed liver tissue. Differential inactivation and substrate protection in membrane vesicles and reconstituted proteoliposomes. *J Biol Chem*, 262, 12565-12569.
- Eyries, M., Montani, D., Girerd, B., Perret, C., Leroy, A., Lonjou, C., Chelghoum, N., Coulet, F., Bonnet, D., Dorfinüller, P., Fadel, E., Sitbon, O., Simonneau, G., Tregouët, D.A., Humbert, M., and Soubrier, F. (2013). EIF2AK4 mutations cause pulmonary veno-occlusive disease, a recessive form of pulmonary hypertension. *Nat Genet*, 2014, 46, 65-69.
- Foufelle, F., Girard, J., and Ferré, P. (1998). Glucose regulation of gene expression. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 1, 323-328.
- Galluzzi, L., Pietrocola, F., Levine, B., and Kroemer, G. (2014). Metabolic Control of Autophagy. *Cell*, 159, 1263-1276.
- Gietzen, D.W. (1993). Neural mechanisms in the responses to amino acid deficiency. *J Nutr*, 123, 610-625.
- Guo, F., and Cavener, D.R. (2007). The GCN2 eIF2alpha kinase regulates fatty-acid homeostasis in the liver during deprivation of an essential amino acid. *Cell Metab*, 5, 103-114.
- Hao, S. (2005). Uncharged tRNA and Sensing of Amino Acid Deficiency in Mammalian Piriform Cortex. *Science*, 307, 1776-1778.
- Harding, H.P., Calfon, M., Urano, F., Novoa, I., and Ron, D. (2002). Transcriptional and translational control in the Mammalian unfolded protein response. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 18, 575-599.
- Harding, H.P., Zhang, Y., Zeng, H., Novoa, I., Lu, P.D., Calfon, M., Sadri, N., Yun, C., Popko, B., Paules, R., Stojdl, D.F., Bell, J.C., Hettmann, T., Leiden, J.M., and Ron, D. (2003). An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress. *Mol Cell*, 11, 619-633.
- He, C., and Klionsky, D. (2009). Regulation Mechanisms and Signaling Pathways of Autophagy. *Annu Rev Genet*, 43, 67-93.
- Hinnebusch, A.G. (1994). The eIF-2 alpha kinases : regulators of protein synthesis in starvation and stress. *Semin Cell Biol*, 5, 417-426.
- Kandel, E.R. (2001). The molecular biology of memory storage : a dialogue between genes and synapses. *Science*, 294, 1030-1038.
- Kilberg, M.S., Pan, Y.-X., Chen, H., and Leung-Pineda, V. (2005). Nutritional control of gene expression : how mammalian cells respond to amino acid limitation. *Annu Rev Nutr*, 25, 59-85.
- Laplante, M., and Sabatini, D.M. (2012). mTOR signaling in growth control and disease. *Cell*, 149, 274-293.
- Leung, P.M., Rogers, Q.R., and Harper, A.E. (1968). Effect of amino acid imbalance on dietary choice in the rat. *J Nutr*, 95, 483-492.
- Lu, P.D., Harding, H.P., and Ron, D. (2004). Translation reinitiation at alternative open reading frames regulates gene expression in an integrated stress response. *J Cell Biol*, 167, 27-33.
- Maurin, A.-C., Benani, A., Lorsignol, A., Brenachot, X., Parry, L., Carraro, V., Guissard, C., Averous, J., Jousse, C., Bruhat, A., Chaveroux, C., B'chir, W., Muranishi, Y., Ron, D., Pénicaud, L., and Fafournoux, P. (2014). Hypothalamic eIF2 α signaling regulates food intake. *Cell Reports*, 6, 438-444.
- Maurin, A.-C., Jousse, C., Averous, J., Parry, L., Bruhat, A., Chérasse, Y., Zeng, H., Zhang, Y., Harding, H.P., Ron, D., and Fafournoux, P. (2005). The GCN2 kinase biases feeding behavior to maintain amino acid homeostasis in omnivores. *Cell Metab*, 1, 273-277.
- McLarney, M.J., Pellett, P.L., and Young, V.R. (1996). Pattern of amino acid requirements in humans : an interspecies comparison using published amino acid requirement recommendations. *J Nutr*, 126, 1871-1882.
- Meijer, A.J., Lorin, S., Blommaert, E.F., and Codogno, P. (2015). Regulation of autophagy by amino acids and mTOR-dependent signal transduction. *Amino Acids*, 47, 2037-2063.
- Mellor, A.L., and Munn, D.H. (2008). Creating immune privilege : active local suppression that benefits friends, but protects foes. *Nat Rev Immunol*, 8, 74-80.
- Mortimore, G.E., Pösö, A.R., and Lardeux, B.R. (1989). Mechanism and regulation of protein degradation in liver. *Diabetes Metab Rev*, 5, 49-70.

- Munn, D.H., Sharma, M.D., Baban, B., Harding, H.P., Zhang, Y., Ron, D., and Mellor, A.L. (2005). GCN2 kinase in T cells mediates proliferative arrest and anergy induction in response to indoleamine 2,3-dioxygenase. *Immunity*, 22, 633-642.
- Pégorier, J.-P., Le May, C., and Girard, J. (2004). Control of gene expression by fatty acids. *J Nutr*, 134, 2444S-2449S.
- Schewe, D.M., and Aguirre-Ghiso, J.A. (2009). Inhibition of eIF2alpha dephosphorylation maximizes bortezomib efficiency and eliminates quiescent multiple myeloma cells surviving proteasome inhibitor therapy. *Cancer Res*, 69, 1545-1552.
- Shimobayashi, M., and Hall, M.N. (2016). Multiple amino acid sensing inputs to mTORC1. *Cell Res*, 26, 7-20.
- Srivastava, S.P., Kumar, K.U., and Kaufman, R.J. (1998). Phosphorylation of eukaryotic translation initiation factor 2 mediates apoptosis in response to activation of the double-stranded RNA-dependent protein kinase. *J Biol Chem*, 273, 2416-2423.
- Sundrud, M.S., Koralov, S.B., Feuerer, M., Calado, D.P., Kozhaya, A.E., Rhule-Smith, A., Lefebvre, R.E., Unutmaz, D., Mazitschek, R., Waldner, H., Whitman, M., Keller, T., and Rao, A. (2009). Halofuginone inhibits TH17 cell differentiation by activating the amino acid starvation response. *Science*, 324, 1334-1338.
- Tattoli, I., Sorbara, M.T., Vuckovic, D., Ling, A., Soares, F., Carneiro, L.A.M., Yang, C., Emili, A., Philpott, D.J., and Girardin, S.E. (2012). Amino acid starvation induced by invasive bacterial pathogens triggers an innate host defense program. *Cell Host Microbe*, 11, 563-575.
- Vattem, K.M., and Wek, R.C. (2004). Reinitiation involving upstream ORFs regulates ATF4 mRNA translation in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101, 11269-11274.
- Wang, Y., Ning, Y., Alam, G.N., Jankowski, B.M., Dong, Z., Nör, J.E., and Polverini, P.J. (2013). Amino acid deprivation promotes tumor angiogenesis through the GCN2/ATF4 pathway. *Neoplasia*, 15, 989-997.
- Wolfe, R.R., Jahoor, F., and Hartl, W.H. (1989). Protein and amino acid metabolism after injury. *Diabetes Metab Rev*, 5, 149-164.
- Xiao, F., Huang, Z., Li, H., Yu, J., Wang, C., Chen, S., Meng, Q., Cheng, Y., Gao, X., Li, J., Liu, Y., and Guo, F. (2011). Leucine Deprivation Increases Hepatic Insulin Sensitivity via GCN2/mTOR/S6K1 and AMPK Pathways. *Diabetes*, 60, 746-756.
- Ye, J., Kumanova, M., Hart, L.S., Sloane, K., Zhang, H., De Panis, D.N., Bobrovnikova-Marjon, E., Diehl, J.A., Ron, D., and Koumenis, C. (2010). The GCN2-ATF4 pathway is critical for tumour cell survival and proliferation in response to nutrient deprivation. *Embo J*, 29, 2082-2096.