



**HAL**  
open science

## NDP52, autophagy and pathogens: "The war then ceased for lack of combatants"

Pauline Verlhac, Christophe Viret, Mathias Faure

► **To cite this version:**

Pauline Verlhac, Christophe Viret, Mathias Faure. NDP52, autophagy and pathogens: "The war then ceased for lack of combatants". *Médecine/Sciences*, 2015, 31 (6-7), pp.594-597. 10.1051/med-sci/20153106007. hal-01953715

**HAL Id: hal-01953715**

**<https://hal.science/hal-01953715v1>**

Submitted on 13 Jan 2025

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## NDP52, autophagie et pathogènes

« Et le combat cessa faute de combattants »

Pauline Verlhac<sup>1-5</sup>, Christophe Viret<sup>1-5</sup>, Mathias Faure<sup>1-5\*</sup>

> Afin de lutter contre les microorganismes envahissant leur cytoplasme, les cellules sont dotées d'une arme de destruction sélective, l'autophagie. En effet, utilisée par la cellule pour éliminer et recycler ses propres constituants défectueux ou en fin d'activité biologique, l'autophagie cible également des pathogènes intracellulaires afin de les dégrader ; l'autophagie est ainsi indispensable non seulement pour éviter le développement de maladies infectieuses, mais également pour maintenir l'équilibre avec une flore commensale essentielle au développement et au fonctionnement de l'organisme. La compréhension moléculaire du contrôle des infections par l'autophagie progresse chaque jour, notamment avec l'identification de la protéine NDP52 (*nuclear dot protein 52 kDa*) qui contribue doublement à la lutte antimicrobienne : en acheminant sélectivement les bactéries vers l'autophagie et en promouvant leur destruction une fois piégées dans les autophagosomes.

Dans les années 1960, Christian de Duve observe que des composants propres à la cellule sont capturés dans des vésicules à double membrane pour y être à terme dégradés [1]. Il nomme ces vésicules autophagosomes et le processus autophagie (littéralement « se manger »). La dégradation des composants emprisonnés dans l'autophagosome est assurée lorsque celui-ci fusionne avec une autre vésicule spécialisée, un lysosome (organite également découvert par C. de Duve en 1955). Plusieurs travaux décrivent par la suite l'importance de l'autophagie pour l'homéostasie

cellulaire, et, dans les années 1980, il est observé la formation d'autophagosomes lors de l'infection cellulaire par un micro-organisme, la bactérie *Rickettsia* [2]. La destruction par autophagie d'agents infectieux, ou xénophagie (« manger ce qui est étranger ») [3, 4], ne sera formellement démontrée qu'en 2004, à l'encontre de *Mycobacterium tuberculosis* et du streptocoque de groupe A, grâce à l'avènement d'outils moléculaires suffisamment précis pour l'étude fine de l'autophagie [5, 6].

### Les étapes du processus de macroautophagie : du phagophore à l'autolysosome

La macroautophagie, appelée communément autophagie, s'articule en trois phases majeures [3]. La première étape génère une membrane incurvée, le phagophore. Les extrémités de ce dernier s'étendent ensuite par l'ajout de petites vésicules membranaires. Lors de cette étape d'élongation, la vésicule autophagique en formation va attraper des composants cytosoliques, appelés cargos ou substrats, destinés au recyclage (Figure 1). Dans les conditions d'un stress ressenti de manière généralisée par la cellule, comme une absence de nutriments dans l'environnement, les cargos peuvent être séquestrés de manière aléatoire par l'autophagie. Cependant, lors de stress localisés au sein de la cellule, comme celui que représente la présence d'agents infectieux, les substrats autophagiques sont sélectivement séquestrés. Cette autophagie sélective est assurée par des protéines cytosoliques appelées

<sup>1</sup> CIRI, centre international de recherche en infectiologie, université de Lyon, 69007 Lyon, France ;

<sup>2</sup> Inserm U1111, 69007 Lyon, France ;

<sup>3</sup> CNRS, UMR5308, 69007 Lyon, France ;

<sup>4</sup> École normale supérieure de Lyon, 69007 Lyon, France ;

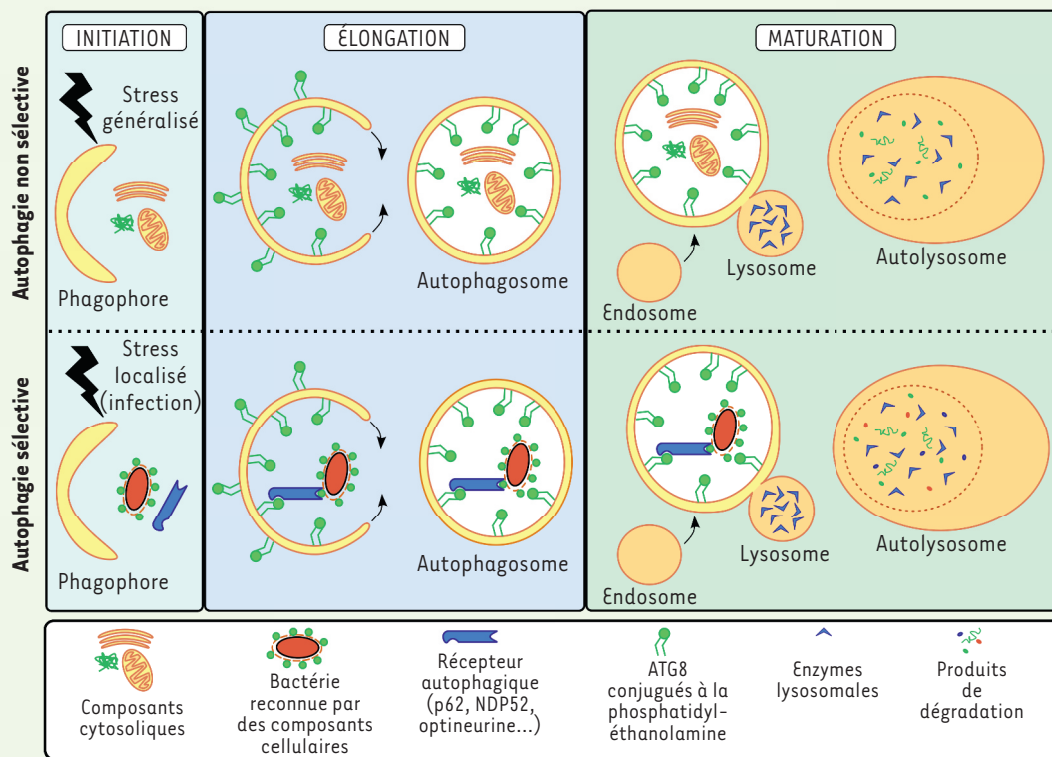
<sup>5</sup> Université Lyon 1, Centre international de recherche en infectiologie, UCBL1, 21, avenue Tony Garnier, 69365 Lyon Cedex 07, France.

[mathias.faure@inserm.fr](mailto:mathias.faure@inserm.fr)

récepteurs autophagiques [7]. Ces derniers reconnaissent, d'une part, l'élément destiné à la dégradation, et, d'autre part, un membre de la famille des protéines ATG8 (grâce à un domaine appelé LIR, *LC3-interacting region*). Ces facteurs, qui incluent les protéines LC3 (*light chain 3*) et GABARAP (*GABA-A receptor-associated protein*), sont enchâssés dans la membrane du phagophore en croissance. Les récepteurs autophagiques servent donc de pont moléculaire entre le substrat et la vésicule autophagique en formation. La phase d'élongation s'achève par la fusion des deux extrémités du phagophore, structurant un autophagosome. Celui-ci isole ainsi son substrat du reste de la cellule, mais la lumière autophagique n'étant ni acide, ni riche en enzymes actives, l'autophagosome *per se* ne peut dégrader son contenu. Afin d'assurer cette fonction, le processus autophagique se poursuit (on parle de flux autophagique) par la fusion de l'autophagosome avec une vésicule de la voie endolysosomale. Cette étape de maturation mène à la formation d'un autolysosome (fusion autophagosome-lysosome), qui peut être précédée par la formation d'un amphisome (fusion autophagosome-endosome) ; la maturation est indispensable car elle seule permet de dégrader ce qu'emprisonne la vésicule autophagique (Figure 1).

### NDP52 guide les bactéries vers l'autophagosome

NDP52 (*nuclear dot protein 52*) est l'un des récepteurs autophagiques qui permet de cibler des bactéries intracellulaires vers les



**Figure 1. Séquestration et dégradation de composants cytoplasmiques par l'autophagie.** Au-delà de son rôle d'élimination de composants obsolètes de la cellule, l'autophagie peut être induite en réponse à de nombreux stress perçus par la cellule. Trois étapes majeures orchestrent alors le flux autophagique : l'initiation, l'élongation et la maturation. Durant l'élongation, les cargos/substrats sont séquestrés dans l'autophagosome en formation : ces composants peuvent être séquestrés de manière aléatoire ou sélective (grâce à des récepteurs autophagiques), probablement selon l'origine, la nature et/ou l'intensité du stress. Durant la maturation, la fusion de l'autophagosome avec un lysosome peut être précédée d'une fusion avec un endosome.

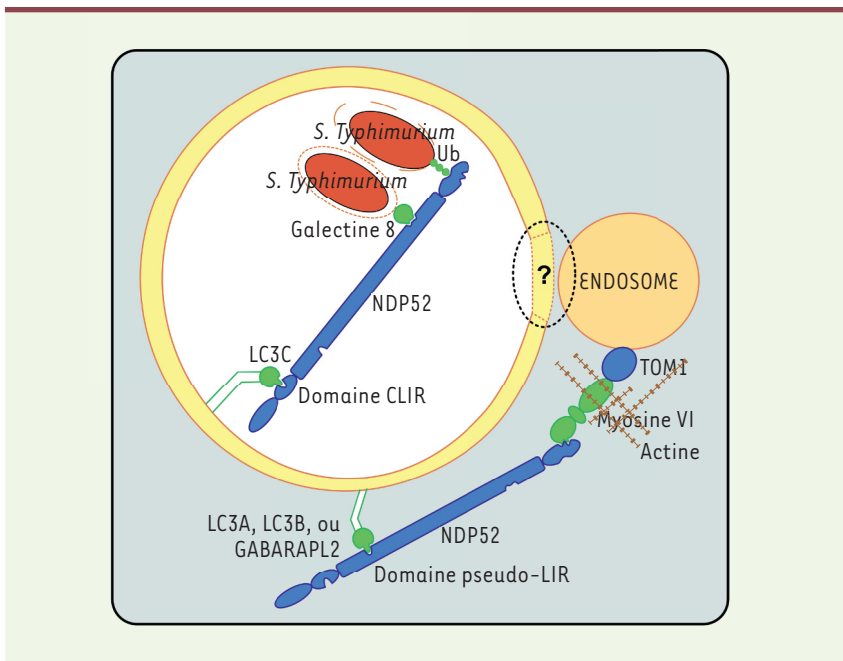
autophagosomes en formation (Figure 2). Pour cela, NDP52 possède un domaine de liaison à la galectine 8, une protéine qui reconnaît des sites glycosylés de protéines. Ces sucres sont d'ordinaire uniquement exposés à l'extérieur des cellules, car portés par les glycoprotéines de la membrane plasmique. Lors de l'internalisation de bactéries comme *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* ou *Shigella flexneri* dans des vésicules d'endocytose, les sucres protéiques se retrouvent dans la lumière des endosomes. La tentative de sortie des bactéries de ces vésicules endommage la membrane endosomale, exposant alors les protéines cellulaires glycosylées à une reconnaissance par la galectine 8 [8]. Ce détecteur moléculaire d'une anomalie intracellulaire lie dès lors NDP52 qui, grâce à un domaine de liaison spécifique

à la protéine LC3C (appelé domaine CLIR), concentre la vésicule endommagée avec la bactérie au sein d'un phagophore en croissance [9]. De plus, si les bactéries parviennent à s'échapper de l'endosome pour envahir le cytosol, leurs parois peuvent être rapidement recouvertes de petits peptides d'ubiquitine. NDP52, comme plusieurs autres récepteurs autophagiques, possède un domaine de liaison aux ubiquitines et peut ainsi à nouveau lier la bactérie et, en interagissant de manière concomitante avec LC3C, acheminer le microorganisme vers un autophagosome en formation [10].

#### NDP52, un facteur déterminant pour la dégradation de bactéries prisonnières d'autophagosomes

Une fois séquestrés dans l'autophagosome, les pathogènes peuvent utiliser

des subterfuges moléculaires pour, soit s'échapper de ce nouvel environnement, soit s'y adapter afin d'y proliférer. Cette adaptation peut passer par un ralentissement ou une inhibition de la maturation de l'autophagosome, afin d'éviter d'être la cible de l'activité lysosomale [3]. Il apparaît ainsi essentiel pour la cellule de rapidement et efficacement réguler la maturation de l'autophagosome contenant la bactérie, afin de la détruire. Nous avons montré que, indépendamment de sa fonction de récepteur autophagique, NDP52 a également la capacité de réguler la fusion entre l'autophagosome et un lysosome [11]. NDP52 possède deux domaines essentiels à la maturation des autophagosomes : un domaine de liaison à la myosine VI, et un autre capable de



**Figure 2. Modèle du double rôle joué par NDP52 dans la xénophagie.** NDP52 lie *S. Typhimurium* indirectement, grâce à des domaines de liaison qui recrutent des intermédiaires moléculaires, la galectine 8 ou des ubiquitines, associés respectivement aux membranes endosomales endommagées par la bactérie internalisée ou aux bactéries s'étant échappées dans le cytosol. Via une interaction avec LC3C, NDP52 cible alors la bactérie vers l'autophagosome. De plus, NDP52 contribue à la fusion des autophagosomes avec la voie endo/lysosomale grâce à deux interactions supplémentaires, avec la myosine VI et un membre de la famille ATG8. L'ensemble de ces interactions concourt à l'efficacité de l'élimination de *S. typhimurium* par l'autophagie. Le mécanisme précis de fusion reste à être compris.

lier quelques membres particuliers de la famille ATG8 (LC3A, LC3B ou GABARAPL2, mais pas LC3C) grâce à un nouveau domaine identifié (appelé pseudo-LIR). En liant la myosine VI, la seule myosine motrice permettant un mouvement rétrograde des endosomes via son interaction avec la protéine endosomale TOM-1 (*target of Myb1*) [12], NDP52 est physiquement associée à la voie endo-lysosomale. En liant un membre des ATG8, NDP52 connecte alors l'endosome à l'autophagosome et permet leur fusion, promouvant ainsi la maturation autophagique [11]. Ainsi, pour que la xénophagie de *S. typhimurium* soit complète, il faut non seulement que la bactérie soit isolée au sein d'un autophagosome, mais également qu'elle soit dégradée. En intervenant successivement lors de ces deux étapes clés, NDP52 contribue à l'efficacité du

contrôle d'une infection par l'autophagie. Il reste à déterminer avec précision comment NDP52 régule la fusion à proprement parler, et comment s'opère le lien fusionnel entre l'amphisome et le lysosome (Figure 2). Il est à noter que NDP52 régule également la maturation de l'autophagosome indépendamment d'infections bactériennes [11]. Dans la mesure où des dysfonctionnements de l'autophagie sont associés à de nombreuses pathologies [13], ces travaux, qui apportent des réponses sur les mécanismes moléculaires de l'autophagie, pourraient ouvrir de nouvelles perspectives pour la compréhension des processus pathologiques associés à des altérations de l'autophagie.

### Conclusion

Dans l'idée d'arriver, un jour prochain, au constat éclatant du vers célèbre de

Don Rodrigue<sup>1</sup> [14], il nous reste à comprendre si d'autres récepteurs autophagiques contribuent à l'efficacité de la xénophagie à la manière de NDP52 ; les (doubles ?) fonctions de ces récepteurs pourraient-elles être engagées de concert ou indépendamment ? Les autophagosomes en formation sont-ils prédestinés à accueillir de manière exclusive ou partagée des substrats apportés sélectivement par ces récepteurs ? Ces mécanismes sont-ils impliqués contre des microbes virulents et commensaux ? Mieux comprendre les liens étroits entre récepteurs autophagiques, pathogènes et maturation autophagique permettra de mieux lutter contre les agents infectieux, notamment ceux qui ciblent ces récepteurs pour en détourner la fonction. Avec ce qui pourrait apparaître comme un dilemme cornélien, assurer le ciblage des bactéries vers l'autophagie ou leur dégradation, nos travaux montrent l'efficacité de NDP52 pour ces deux fonctions de la xénophagie, permettant à la cellule de remporter des batailles contre des envahisseurs pathogènes ; « *Et le combat cessa faute de combattant* » [14]. ♦

**NDP52, autophagy and pathogens: "The war then ceased for lack of combatants"**

### LIENS D'INTÉRÊT

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

### REMERCIEMENTS

Le travail de notre laboratoire sur l'autophagie est soutenu par l'Institut Universitaire de France (IUF), l'ANR et l'Association François Aupetit (AFA).

### RÉFÉRENCES

1. Codogno P. L'autophagie, dégrader plus pour vivre plus mais attention ! *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 323-4.
2. Rikihisa Y. Glycogen autophagosomes in polymorphonuclear leukocytes induced by rickettsiae. *Anat Rec* 1984 ; 208 : 319-27.
3. Joubert PE, Pombo Gregoire I, Meiffren G, et al. Autophagie et pathogènes. *Bon appétit Messieurs ! Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 41-7.

<sup>1</sup> Le titre reprend la fin d'une tirade de Don Rodrigue [14] reçu triomphalement à la Cour et racontant au roi sa victoire éclatante contre les Maures.



## RÉFÉRENCES

- Levine B. Eating oneself and uninvited guests: autophagy-related pathways in cellular defense. *Cell* 2005 ; 120 : 159-62.
- Gutierrez MG, Master SS, Singh SB, et al. Autophagy is a defense mechanism inhibiting BCG and Mycobacterium tuberculosis survival in infected macrophages. *Cell* 2004 ; 119 : 753-66.
- Nakagawa I, Amano A, Mizushima N, et al. Autophagy defends cells against invading group A Streptococcus. *Science* 2004 ; 306 : 1037-40.
- Deretic V. Autophagy as an innate immunity paradigm: expanding the scope and repertoire of pattern recognition receptors. *Curr Opin Immunol* 2012 ; 24 : 21-31.
- Thurston T, Wandel M, von Muhlinen N, et al. Galectin 8 targets damaged vesicles for autophagy to defend cells against bacterial invasion. *Nature* 2012 ; 482 : 414-8.
- Von Muhlinen N, Akutsu M, Ravenhill B, et al. LC3C, bound selectively by a noncanonical LIR motif in NDP52, is required for antibacterial autophagy. *Mol Cell* 2012 ; 48 : 329-42.
- Thurston TL, Ryzhakov G, Bloor S, et al. The TBK1 adaptor and autophagy receptor NDP52 restricts the proliferation of ubiquitin-coated bacteria. *Nat Immunol* 2009 ; 10 : 1215-21.
- Verlhac P, Gregoire IP, Azocar O, et al. Autophagy receptor NDP52 regulates pathogen-containing autophagosome maturation. *Cell Host Microbe* 2015 ; 17 : 515-525.
- Tumbarello DA, Waxse BJ, Arden SD, et al. Autophagy receptors link myosin VI to autophagosomes to mediate Tom1-dependent autophagosome maturation and fusion with the lysosome. *Nat Cell Biol* 2012 ; 14 : 1024-35.
- Choi AM, Ryter SW, Levine B. Autophagy in human health and disease. *N Engl J Med* 2013 ; 368 : 1845-6.
- Corneille P. *Le Cid*. Paris : Éditions J'ai Lu, 2014 : 84 p.

## NOUVELLE

### Mécanismes fondamentaux de formation de fibres amyloïdes par la protéine $\alpha$ -synucléine dans la maladie de Parkinson

#### Modélisation quantitative

Céline Galvagnion, Alexander K. Buell

Department of Chemistry, University of Cambridge, Lensfield Road, Cambridge, CB2 1EW, Royaume-Uni.  
cg393@cam.ac.uk.

#### Alpha-synucléine et maladie de Parkinson

Le mauvais repliement des protéines et leur agrégation sont à l'origine de nombreuses maladies dont les maladies neurodégénératives, telles la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson, et le diabète de type 2 [1]. La maladie de Parkinson touche 6,3 millions de personnes dans le monde, dont 1,2 millions en Europe et 140 000 en France<sup>1</sup>. L'une des caractéristiques de cette maladie est le dépôt d'agrégats formés par la protéine alpha-synucléine ( $\alpha$ -syn) [2, 15].  $\alpha$ -syn est une petite protéine (14 kDa) présynaptique dont le rôle précis n'est pas encore établi, mais qui semble jouer un rôle dans la plasticité synaptique, plus particulièrement dans la fusion des vésicules synaptiques avec la membrane plasmique des terminaisons présynaptiques des neurones, et dans la libération de neurotransmetteurs dans

l'espace intersynaptique [3].  $\alpha$ -syn existe sous deux formes *in vivo*, une forme intrinsèquement désordonnée, en solution, et une forme repliée en hélice alpha quand elle est liée aux membranes. L'équilibre entre ces deux formes joue un rôle pour la fonction d' $\alpha$ -syn [3]. De plus, la protéine interagit avec un grand nombre de surfaces *in vitro*, par exemple des nanoparticules, surfactants et bicouches lipidiques (vésicules), et son interaction avec ces surfaces peut moduler la cinétique de formation de fibres amyloïdes par  $\alpha$ -syn [4, 5]. Enfin, il a été récemment montré qu' $\alpha$ -syn peut former des fibres incorporant des lipides [6].

#### Mécanisme d'agrégation d'alpha-synucléine : notre approche expérimentale

Aucune description quantitative du mécanisme d'agrégation d' $\alpha$ -syn n'est disponible à ce jour, contrairement au travail récemment accompli pour le

peptide A $\beta$ , dont la formation de fibres amyloïdes est liée à la maladie d'Alzheimer [7, 8]. Une telle analyse serait pourtant indispensable à une meilleure compréhension, non seulement des événements précoces, mais aussi de la propagation de la maladie et des effets de chaperons ou d'autres molécules sur le mécanisme et la cinétique d'agrégation de la protéine.

Dans le but de répondre à cette question, nous avons utilisé des systèmes minimalistes pour étudier le comportement de la protéine *in vitro* en présence de petites vésicules lipidiques ou de faibles quantités de fibres. Nous avons combiné deux approches : une approche expérimentale, dans laquelle l'influence des différents réactifs ( $\alpha$ -syn, lipides et fibres) sur la cinétique de formation de fibres amyloïdes était systématiquement étudiée, et une approche théorique, fondée sur l'analyse cinétique de nos données expérimentales, ce qui a

<sup>1</sup> Données de l'European Parkinson disease association.