HAL
open science

Tétraspanines et syndécanes

Rania Ghossoub, Raphael Leblanc, Guido David, Pascale Zimmermann

To cite this version:

Rania Ghossoub, Raphael Leblanc, Guido David, Pascale Zimmermann. Tétraspanines et syndécanes. Médecine/Sciences, 2021, 37 (12), pp.1101-1107. 10.1051/medsci/2021202 . hal-03500677

HAL Id: hal-03500677

https://hal.science/hal-03500677v1

Submitted on 22 Dec 2021

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.

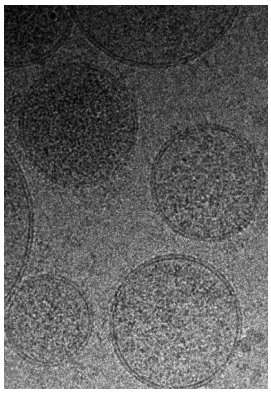
médecine/sciences 2021 ; 37 : 1101-1107

Tétraspanines et syndécanes

Complices dans le « trafic » des exosomes ?

Rania Ghossoub[1], Raphael Leblanc[1], Guido David[1,2], Pascale Zimmermann[1,2]

> Les exosomes sont de petites vésicules extracellulaires qui sont produites dans des compartiments endosomaux. Les mécanismes moléculaires sur lesquels reposent la biologie des exosomes, de leur biogenèse à leur internalisation par les cellules cibles, font notamment appel à des protéines membranaires particulières. Ces mécanismes méritent d'être clarifiés, afin de mieux comprendre la complexité de la composition des exosomes et de rationaliser leur utilisation comme biomarqueurs ou comme outils thérapeutiques. Nous discutons ici comment les syndécanes et les tétraspanines, deux familles de protéines d'échafaudage, coopèrent pour réguler les différentes étapes de la biologie des exosomes. <



[1]Centre de recherche en cancérologie de Marseille (CRCM), Aix-Marseille Université, Inserm, CNRS, Équipe labellisée Ligue 2018, Institut Paoli-Calmettes, 27 bd Leï Roure, 13009 Marseille, France.
[2]*Department of Human Genetics*, Katholieke Universiteit (KU) Leuven, Herestraat 49 box 604, B-3000 Louvain, Belgique.
rania.ghossoub@inserm.fr
pascale.zimmermann@kuleuven.be

Biogenèse et sécrétion des vésicules extracellulaires : état de l'art

Les vésicules extracellulaires, autrefois considérées comme des déchets cellulaires, sont aujourd'hui reconnues comme des organelles de signalisation qui ont le potentiel de reprogrammer les cellules cibles réceptrices. Ces vésicules ont la même topologie que les cellules et ont une composition complexe en biomolécules. Elles contiennent à la fois des lipides, des protéines et des acides nucléiques, et sont enrichies notamment en petits ARN. Pendant longtemps, la classification des vésicules extracellulaires, ainsi que leurs méthodes de caractérisation, ont été controversées. Aujourd'hui, un consensus, fondé sur le savoir collectif et les nombreuses études réalisées dans ce domaine, a été établi et est régulièrement mis à jour [1].

Les vésicules extracellulaires sont hétérogènes en origine, en taille et en charge. Elles peuvent être classées en trois catégories au vu de leur contexte de biogenèse : les corps apoptotiques, les microvésicules et les exosomes *(Figure 1A)*. Comme leur nom le suggère, les corps apoptotiques (d'un diamètre compris entre 1 et 5 µm) sont produits par fragmentation de cellules qui meurent de façon programmée. Les microvésicules, aussi appelées ectosomes (d'un diamètre de 100 nm à 1 µm), bourgeonnent directement à partir de la membrane plasmique. Les exosomes (de 50 à 150 nm) sont, eux, formés à l'intérieur des endosomes tardifs où ils sont appelés vésicules intraluminales. Ce n'est qu'une fois sécrétés dans le milieu extracellulaire qu'ils seront appelés exosomes [2, 3]. Les microvésicules (provenant de la membrane plasmique) et les exosomes (d'origine endosomale) peuvent présenter des caractéristiques communes en termes de taille et de composition. De nombreuses études, dont la plupart de celles mentionnées dans cette revue, font appel à des méthodes de fractionnement visant à isoler les vésicules extracellulaires en fonction de leur taille. Ces méthodes ne suffisent pas à différencier les petites microvésicules des exosomes. On utilisera donc le terme générique de vésicules extracellulaires pour les études qui ne sont pas focalisées de manière spécifique sur les mécanismes de formation. Si certains marqueurs sont communément retrouvés (notamment ceux impliqués dans leur biogenèse, voir ci-dessous), la composition des vésicules extracellulaires peut être extrêmement variable en fonction du type cellulaire et de l'état de stimulation d'une même cellule. La composition est bien entendu déterminante pour les propriétés fonctionnelles individuelles de chacune des vésicules extracellulaires produites.

La biogenèse des vésicules extracellulaires fait appel à divers mécanismes moléculaires impliqués dans le trafic membranaire (détaillés dans les revues [2, 3]). En particulier, celle-ci peut être initiée par la machinerie ESCRT (*endosomal sorting complex required for transport*) qui déforme les membranes. Cette machinerie fait intervenir de manière séquentielle plusieurs sous-unités, ESCRT-0, -I, -II et -III *(Figure 1B)*, qui

Vignette (© Guillaume van Niel, Aurélie di Cicco, Graça Raposo, Daniel Levy).

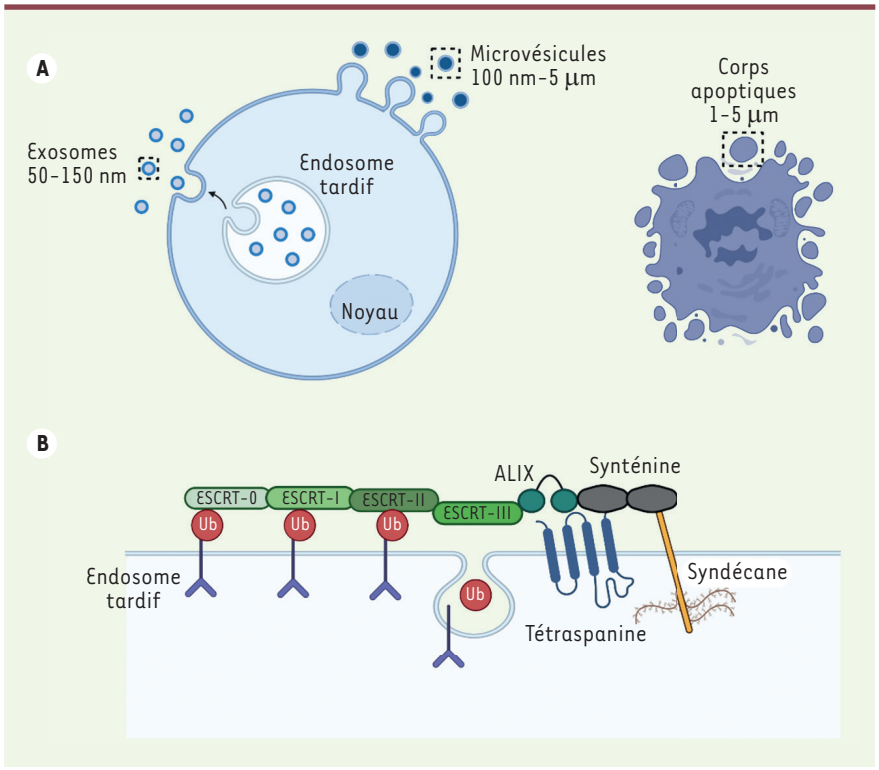


Figure 1. A. Les vésicules extracellulaires. Les exosomes sont formés à l'intérieur des endosomes tardifs, où ils sont appelés vésicules intraluminales. Les endosomes tardifs fusionnent à la membrane plasmique pour libérer les exosomes dans le milieu extracellulaire. Les microvésicules ou les ectosomes bourgeonnent directement à partir de la membrane plasmique, alors que les corps apoptotiques sont produits par fragmentation de cellules qui meurent de façon programmée. ***B. Mécanismes de bourgeonnement des vésicules intraluminales.*** La machinerie la plus décrite, requise pour la biogenèse des exosomes, est celle de l'ESCRT (*endosomal sorting complex required for transport*). Elle fait intervenir de manière séquentielle quatre sous-unités, ESCRT-0, -I, -II et -III, qui vont séquestrer les cargos dans des microdomaines à la membrane limitante des endosomes tardifs et leur permettront de bourgeonner en tant que vésicules intraluminales. ALIX est une protéine accessoire de l'ESCRT, qui permet en principe de contourner les sous-unités ESCRT-0, -I, -II et de relier directement ses partenaires à l'ESCRT-III. La synténine lie directement ALIX avec son domaine N-terminal et les tétraspanines (CD63/tétraspanine-6) et les syndécanes grâce à ses deux domaines PDZ. Ainsi les syndécanes et les tétraspanines sont des molécules impliquées dans la formation et/ou le chargement des exosomes.

vont séquestrer les cargos dans des domaines membranaires, et leur permettre de bourgeonner, soit à la membrane plasmique (microvésicules), soit à la membrane des endosomes tardifs (vésicules intraluminales formant les MVB ou *multi-vesicular bodies*) [4]. Notons que la machinerie ESCRT est aussi impliquée dans le tri de cargos ubiquitinés destinés à la dégradation, et qu'il reste à clarifier ce qui différencie un MVB sécrétoire (libérant des exosomes) d'un MVB dégradatif (qui évoluera vers le lysosome). Nous savons que des protéines accessoires à la machinerie ESCRT, comme ALIX (*ALG-2 interacting protein X*), relient et permettent de contourner certaines sous-unités de la machinerie ESCRT. Par ailleurs, plusieurs études ont montré que, même lorsque les composés de la machinerie ESCRT sont inhibés, les cellules sont toujours capables de produire des vésicules extracellulaires. Les mécanismes supposés indépendants d'ESCRT font appel à des lipides membranaires spécifiques et à des oligomérisations induites avec l'aide de protéines d'échafaudage. À ce titre, les tétraspanines et les syndécanes représentent deux familles de protéines d'échafaudage membranaires intimement liées à la biologie des vésicules extracellulaires.

Les tétraspanines : rôles dans la biogenèse des vésicules extracellulaires

Les tétraspanines forment une famille de 33 protéines hydrophobes composées de 4 domaines transmembranaires, de deux boucles extracellulaires et de trois domaines cytosoliques [5]. Ces protéines ont la capacité de s'associer entre elles et avec certains récepteurs de signalisation, notamment des récepteurs tyrosine kinase, et des intégrines. L'hétérogénéité des complexes tétraspanines-partenaires et leur capacité à former des associations ou microdomaines membranaires leurs confèrent une capacité intrinsèque à construire des réseaux complexes de récepteurs de signalisation [6]. Clairement, certaines de ces tétraspanines se retrouvent de façon privilégiée à la surface des vésicules extracellulaires. En particulier, les tétraspanines CD63, CD9 et CD81 sont considérées aujourd'hui comme des marqueurs de ces vésicules [7]. Ces tétraspanines peuvent se localiser à la membrane plasmique ou à la membrane des endosomes, et figurent toutes les trois dans le top 100 des protéines enrichies dans les vésicules extracellulaires, selon la base de données Exocarta[1].

Des études illustrent le fait que les tétraspanines s'associent avec des partenaires préférentiels, et en contrôlent le trafic ainsi que la compartimentation

[1] Exocarta est une base de données référençant tous les constituants des exosomes. http://www.exocarta.org.

membranaire dans les vésicules extracellulaires. Par exemple, la tétraspanine CD63 est impliquée dans l'adressage de la protéine des mélanocytes PMEL (*premelanosome protein*) aux vésicules intraluminales [8] et de l'oncoprotéine virale LMP1 (*latent membrane protein 1*) aux petites vésicules extracellulaires [9]. Également, *via* son interaction avec la protéine Y-box1, CD63 permet d'adresser et enrichir des micro-ARN dans les petites vésicules extracellulaires, dont miR223 et miR144 [10]. La tétraspanine CD9 est, quant à elle, nécessaire à la sécrétion de petites vésicules extracellulaires chargées en β-caténine, ce qui module la signalisation Wnt/β-caténine [11]. Finalement, la tétraspanine CD81 s'associe spécifiquement à la métalloprotéase ADAM10 (*a disintegrin and metalloprotease 10*) dans les petites vésicules extracellulaires [12]. L'absence de tétraspanines peut réduire le nombre de vésicules extracellulaires sécrétées. En effet, il a été montré que les cellules dendritiques isolées à partir de la moelle osseuse de souris dont le gène codant CD9 a été invalidé, produisent moins de petites vésicules extracellulaires [11]. Toutefois, bien que les tétraspanines soient des constituants majeurs des exosomes et des microvésicules, et que leur utilisation comme marqueurs des vésicules extracellulaires soit bien établie, peu d'études se sont intéressées à leur fonction directe dans la formation de ces vésicules. En particulier, le rôle des tétraspanines dans la biogenèse des exosomes à proprement parler, à savoir la formation des vésicules intraluminales dans les endosomes tardifs, n'a jamais été démontrée. Seuls van Niel *et al.* ont montré par microscopie électronique que l'absence de CD63 induit un défaut de biogenèse de vésicules intraluminales dans les mélanocytes [8]. Toutefois, dans un modèle cellulaire de cancer du sein, CD63 semble jouer un rôle mineur dans la biogenèse des exosomes [13]. Enfin, bien qu'associé à CD63, CD9 et CD81 dans les vésicules extracellulaires, le complexe majeur d'histocompatibilité de type II (MHC-II), qui joue un rôle clé au sein du système immunitaire, se retrouve également à la surface des vésicules extracellulaires qui ne contiennent pas ces tétraspanines [7]. Ces tétraspanines ne semblent donc pas, à elles seules, suffisantes pour définir la composition des différentes populations de vésicules extracellulaires.

Les syndécanes dans la signalisation cellulaire et dans la biogenèse des exosomes

Les syndécanes forment une famille de quatre protéines transmembranaires de type I. Pratiquement tous les types cellulaires expriment au moins un des quatre syndécanes, mais la plupart en expriment plusieurs : syndécane-1 est exprimé majoritairement dans les cellules épithéliales, syndécane-2 est présent dans les fibroblastes et les cellules endothéliales et syndécane-3 dans les tissus nerveux. Syndécane-4 est exprimé de manière ubiquitaire. Les syndécanes sont abondants, jusqu'à un million de molécules par cellule. Ils opèrent à la fois dans les compartiments endocytaires et à la surface cellulaire [14, 15]. Les études à ce jour, indiquent que les syndécanes sont exclusivement retrouvés dans des petites vésicules extracellulaires et principalement liés à la biologie des exosomes [15]. La déplétion des syndécanes peut réduire de moitié les protéines exosomales que l'on retrouve dans le milieu extracellulaire [13]. Les syndécanes interagissent avec un grand nombre de molécules de signalisation. Ces interactions peuvent se faire *via* leurs chaînes héparanes sulfates, leurs domaines extracellulaires et/ou leurs domaines intracellulaires. Les héparanes sulfates, chaînes de sucre de type glycosaminoglycanes, sont liés de manière covalente à la partie extracellulaire des syndécanes. Ces chaînes lient des molécules de la matrice extracellulaire (fibronectine, collagène) et des facteurs de croissance (*fibroblast growth factor* [FGF], Wnt) et permettent, par exemple, la fixation du FGF à son récepteur, le FGFR. Ce type d'échafaudage est nécessaire à l'assemblage et à l'activation des complexes de signalisation FGF-FGFR [16]. Le domaine extracellulaire (ectodomaine) des syndécanes s'associe à des récepteurs de type tyrosine kinase de la famille ErbB/HER (*epidermal growth factor receptor*) : syndécane-1 avec ErbB2/HER2 et syndécane-4 avec EGFR/HER1 [17]. Le domaine C-terminal intracellulaire des syndécanes 1 et 4, quant à lui, interagit directement avec l'intégrine α6β4, ce qui permet la phosphorylation de sa sous-unité β4 par la kinase Fyn [17]. Les syndécanes contiennent également un motif intracellulaire de liaison aux protéines à domaines PDZ. Ce motif permet, notamment, leur interaction avec la synténine. Cette interaction des syndécanes avec la synténine conduit soit à leur recyclage à la membrane plasmique [18], soit à la biogenèse d'exosomes syndécanes-synténine [13]. Ces deux voies dépendent de la petite GTPase ARF6 (*ADP ribosylation factor 6*), mais elles font appel à des effecteurs et à des interactions synténine-lipide qui sont différents [18, 19]. Ainsi, l'interaction des syndécanes avec différents partenaires (comme le FGFR ou les intégrines) permettrait de les adresser à des compartiments cellulaires spécifiques, en particulier les exosomes. Voilà pourquoi les syndécanes sont aussi qualifiés de co-récepteurs, régulant la signalisation des récepteurs auxquels ils sont associés [20, 21]. Les mécanismes de formation des exosomes dépendant des syndécanes utilisent en partie la machinerie ESCRT, notamment grâce à l'interaction directe de la synténine avec la protéine ALIX (*Figure 2A, i*). Ces exosomes syndécanes-dépendants exploitent également trois enzymes, dont deux sont à l'origine de la production de lipides : la sphingomyélinase, enzyme qui produit le céramide [13], et la phospholipase D, qui conduit à la formation de l'acide phosphatidique [19]. En fonction du type cellulaire, la phospholipase D2 (activée par la GTPase ARF6 [19]) ou la phospholipase D1 (activée par la GTPase Ral [22]) sont impliquées dans le processus de la formation d'exosomes dès lors que celles-ci sont localisées dans

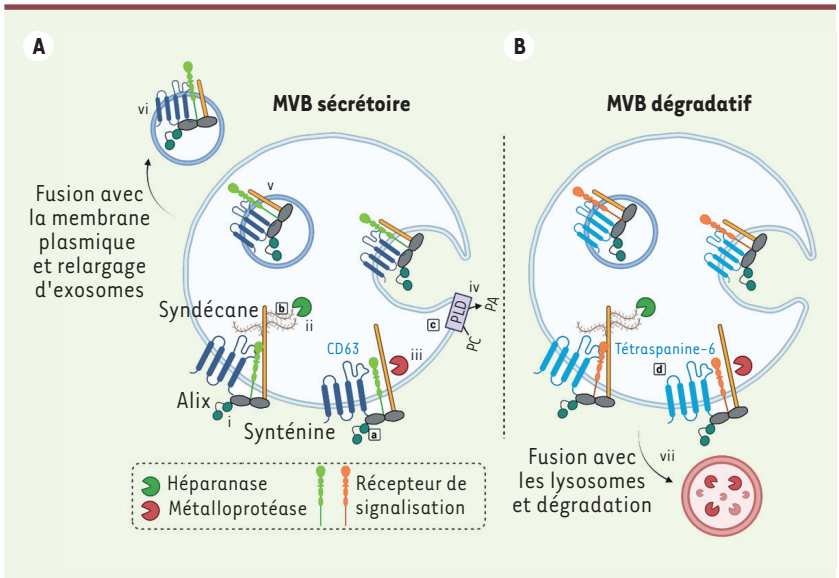


Figure 2. ***Syndécanes et tétraspanines régulent la balance entre la voie sécrétoire/exosomale et dégradative/lysosomale.*** Dans les endosomes tardifs ou MVB (*multi-vesicular bodies*), les syndécanes (jaune) et les tétraspanines (bleu) sont associés aux domaines PDZ de la synténine (gris), qui lie ALIX (vert foncé) par son domaine N-terminal (i). Des récepteurs de signalisation (vert clair et orange) s'associent aux syndécanes et tétraspanines. L'héparanase digère les chaines héparanes sulfates des syndécanes (ii) puis les métalloprotéases clivent l'ectodomaine des syndécanes (iii). L'enzyme PLD (phospholipase D) métabolise la PC (phosphatidylcholine) en PA (*phosphatidic acid*) et permettrait ainsi l'invagination de la membrane des endosomes tardifs (iv). PLD stimule la séquestration des complexes ALIX/synténine/tétraspanine/syndécane/récepteur dans les vésicules intraluminales (v). En fonction de la tétraspanine, l'endosome tardif va soit fusionner à la membrane plasmique pour libérer les exosomes (tétraspanine CD63 ; A ; vi), soit fusionner avec les lysosomes (tétraspanine-6 ; B ; vii) pour dégrader son contenu. ***a-d.*** Le lecteur est invité à se référer aux publications qui ont montré que ***a-*** Le complexe ALIX-synténine-syndécane régule la biogenèse des exosomes [13] ; ***b-*** la digestion des chaînes héparanes sulfates des syndécanes par l'héparanase stimule la production des exosomes syndécanes-synténine [23] ; ***c-*** la phospholipase D génère de l'acide phosphatidique et stimule le formation des vésicules intraluminales [19] ; ***d-*** la tétraspanine-6 adresse le syndécane-4 à la dégradation et réduit la production des exosomes [32].

des compartiments endosomaux *(Figure 2A, iv)*. De par leurs propriétés biophysiques, le céramide et l'acide phosphatidique sont d'excellents candidats pour participer à l'invagination de la membrane limitante des endosomes tardifs afin de générer les vésicules intraluminales. La troisième enzyme est l'héparanase, une endoglycosidase qui digère les chaînes d'héparanes sulfates portées par les syndécanes [23] et qui stimule la sécrétion des exosomes. Consécutivement à la digestion des chaînes d'héparanes sulfates, l'ectodomaine des syndécanes est clivé par des métalloprotéases [24] *(Figure 2A, ii-iii)*. Ce clivage peut avoir lieu à la membrane plasmique ou au niveau de compartiments endosomaux, libérant alors l'ectodomaine des syndécanes, respectivement dans le milieu extracellulaire ou à l'intérieur de la cellule. Quoiqu'il en soit, l'encombrement stérique des chaînes d'héparanes sulfates ne permettrait pas aux syndécanes d'être concentrés dans les exosomes (qui ont un diamètre maximal de 150 nm). De fait, la forme transmembranaire clivée des syndécanes est dominante dans les exosomes, comparé à la forme complète [13]. Afin que les partenaires des syndécanes puissent être adressés correctement aux exosomes, le clivage des chaînes d'héparanes sulfates, puis de l'ectodomaine des syndécanes, semblent avoir lieu de manière séquentielle au niveaux des compartiments endosomaux [15]. Notons que la forme clivée des syndécanes n'est pas capable, à elle seule, d'adresser les partenaires des syndécanes (dont la synténine) aux exosomes [13]. Les syndécanes peuvent donc contrôler la signalisation paracrine de leurs partenaires en les adressant aux exosomes. En effet, alors qu'ils n'opèreront plus dans la cellule en question, les partenaires seront potentiellement transmis aux cellules cibles des exosomes *(Figure 2A, v-vi)*.

Les syndécanes et les tétraspanines : rôles dans l'internalisation des exosomes

Outre leur capacité de signalisation par contact direct avec les cellules qu'ils ciblent, les petites vésicules extracellulaires, dont les exosomes, peuvent aussi agir en délivrant leurs contenus. Pour cela, ils peuvent soit fusionner avec la membrane des cellules cibles, soit être internalisés par endocytose, macropinocytose, et/ou phagocytose et fusionner avec la membrane des endosomes pour délivrer leur contenu. Les voies d'internalisation peuvent faire appel à des reconnaissances de type ligand-récepteur. Les syndécanes peuvent agir comme des récepteurs d'internalisation [14] et peuvent, entre autres, internaliser les vésicules extracellulaires [25, 26]. D'un point de vue moléculaire, une absence de syndécanes à la membrane des cellules cibles pourrait être due à un défaut de recyclage dépendant de la synténine [26]. Un déficit de chaînes d'héparanes sulfates des syndécanes peut également entraîner des défauts d'internalisation des exosomes [25]. Le couple syndécane-synténine opèrerait donc à la fois en stimulant la production des exosomes, mais aussi comme capteur d'exosomes. À noter qu'au cours de la production des exosomes, les syndécanes sont majoritairement clivés, alors que, lorsqu'ils sont recyclés et participent à la capture des exosomes, leur

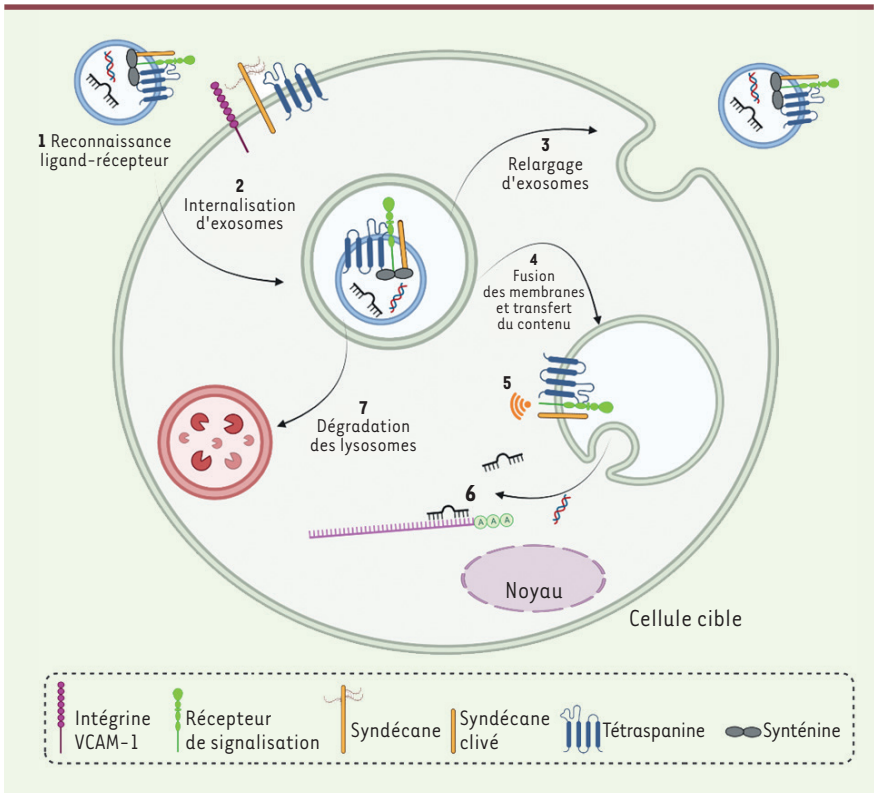


Figure 3. ***Syndécanes et tétraspanines dans l'internalisation des exosomes et destinée des cargos.*** Les syndécanes et les tétraspanines à la surface des cellules cibles et/ou des exosomes assurent la reconnaissance ligand-récepteur et représentent ainsi une voie d'internalisation des exosomes ***(1)***. Une fois internalisés ***(2)***, les exosomes peuvent avoir plusieurs destinées. Ils pourraient être à nouveau relargués dans le milieu extracellulaire par une fusion de l'endosome avec la membrane plasmique ***(3)***. Le contenu de l'exosome peut échapper à l'endosome par fusion des membranes ***(4)*** ; ainsi, le contenu des exosomes devient accessible au cytoplasme de la cellule cible, et les récepteurs peuvent à nouveau signaler ***(5)***, tandis que les micro-ARN peuvent réprimer la traduction d'ARN messagers (ARNm) en protéines ***(6)***. Alternativement, les endosomes pourraient fusionner avec les lysosomes, ce qui aboutira à la dégradation de leur contenu ***(7)***.

structure protéique reste intacte. Ces doubles propriétés peuvent sembler ambiguës, voire contradictoires, sauf si on considère les échanges entre cellules et exosomes. Les ligands présents sur les exosomes qui sont reconnus directement par les syndécanes cellulaires sont méconnus. Toutefois, une étude suggère que la fibronectine pourrait assurer le lien entre des syndécanes exosomaux non clivés (présents en faible quantité) et ceux, également intacts, présents sur les cellules cibles [27]. Il semble évident que la composition protéique à la surface des exosomes influencera les mécanismes de capture et assurera une certaine spécificité dans la reconnaissance et la capture des exosomes par les cellules cibles [2]. Il a été montré que le traitement de cellules dendritiques par des anticorps spécifiques des tétraspanines CD81 et CD9 réduit l'internalisation des exosomes [28]. Plus précisément, les tétraspanines à la surface des exosomes permettent à leurs partenaires des liaisons sélectives avec leurs ligands sur les cellules ciblées et interviennent ainsi indirectement dans le processus d'internalisation des exosomes [29]. Par exemple, la tétraspanine Tspan8 s'associe avec l'intégrine $\alpha4\beta1$ exprimée à la surface des exosomes. L'interaction de cette intégrine $\alpha4\beta1$ avec ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule-1*), à la surface des cellules endothéliales, favorise l'internalisation des exosomes qui l'expriment [30]. En fonction du type d'intégrines présent à leur surface, les exosomes provenant de tumeurs primaires sont internalisés par différents organes cibles de métastases, les poumons lorsque ce sont les intégrines $\alpha6\beta4$ et $\alpha6\beta1$, ou le foie lorsqu'il s'agit de l'intégrine $\alpha v\beta5$ [31]. Il est donc envisageable que les syndécanes et les tétraspanines, présents à la surface des cellules cibles et/ou des exosomes, collaborent ensemble pour reconnaître la signature moléculaire des exosomes et ainsi contribuer à leur internalisation par une cellule cible particulière *(Figure 3)*.

Les syndécanes et les tétraspanines : partenaires ou adversaires dans la signalisation des exosomes ?

Les complexes syndécanes-partenaires, tétraspanines-partenaires et/ou syndécanes/tétraspanines-partenaires, peuvent provenir de différentes voies d'internalisation, ayant des cinétiques différentes. Les syndécanes et les tétraspanines, qui organisent le trafic endosomal de leurs partenaires, peuvent ainsi contrôler la disponibilité spatio-temporelle de ces partenaires et donc leur signalisation en aval. Séquestrés dans les vésicules intraluminales, les récepteurs de signalisation peuvent alors soit être adressés à la voie de dégradation dans les lysosomes, soit être adressés à la voie de sécrétion dans les exosomes, et, ainsi, potentiellement, transporter le signal dans les cellules cibles *(Figure 3)*. La majorité des études indiquent que les tétraspanines sont associées à la voie de sécrétion. Cependant, nous avons récemment montré que la tétraspanine-6 s'associe avec le syndécane-4 et perturbe son trafic cellulaire et sa localisation à la membrane plasmique. En effet, la tétraspanine-6 adresse le syndécane-4, et son parte-

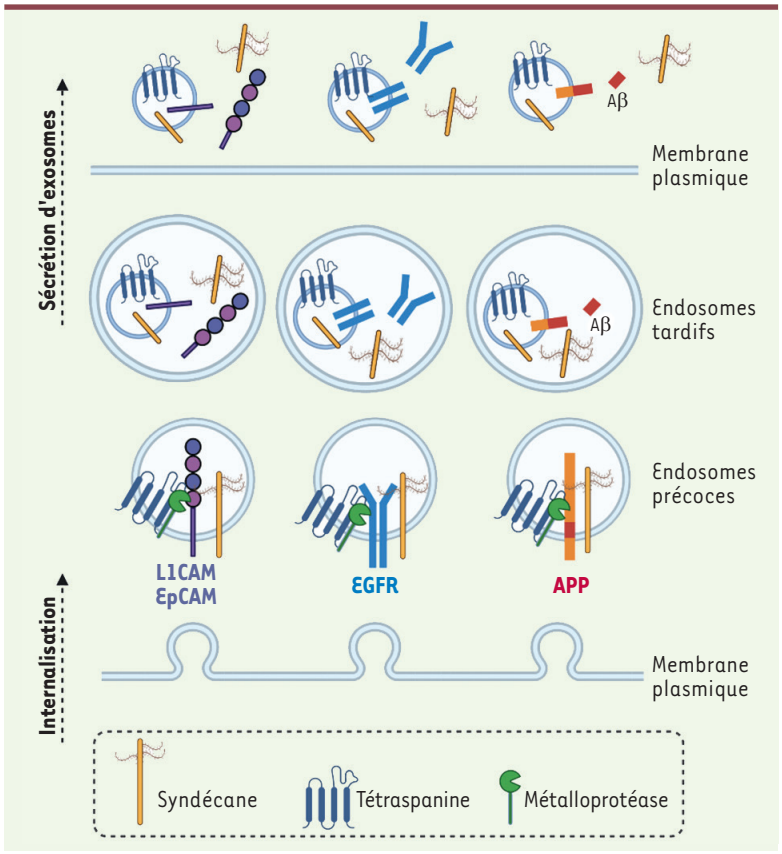


Figure 4. ***Les tétraspanines et les syndécanes peuvent réguler la signalisation des exosomes.*** Trois exemples illustrant comment les syndécanes/tétraspanines peuvent s'associer aux métalloprotéases et réguler le clivage de protéines de signalisation, comme L1CAM (*L1 cell adhesion molecule*), EpCAM (*epithelial cell adhesion molecule*), EGFR (*epidermal growth factor receptor*) et APP (*amyloid precursor protein*). Les syndécanes/tétraspanines participent ainsi au développement d'une plateforme de clivage et de signalisation mise en place au niveau des endosomes tardifs et des exosomes.

naire, l'EGFR, vers la voie de dégradation [32], régulant ainsi négativement la voie de sécrétion exosomale *(Figure 2B)*. Une interconnexion physique et fonctionnelle entre les syndécanes et les tétraspanines pourrait potentiellement réguler la balance entre sécrétion exosomale et dégradation lysosomale. À ce stade, il est utile de constater que différents niveaux d'expression des syndécanes et des tétraspanines, en fonction du temps, du type cellulaire et/ou de l'environnement, pourraient expliquer certaines spécificités ou variabilités observées. Nous avons montré que ce sont les syndécanes (syndécane-1 et -4, dans des cellules de lignées de cancer du sein) qui régulent la compartimentation de la tétraspanine CD63, mais pas celle de CD9 ni celle de CD81, au niveau des exosomes [13, 23]. Inversement, la tétraspanine CD82 permet d'associer les syndécanes à l'EGFR dans des microdomaines membranaires, et donc son activation par l'HB-EGF (*heparin-binding EGF-like growth factor*) [33]. Nous avons désormais également des raisons de penser que les tétraspanines et les syndécanes collaborent pour réguler le trafic, le clivage et la signalisation de leurs partenaires. Par exemple, le clivage de plusieurs récepteurs de signalisation, à la membrane limitante des endosomes tardifs ou au niveau des exosomes, a été décrit *(Figure 4)* : les molécules d'adhérence, L1CAM (*L1 cell adhesion molecule*) et CD44 [34], le récepteur EGFR/ErbB1 [35], la protéine des mélanocytes PMEL [36], la protéine APP (*amyloid precursor protein*), dans la maladie d'Alzheimer [37, 38], et l'oncogène EpCAM (*epithelial cell adhesion molecule*), chez des patientes atteintes de cancer du sein [39]. Les métalloprotéases, connues pour contrôler le clivage de nombreuses protéines sont régulées par les tétraspanines et, possiblement, par les syndécanes. En effet, les tétraspanines C8 (tétraspanine-5, -10, -14, -15, -17, -33) régulent le trafic d'ADAM10 dans des cellules humaines, une molécule qui, chez la drosophile, active la signalisation Notch [40]. En assurant la sélection des cargos des exosomes, les syndécanes et les tétraspanines participeraient donc activement au développement d'une plateforme de clivage et de signalisation mise en place au niveau des endosomes tardifs et des exosomes. Ainsi, des réseaux spécifiques de protéines appartenant aux familles des syndécanes et des tétraspanines pourraient contribuer à la spécificité de la signalisation, en engageant différents facteurs moléculaires, et ainsi influencer la durée, l'amplitude, la spécificité et la dynamique de la signalisation.

Conclusions et perspectives

La diversité des complexes syndécanes/tétraspanines/récepteurs leurs confère une large capacité à construire une variété de signatures moléculaires de signalisation. En l'absence de syndécanes/tétraspanines, des mécanismes alternatifs pourraient se mettre en place, compensant la perte d'exosomes. Néanmoins, le manque de diversité que les syndécanes et les tétraspanines apportent ne sera pas totalement comblé. La signalisation exosomale apparaît déterminante dans la communication intercellulaire, et cette signalisation ciblée et bien contrôlée semble essentielle à l'homéostasie multicellulaire. Des études complémentaires pour mieux définir le rôle fonctionnel exact et les mécanismes sous-jacents de la coopération entre les syndécanes et les tétraspanines dans la signalisation exosomale méritent certainement notre plus grande attention. ◊

SUMMARY

Tetraspanins and syndecans: Partners in crime for 'dealing' exosomes?

Exosomes are small extracellular vesicles derived from endosomal compartments. The molecular mechanisms supporting the biology of exosomes, from their biogenesis to their internalization by target cells, rely on 'dedicated' membrane proteins. These mechanisms of action need to be further clarified. This will help to better understand how exosome composition and heterogeneity are established. This would also help to rationalize their use as source of biomarkers and therapeutic tools. Here we discuss how syndecans and tetraspanins, two families of membrane scaffold proteins, cooperate to regulate different steps of exosome biology. ◊

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Théry C, Witwer KW, Aikawa E, *et al.* Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles* 2018 ; 7 : 1535750.
2. Mathieu M, Martin-Jaular L, Lavieu G, *et al.* Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication. *Nat Cell Biol* 2019 ; 21 : 9–17.
3. Niel G van, D'Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2018 ; 19 : 213–28.
4. Hurley JH. ESCRTs are everywhere. *EMBO J* 2015 ; 34 : 2398–407.
5. Charrin S, Jouannet S, Boucheix C, *et al.* Tetraspanins at a glance. *J Cell Sci* 2014 ; 127 : 3641–38.
6. Hemler ME. Tetraspanin functions and associated microdomains. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005 ; 6 : 801–11.
7. Kowal J, Arras G, Colombo M, *et al.* Proteomic comparison defines novel markers to characterize heterogeneous populations of extracellular vesicle subtypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016 ; 113 : E968-77.
8. Niel G van, Charrin S, Simoes S, *et al.* The tetraspanin CD63 regulates ESCRT-independent and -dependent endosomal sorting during melanogenesis. *Dev Cell* 2011 ; 21 : 708–21.
9. Hurwitz SN, Nkosi D, Conlon MM, *et al.* CD63 Regulates Epstein-Barr Virus LMP1 Exosomal Packaging, Enhancement of Vesicle Production, and Noncanonical NF-κB Signaling. *J Virol* 2017 ; 91 : e02251-16.
10. Shurtleff MJ, Temoche-Diaz MM, Karfilis KV, *et al.* Y-box protein 1 is required to sort microRNAs into exosomes in cells and in a cell-free reaction. *Elife* 2016 ; 5 : e19276.
11. Chairoungdua A, Smith DL, Pochard P, *et al.* Exosome release of β-catenin: a novel mechanism that antagonizes Wnt signaling. *J Cell Biol* 2010 ; 190 : 1079–91.
12. Martin-Jaular L, Nevo N, Schessner JP, *et al.* Unbiased proteomic profiling of host cell extracellular vesicle composition and dynamics upon HIV-1 infection. *EMBO J* 2021 ; 40 : e105492.
13. Baietti MF, Zhang Z, Mortier E, *et al.* Syndecan-syntenin-ALIX regulates the biogenesis of exosomes. *Nat Cell Biol* 2012 ; 14 : 677–85.
14. Lambaerts K, Wilcox-Adelman SA, Zimmermann P. The signaling mechanisms of syndecan heparan sulfate proteoglycans. *Curr Opin Cell Biol* 2009 ; 21 : 662–9.
15. Friand V, David G, Zimmermann P. Syntenin and syndecan in the biogenesis of exosomes. *Biol Cell* 2015 ; 107 : 331-41.
16. Matsuo I, Kimura-Yoshida C. Extracellular modulation of Fibroblast Growth Factor signaling through heparan sulfate proteoglycans in mammalian development. *Curr Opin Genet Dev* 2013 ; 23 : 399–407.
17. Wang H, Jin H, Rapraeger AC. Syndecan-1 and Syndecan-4 Capture Epidermal Growth Factor Receptor Family Members and the α3β1 Integrin Via Binding Sites in Their Ectodomains: NOVEL SYNSTATINS PREVENT KINASE CAPTURE AND INHIBIT α6β4-INTEGRin-Dependent Epithelial Cell Motility. *J Biol Chem* 2015 ; 290 : 26103–13.
18. Zimmermann P, Zhang Z, Degeest G, *et al.* Syndecan recycling [corrected] is controlled by syntenin-PIP2 interaction and Arf6. *Dev Cell* 2005 ; 9 : 377–88.
19. Ghossoub R, Lembo F, Rubio A, *et al.* Syntenin-ALIX exosome biogenesis and budding into multivesicular bodies are controlled by ARF6 and PLD2. *Nat Commun* 2014 ; 5 : 3477.
20. Couchman JR. Syndecans: proteoglycan regulators of cell-surface microdomains? *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003 ; 4 : 926–37.
21. Sarrazin S, Lamanna WC, Esko JD. Heparan sulfate proteoglycans. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011 ; 3.
22. Ghoroghi S, Mary B, Larnicol A, *et al.* Ral GTPases promote breast cancer metastasis by controlling biogenesis and organ targeting of exosomes. *Elife* 2021 ; 10 : e61539.
23. Roucourt B, Meeussen S, Bao J, *et al.* Heparanase activates the syndecan-syntenin-ALIX exosome pathway. *Cell Res* 2015 ; 25 : 412–28.
24. Manon-Jensen T, Multhaupt HAB, Couchman JR. Mapping of matrix metalloproteinase cleavage sites on syndecan-1 and syndecan-4 ectodomains. *FEBS J* 2013 ; 280 : 2320–31.
25. Christianson HC, Svensson KJ, Kuppevelt TH van, *et al.* Cancer cell exosomes depend on cell-surface heparan sulfate proteoglycans for their internalization and functional activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013 ; 110 : 17380–5.
26. Kashyap R, Balzano M, Lechat B, *et al.* Syntenin-knock out reduces exosome turnover and viral transduction. *Sci Rep* 2021 ; 11 : 4083.
27. Purushothaman A, Bandari SK, Liu J, *et al.* Fibronectin on the Surface of Myeloma Cell-derived Exosomes Mediates Exosome-Cell Interactions. *J Biol Chem* 2016 ; 291 : 1652–3.
28. Morelli AE, Larregina AT, Shufesky WJ, *et al.* Endocytosis, intracellular sorting, and processing of exosomes by dendritic cells. *Blood* 2004 ; 104 : 3257–66.
29. Rana S, Yue S, Stadel D, *et al.* Toward tailored exosomes: The exosomal tetraspanin web contributes to target cell selection. *Int J Biochem Cell Biol* 2012 ; 44 : 1574–84.
30. Nazarenko I, Rana S, Baumann A, *et al.* Cell surface tetraspanin Tspan8 contributes to molecular pathways of exosome-induced endothelial cell activation. *Cancer Res* 2010 ; 70 : 1668–78.
31. Hoshino A, Costa-Silva B, Shen T-L, *et al.* Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature* 2015 ; 527 : 329–35.
32. Ghossoub R, Chéry M, Audebert S, *et al.* Tetraspanin-6 negatively regulates exosome production. *Proc Natl Acad Sci USA* 2020 ; 117 : 5913–22.
33. Odintsova E, Niel G van, Conjeaud H, *et al.* Metastasis suppressor tetraspanin CD82/KAI1 regulates ubiquitylation of epidermal growth factor receptor. *J Biol Chem* 2013 ; 288 : 26323–34.
34. Stoeck A, Keller S, Riedle S, *et al.* A role for exosomes in the constitutive and stimulus-induced ectodomain cleavage of L1 and CD44. *Biochem J* 2006 ; 393 : 609–18.
35. Sanderson MP, Keller S, Alonso A, *et al.* Generation of novel, secreted epidermal growth factor receptor (EGFR/ErbB1) isoforms via metalloprotease-dependent ectodomain shedding and exosome secretion. *J Cell Biochem* 2008 ; 103 : 1783–97.
36. Niel G van, Bergam P, Di Cicco A, *et al.* Apolipoprotein E Regulates Amyloid Formation within Endosomes of Pigment Cells. *Cell Rep* 2015 ; 13 : 43–51.
37. Bécot A, Volgers C, Niel G van. Transmissible Endosomal Intoxication: A Balance between Exosomes and Lysosomes at the Basis of Intercellular Amyloid Propagation. *Biomedicines* 2020 ; 8 : 272.
38. Laulagnier K, Javalet C, Hemming FJ, *et al.* Amyloid precursor protein products concentrate in a subset of exosomes specifically endocytosed by neurons. *Cell Mol Life Sci* 2018 ; 75 : 757–73.
39. Rupp A-K, Rupp C, Keller S, *et al.* Loss of EpCAM expression in breast cancer derived serum exosomes: Role of proteolytic cleavage. *Gynecol Oncol* 2011 ; 122 : 437–46.
40. Dornier E, Coumailleau F, Ottavi J-F, *et al.* TspanC8 tetraspanins regulate ADAM10/Kuzbanian trafficking and promote Notch activation in flies and mammals. *J Cell Biol* 2012 ; 199 : 481-96.

TIRÉS À PART

P. Zimmermann

Abonnez-vous à *médecine/sciences*

Bulletin d'abonnement page 1194 dans ce numéro de *m/s*