

COMMUNICATION

Le système lysosomal dans la protéolyse : panorama des maladies lysosomiales

MOTS-CLÉS : LYSOSOMES. PROTÉOLYSE. MALADIES LYSOSOMIALES

Lysosomal proteolysis ; overview of lysosomal diseases

KEY-WORDS (Index medicus) : LYSOSOMES. PROTEOLYSIS. LYSOSOMAL STORAGE DISEASES

L'auteur déclare ne pas avoir de liens d'intérêt en relation avec le contenu de cet article

Irène MAIRE *

RÉSUMÉ

Dans une cellule dont les constituants sont en constant renouvellement, le lysosome joue un rôle clé dans le recyclage des autres organites et des protéines cellulaires à vie longue. Carrefour du système vacuolaire de la cellule dont les fonctions sont étroitement inter-régulées, le lysosome, avec sa machinerie protéolytique, est essentiel au maintien de l'homéostasie cellulaire. Les maladies lysosomiales sont des maladies génétiques rares dues au déficit d'une ou plusieurs protéines lysosomiales. Le caractère partiel ou total du déficit et les fonctions multiples de cet organite dans les différents types cellulaires expliquent l'extrême diversité de leurs présentations cliniques.

SUMMARY

The lysosome plays a key role in recycling other cell organelles and long-lived cellular proteins, which undergo continuous turnover. Lying at the hub of vesicular pathways, the functions of which are tightly inter-regulated, the proteolytic machinery of the lysosome is essential for cellular homeostasis. Lysosomal diseases are rare genetic disorders due to deficiencies in one or several lysosomal protein(s). Their clinical manifestations are extremely diverse and depend on the total or partial nature of the protein deficiency and the specific functions of this organelle in different cell types.

* Centre de Référence des maladies héréditaires du métabolisme, Centre de biologie et de pathologie Est, 59 Bd Pinel — 69677 Bron ; e-mail : maire.irene@neuf.fr

Tirés à part : Professeur Irène MAIRE, même adresse

Article reçu le 18 octobre 2012, accepté le 12 novembre 2012

INTRODUCTION

Le concept selon lequel les protéines structurales des tissus humains sont statiques et que les protéines ingérées sont seulement des sources d'énergie a été battu en brèche il y a un peu plus de soixante-dix ans. Toutefois l'idée que les protéines tissulaires sont en constant renouvellement ne s'imposera qu'au milieu des années 50 avec la découverte du lysosome qui valut en 1974 le prix Nobel de médecine à C. de Duve, A. Claude et G. Palade « pour leurs découvertes sur la structure et l'organisation fonctionnelle de la cellule » [1].

LE SYSTÈME LYSOSOMIAL DANS LA PROTÉOLYSE

Structure du lysosome et synthèse des enzymes lysosomiales

Le lysosome est un organite intracytoplasmique, présent dans toutes les cellules nucléées, assurant la dégradation et le recyclage de composants intra- ou extra-cellulaires. Il est très hétérogène dans sa taille et son aspect et renferme essentiellement de 50 à 60 hydrolases (phosphatases, glycosidases, lipases, nucléases, sulfatases et **protéases**) actives à pH acide (5,2 à 5,5). Les hydrolases sont isolées du reste de la cellule par une membrane simple [2] de composition spécifique comprenant des glycoprotéines fortement glycosylées qui la protègent des hydrolases : LAMP (lysosome-associated membrane proteins), LIMP (lysosome-integral membrane protein). Cette membrane contient une pompe à protons (ATP dépendante) qui maintient un pH acide dans cet organite.

Plusieurs voies permettent l'adressage des protéines au lysosome [2-7] :

- La voie du Mannose-6-Phosphate (M6P) : Les enzymes solubles qui utilisent cette voie sont synthétisées dans le réticulum endoplasmique (RE) et transportées à travers l'appareil de Golgi où elles subissent toute une série de modifications post traductionnelles, conduisant à l'acquisition d'un marqueur mannose-6-phosphate (M6P). Ce marqueur va permettre leur liaison à deux récepteurs reconnaissant le M6P (M6PR46 et MPR300) concentrés dans des régions du trans-Golgi qui vont bourgeonner pour donner une vésicule de transport. Cette vésicule va ensuite fusionner avec un endosome tardif (LE) pour donner un endolysosome où les hydrolases acides sont dissociées de leurs récepteurs (recyclés vers le trans-Golgi) ou partiellement adressées à la membrane plasmique.
- La voie de la sortiline participe, avec les récepteurs M6P, à l'adressage de la sphingomyélinase acide et permet aussi l'adressage des cofacteurs indispensables à l'hydrolyse enzymatique *in vivo* des sphingolipides (saposines A, B, C, D et protéine activatrice du GM2).

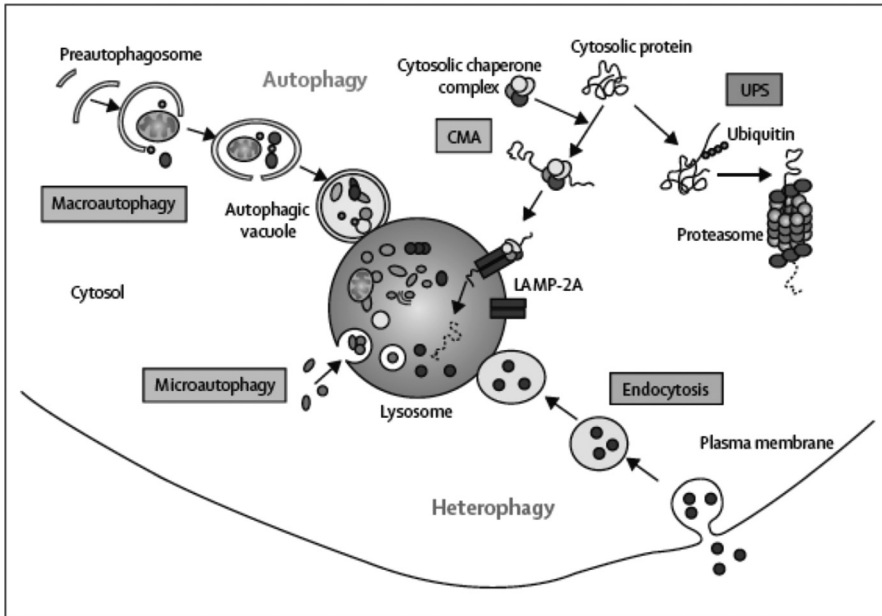


FIG. 1. — Les systèmes protéolytiques de la cellule (Martinez-Vicente M. et Cuervo A.M. [9])

— Les protéines de la membrane lysosomiale ont dans leur « queue » cytosolique un motif (dileucine et/ou tyrosine) qui peut se lier à des molécules adaptatrices permettant leur adressage aux lysosomes directement ou via la membrane plasmique. La phosphatase acide et la glucocérebrosidase (qui se lie dès le RE par interactions protéiques à la protéine membranaire LIMP-2) utilisent ces mécanismes.

Si la membrane lysosomiale est perméabilisée, les protéases vont passer dans le cytoplasme : une rupture complète conduira à la mort cellulaire ou à la nécrose tandis qu'un passage plus limité peut conduire à l'apoptose [8]. Des composés extra ou intra cellulaires, comme la sphingosine ou les ROS (Reactive Oxygen Species), peuvent participer à cette perméabilisation.

Entrée des molécules à dégrader dans le lysosome

Pour faire pénétrer les composés à dégrader dans la lumière lysosomiale, deux voies sont possibles hétérophagiques et autophagiques [1, 10, Figure 1].

Les voies hétérophagiques conduisent au lysosome des composés extracellulaires et de la membrane plasmatique par les différentes voies d'*endocytose* : *endocytose spécifique dépendant de la clathrine* (les molécules à dégrader sont reconnues au niveau de récepteurs présents dans les puits recouverts de clathrine), *pinocytose non*

spécifique en phase fluide à partir de zones particulières de la membrane plasmique, *macropinocytose*. Les molécules à recycler sont triées au niveau de vésicules situées dans l'endosome précoce (EE) : certaines retournent à la membrane tandis que d'autres continuent leur route vers les LE qui vont fusionner avec les endolysosomes et les lysosomes. La fusion des LE avec les lysosomes peut être directe ou passer par un compartiment intermédiaire, les corps multivésiculaires qui constituent une étape supplémentaire de tri sélectif. Dans certaines cellules spécialisées (monocytes/macrophages), les grosses particules ou les microorganismes peuvent pénétrer dans la cellule en formant des vésicules de *phagocytose* qui vont fusionner avec les endolysosomes pour former des phagolysosomes.

Les voies autophagiques conduisant au lysosome diffèrent par leurs mécanismes déclenchants, leur régulation et la nature du substrat à dégrader. Dans la *macroautophagie* les constituants cellulaires à recycler (glycogène, protéines, ribosomes, débris cellulaires, mitochondries, etc.) sont englobés avec un grand volume cytoplasmique dans des vésicules formées à partir de membranes du RE ou autophagosomes qui vont ensuite fusionner avec un endolysosome ou un lysosome pour former un autophagolysosome. Cette macro autophagie est un phénomène régulé impliquant des réactions de conjugaison et l'intervention de kinases. La *crinophagie* régule la vitesse de sécrétion des protéines sécrétoires en fusionnant des vésicules sécrétoires avec le système endolysosomal plutôt qu'avec la membrane plasmique. La *microautophagie* est une voie non sélective qui permet le transfert de matériel cytosolique par invagination de la membrane lysosomiale contrairement à l'*autophagie médiée par les molécules chaperonnes* (CMA) hautement sélective. Dans la CMA, les protéines cytoplasmiques, partiellement dégradées par le protéasome, portant une séquence peptidique d'adressage particulière (KEFRQ) sont reconnues par une molécule chaperonne cytoplasmique. Les complexes ainsi formés se lient à leur tour à des récepteurs de la membrane lysosomiale (lamp2-a, etc.) qu'ils traversent avec l'aide d'une chaperonne lysosomiale.

Les protéases lysosomiales [1, 10]

Les protéases lysosomiales solubles, synthétisées sous forme de précurseurs inactifs, rejoignent, par la voie du M6P, le lysosome où leur pré-séquence est clivée pour produire la configuration active. Elles sont constituées par un mélange d'endopeptidases et d'exopeptidases, appelées cathepsines, qui, ensemble, vont dégrader les protéines en un mélange d'acides aminés et de dipeptides. Ces cathepsines sont actives à pH acide même si cela n'est pas toujours leur pH optimum et certaines fonctionnent aussi hors du lysosome. Elles sont classées en fonction du résidu catalytique impliqué au site actif dans le mécanisme de clivage de la liaison peptidique. On distingue les *sérine-cathepsines* (A et G), les *aspartique—cathepsines* (D et E, Napsine), les *cystéine-cathepsines* (B, C ou DPPI, F, H, K, L, O, S, W, V et Z/X) et la *cystéine-protéase-asparagine-endopeptidase*. Certaines protéases ont à la fois une activité endo- et exopeptidase. Toutes agissent de concert : les endopeptidases

(qui ont des activités partiellement redondantes sur certains substrats) vont créer plus d'acides aminés N- et C-terminaux pour les exopeptidases classées selon leur spécificité en *carboxy-* et *amino-peptidases*, certaines étant de spécifiques di ou tripeptidases qui clivent deux ou trois acides aminés aux extrémités N ou C-terminales. La sortie des acides aminés et dipeptides générés par la protéolyse permet leur réutilisation par la cellule. Elle s'effectue par diffusion passive pour les petits acides aminés neutres comme l'alanine et la glycine ou par des transporteurs spécifiques dont dix au moins ont été détectés dans la membrane lysosomiale même si deux seulement (dont la cystinosine) sont parfaitement caractérisés [2, 7].

Rôles des protéases lysosomiales [9, 10]

Ils sont multiples et nous n'en donnerons ici que quelques illustrations.

Dans la voie endolysosomiale

Une des principales fonctions du compartiment endolysosomal est d'assurer la *modulation de la transduction du signal* en dissociant les facteurs de croissance (GF) de leurs récepteurs et les dégradant grâce aux cathepsines (B, D, etc). Une autre est leur rôle dans *l'homéostasie du cholestérol* : après liaison du récepteur des lipoprotéines (LDL) à l'apolipoprotéine B100 des LDL riches en cholestérol, le complexe est endocyté et la cathepsine D permet de libérer le cholestérol dans la cellule pour les synthèses des membranes, des acides biliaires et la stéroïdogénèse.

La majorité des cathepsines sont exprimées dans les lysosomes de toutes les cellules mais certaines sont *spécifiques de certains types cellulaires* : dans les tissus lymphatiques, la cathepsine S joue un rôle important pour la *présentation de l'antigène dans la formation des complexes majeurs d'histocompatibilité de classe II (MHC-II)* ; dans les ostéoclastes, la cathepsine K, qui possède une importante activité collagénolytique, est fortement exprimée et joue un rôle important dans la *résorption osseuse* dans l'espace acidifié subostéoclastique.

Dans le système autophagique

La cathepsine A, qui joue aussi un rôle protecteur pour certaines hydrolases acides (bêta galactosidase et neuraminidase), initie la dégradation du récepteur lamp2-a *contrôlant la vitesse de la CMA*. Environ 30 % des protéines du cytoplasme peuvent être dégradées par la CMA qui joue un rôle important dans la régulation de la protéolyse dans différentes conditions de stress cellulaire ou pathologiques. Le déficit en *cathepsine D* provoque une altération de la macroautophagie et l'accumulation de lipofuschine dans les neurones et de nombreux organes et est responsable de la céroïde lipofuscine de type 10 (CLN 10). Les cathepsines D, L et B sont les principales protéases impliquées dans le *turn-over des organites* cellulaires [10].

Les cathepsines lysosomiales jouent un rôle important pour *dégrader des composés dont l'accumulation est toxique* : les cathepsines L et Z hydrolysent les protéines et

peptides polyglutaminés que le protéasome ne peut hydrolyser [11] ; les cathepsines D et L réduisent la toxicité des produits terminaux de glycosylation générés lors du vieillissement, au cours du diabète ou des maladies neurodégénératives [12].

Quand la protéolyse lysosomiale dysfonctionne, les deux voies hétéro- et auto-phagiques sont altérées. Dans les cultures de neurones, l'inhibition de la protéolyse interrompt le transport axonal des LE et des lysosomes provoquant une dystrophie axonale ressemblant à celle observée dans la maladie d'Alzheimer, réversible si on rétablit la protéolyse normale [13]. Dans le modèle murin de maladie d'Alzheimer, l'augmentation de la protéolyse rétablit l'autophagie et améliore la pathologie observée [14].

La protéolyse lysosomiale ne suffit pas, à elle seule, à expliquer la grande variabilité des demi-vies des protéines cellulaires, le caractère sélectif de la dégradation de certaines d'entre elles, la dégradation des hémoglobines anormales dans les réticulocytes, etc. Des réponses seront apportées par la découverte d'un autre système protéolytique : le système ubiquitine protéasome (prix Nobel de chimie 2004). La protéolyse lysosomiale et ce système sont extrêmement régulés et interdépendants [1].

PANORAMA DES MALADIES LYSOSOMIALES

Leur rareté exceptée, quel point commun peut-on trouver entre « l'épithélioma primitif de la rate » décrit en 1882 par Gaucher, la myocardiopathie hypertrophique du nourrisson décrite en 1932 par l'anatomopathologiste Pompe, la pycnodysostose maladie osseuse dont aurait été atteint Toulouse-Lautrec, une maladie immunologique le syndrome de Papillon Lefèvre et certaines maladies purement neurologiques comme la CLN2 ? Ces maladies sont toutes des maladies lysosomiales et, parmi les mécanismes physiopathologiques proposés, les altérations de la protéolyse jouent un rôle majeur.

Caractères généraux [15]

Le concept de maladie de surcharge, introduit par H.G. Hers en 1965, désigne toute maladie causée par le déficit congénital d'une protéine lysosomiale que celui-ci résulte de mutations sur le gène même de cette protéine lysosomiale ou sur le gène d'une protéine non lysosomiale mais nécessaire à la fonction de cette protéine lysosomiale. Ainsi le déficit en transporteur F de la cobalamine (CblF) situé dans la membrane lysosomiale, responsable d'un déficit en cobalamine qui conduit à une acidurie organique, est une maladie lysosomiale mais pas une maladie de surcharge. Par contre, la mucopolipidose de type II due à un déficit en phosphotransférase de l'appareil de Golgi mais qui conduit à des déficits multiples d'enzymes lysosomiales solubles est typiquement une maladie de surcharge lysosomiale. Ces maladies sont presque toutes transmises sur le mode récessif autosomique et pour trois d'entre elles sur le mode récessif lié à l'X (maladies de Fabry, de Hunter et de Danon).

Ces maladies de surcharge sont *progressives* et on a longtemps pensé qu'elles n'apparaissaient qu'après un intervalle libre. Toutefois, au plan clinique, la notion de dégradation progressive est difficile à documenter dans la phase initiale. Il convient surtout de retenir leur *hétérogénéité* : pour un déficit portant sur une même enzyme, ces maladies peuvent avoir un début ante- ou périnatal (souvent sous forme d'une anasarque fœtoplacentaire) ou n'apparaître qu'à l'âge adulte. Le phénotype clinique dépend de la nature du composé affecté, de la vitesse de son métabolisme, variable dans les divers tissus, de l'activité résiduelle de l'enzyme déficitaire, de facteurs génétiques et épigénétiques réglant la vitesse d'accumulation et des réponses cellulaires secondaires à la surcharge. *Une maladie de surcharge lysosomiale monogénique, apparaît donc comme une maladie multifactorielle et des différences importantes de phénotypes cliniques peuvent se voir chez des malades présentant un génotype identique.* Les lysosomes étant présents dans pratiquement toutes les cellules, on a longtemps considéré qu'il s'agissait de maladies ubiquitaires. En fait, on sait maintenant qu'elles *peuvent être tissus-spécifiques* (comme la cathepsine K spécifique des ostéoclastes déficitaire dans la pycnodysostose).

Classification fonctionnelle [15]

Les premières classifications des MSL ne concernaient que des déficits d'une hydrolase lysosomiale (enzymopathies) et reposaient sur la nature de la ou des macromolécules complexes partiellement dégradées accumulées dans les lysosomes. On distinguait les maladies dues à un déficit enzymatique unique telles que la glycogénose type II et les mucopolysaccharidoses qui comportaient des surcharges complexes du fait de déficits enzymatiques multiples. La classification fonctionnelle actuelle permet de prendre en compte les maladies de surcharge lysosomiale différentes des enzymopathies. On peut distinguer :

1. *Les déficits primitifs des hydrolases lysosomales ou de cofacteurs nécessaires à leur stabilité ou à leur fonctionnement qui incluent :*

- **Les enzymopathies : glycogénose de type II (maladie de Pompe), sphingolipidoses et lipidoses neutres, glycoprotéinoses et mucopolysaccharidoses (MPS)** auxquelles sont venus s'ajouter, **les CLN 1 et 2** (déficit en tripeptidyl-peptidase I) et **plusieurs déficits en cathepsines** : en *cathepsine K* dans la **pycnodysostose**, en *cathepsine C* (activateur des serine-protéases neutres des cellules immunitaires et inflammatoires) dans les syndromes de **Papillon Lefèvre et de Haim-Munk** et en *cathepsine D* responsable de la **CLN10**.
- **Les déficits en cofacteurs de ces enzymes : protéine protectrice** dans la **galactosialidose** (en l'absence de cette protéine protectrice ou *cathepsine A1PPCA*, la neuraminidase est retenue dans le compartiment endosomal tandis que la bêta galactosidase est rapidement dégradée dans le lysosome), **activateurs nécessaires à l'hydrolyse in vivo des sphingolipides** (prosaposine/saposines et activateur du

- ganglioside GM2) et petite protéine lysosomale soluble CLN5P responsable de la CLN5 dont le rôle n'est pas encore totalement élucidé.
2. **Les déficits multiples, secondaires au défaut d'une étape co- ou post-traductionnelle (protéine du RE ou du Golgi) : déficit multiple en sulfatases** dû au déficit d'une protéine du RE qui transforme une cystéine en formylglycine, étape indispensable à l'acquisition d'une activité sulfatase pour les protéines lysosomiales ou non et **mucopolidoses de type II et III** dues à des défauts d'adressage au lysosome des protéines solubles par la voie du M6P et à leur fuite dans le milieu extracellulaire. Les malades atteints de mucopolidose présentent donc une concentration extrêmement élevée de la plupart de ces hydrolases acides dans le plasma et un déficit profond de ces mêmes hydrolases dans les cellules d'origine mésenchymateuse. Toutefois, dans d'autres types cellulaires, nombre de ces mêmes hydrolases solubles présentent une activité normale car des récepteurs d'endocytose spécifiques permettent la recapture et l'adressage aux lysosomes des hydrolases acides circulant à haute concentration dans le milieu extracellulaire.
 3. **Les déficits de transporteurs de la membrane lysosomale** : cystinose dans la cystinose, sialine dans la **maladie de Salla**, CblF dans l'**acidurie méthylmalonique avec homocystinurie**.
 4. **Les déficits de protéines endolysosomales impliquées dans le trafic vésiculaire : maladies de Niemann Pick de type 1 et 2, maladie de Danon** (déficit en LAMP2 impliquée dans l'autophagie), la **mucopolidose de type IV** (déficit en mucopolipine, canal chlore non sélectif modulé par les ions Ca^{2+} impliqué dans les processus de fusion des membranes et d'exocytose et dont le déficit entraîne une atteinte neurologique et une achlorhydrie gastrique [17]), **CLN 3, 6, 7 et 8 et plusieurs formes d'ostéopétrose** [18]. Des déficits de protéines impliquées dans le trafic vésiculaire (lysosomes ou organites reliés aux lysosomes) sont également responsables du syndrome d'**Hermansky-Pudlak** [19], du syndrome de **Chediak Higashi** (affectant les mélanosomes, organites appartenant aux lysosomes) et du **syndrome de Griscelli**.
 5. **Non classées : les CLN de type 4 en cours de démembrement**. Dans la forme récessive, des mutations ont été récemment identifiées dans le gène *CLN6* et dans environ 25 % des cas de forme autosomique dominante à début adulte, un gène muté *DNAJC5* codant pour une protéine de la membrane de la vésicule synaptique a été récemment identifié [20] ; **d'autres CLN** viennent encore rendre ce groupe de maladie plus complexe : dans une CLN de transmission récessive autosomique à début juvénile, des mutations ont été identifiées dans le gène *ATP13A2* qui code pour une protéine localisée dans la région de la membrane lysosomiale qui a été également décrite comme responsable d'une forme autosomique récessive héréditaire de Parkinson avec démence et début juvénile (syndrome de Kufor-Rakeb) [21]

Cette classification fonctionnelle a l'avantage de montrer que les lysosomes jouent dans la cellule un rôle beaucoup plus central que celui de simples organites de dégradation

des molécules complexes, de mieux appréhender la complexité de la physiopathologie des maladies lysosomiales et d'apporter des bases rationnelles aux traitements de ces affections.

Physiopathologie [16, 22, 23]

Le lysosome : un organite aux fonctions multiples

Les lysosomes ne dégradent pas seulement de façon aspécifique les protéines qui leur sont adressées pour recycler leurs composants mais *dégradent aussi de façon sélective* (CMA) certaines protéines cytosoliques. Ils *jouent un rôle essentiel dans les voies de récupération* de nombreux composés : dans les neurones, seuls 30 % des gangliosides, composants essentiels des membranes, adressés au système endolysosomal sont dégradés en leurs composants les plus simples alors que, pour 70 % d'entre eux, la dégradation s'arrête au stade de monosialogangliosides qui sont recyclés dans le réseau transgolgien. Ils peuvent servir de *compartiments de stockage* (de neurotransmetteurs, d'ions calcium, etc.) et *l'efflux de certains composés peut être régulé* (sortie des sulfates régulée par les hormones thyroïdiennes, etc.). En outre, les lysosomes et leurs protéases constituent un *passage obligé pour la production de certains métabolites actifs* (hormones : thyroxine ; vitamines : cobalamine, etc). Enfin, certaines protéines lysosomiales ont aussi une fonction hors du lysosome (la sialine qui permet l'export de l'acide sialique du lysosome a aussi une fonction d'import de l'aspartate et du glutamate dans les vésicules synaptiques de l'hippocampe).

Le dysfonctionnement des lysosomes n'entraîne donc pas seulement un stockage des molécules non dégradées. La présence excessive de ces dernières peut conduire, soit à leur fuite dans des domaines membranaires intracellulaires qui en contiennent peu ou pas (responsable d'anomalies de l'homéostasie du Ca^{2+} dans des sphingolipidoses, etc.), soit à leur présence anormale à la surface de la membrane plasmique entraînant l'altération des voies de signalisation (dans les MPSI et IIIB, les héparanes sulfates ou les oligosaccharides anormaux dérivés des ces héparanes sulfates, présents à la surface de la membrane cytoplasmique, bloquent la voie du FGF, etc.), soit à l'activation de voies secondaires pouvant produire des produits toxiques (psychosine dans la maladie de Krabbe, etc.). *Le dysfonctionnement des lysosomes entraîne aussi des déficits cellulaires en certains métabolites* (déficit en acide sialique pour la sialylation des gangliosides dans la maladie de Salla et la sialidose, déficit en cholestérol dans les maladies de Niemann Pick, etc.) *et des déficits énergétiques* (dans la glycogénose de type II, etc.).

Pour pallier ces déficits, la cellule va mettre en œuvre des mécanismes compensatoires. Les surcharges secondaires sont le reflet des mécanismes mis en jeu par les cellules ; elles varient donc avec le type cellulaire et son métabolisme propre et peuvent être plus importantes que la surcharge en composé primaire. Ces mécanismes palliatifs : activation de la synthèse des composés déficitaires, de l'autophagie et/ou du système ubiquitine protéasome ne sont *pas toujours bénéfiques pour la cellule*. Dans la maladie de Pompe l'activation de l'autophagie aggrave *in fine* la surcharge et le déficit énergétique. Dans le cortex rostral du cerveau de la souris MPSIIIIB, l'acti-

vation du système ubiquitine protéasome provoque la dégradation accrue de la synaptophysine, protéine la plus importante de la membrane de la vésicule synaptique, conduisant à l'altération de la plasticité synaptique [24].

Les lysosomes appartiennent à un réseau complexe de vacuoles intracellulaires et l'anomalie d'une seule protéine de ce système ou des protéines responsables des mouvements ou de la fusion de ces vacuoles peut rompre les communications avec le reste de la cellule, retentir sur l'ensemble de l'homéostasie cellulaire et induire toute une série de cascades pathogènes.

La voie de l'endocytose : *Après internalisation de complexes récepteurs ligands, la protéolyse lysosomiale [10] participe à l'atténuation de nombreux événements de signalisation affectant plusieurs fonctions cellulaires : dans les neurones, l'endocytose contrôle la disponibilité des récepteurs AMPA influençant la plasticité dendritique et l'exagération de la signalisation dans les maladies de surcharge lysosomiale serait responsable de la dendritogénèse ectopique ; dans les neurones, les facteurs de croissance et leurs récepteurs sont endocytés, rétrotransportés dans des vésicules postsynaptiques jusqu'au corps cellulaire où ils recruteraient les messagers secondaires nécessaires à la transduction du signal : dans les maladies lysosomiales, un déficit de cette voie de signalisation serait responsable de la formation des sphéroïdes. L'endocytose joue aussi un rôle critique dans la composition des membranes : dans les cellules gliales, l'augmentation de la concentration en gangliosides dans la membrane provoque des anomalies dans l'expression des récepteurs de surface (Toll-like récepteurs) et une activation microgliale.*

La voie sécrétoire peut être également impliquée dans certaines cellules où les lysosomes jouent le rôle de vacuoles d'exocytose : dans la MPS IIIB, les lysosomes distendus présents dans les prolongements neuronaux et perturbant le transport axono dendritique renferment aussi un marqueur du cis-Golgi suggérant l'implication de la voie sécrétoire précoce dans la biogenèse de ces lysosomes anormaux ou sphéroïdes [24].

La voie autophagie-lysosome qui constitue un mécanisme important pour la régulation des ions métalliques, pour l'homéostasie des protéines à vie longue et des organites cellulaires, (cf. rôles des cathepsines A et D) est également altérée dans de nombreuses maladies lysosomiales : dans la maladie de Niemann-Pick type C1, le blocage de la progression autophagique dans les neurones se traduit par une fragmentation mitochondriale incomplète conduisant à l'accumulation anormale de protéines mitochondriales [25]. Il est connu, depuis longtemps, que le déficit d'une enzyme lysosomiale entraîne l'augmentation d'autres hydrolases acides montrant que le niveau d'expression de plusieurs d'entre elles est orchestré par un mécanisme commun. Plus récemment, un contrôle génétique de la biosynthèse lysosomiale et de l'autophagie, sans doute responsable de cette réponse coordonnée, a été mis en évidence : identification de facteurs de transcription nucléaire communs [23], de microRNAs reconnaissant des séquences identiques dans les régions 3' non traduites des gènes lysosomiaux et de l'autophagie [14] et d'un motif commun de dix

paires de base (appelé CLEAR *coordinated lysosomal expression and regulation*) situé près du site de début de transcription de plusieurs gènes codant pour des protéines lysosomiales ou impliquées dans la biosynthèse des lysosomes ou des protéines de la voie l'autophagie [16]. Ces mécanismes de contrôle de la machinerie de dégradation protéique autophagie/lysosome jouent un rôle important, de mieux en mieux exploré, dans le neurodéveloppement et la neurodégénération.

CONCLUSION

La circulation contrôlée de substances entre le lysosome, le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi, les vésicules de phagocytose, d'autophagie, d'endocytose, de sécrétion et d'exocytose, la membrane plasmique et le cytoplasme constitue un mode de régulation, encore mal compris dans sa globalité. Au centre de ce système vacuolaire dont les fonctions sont étroitement inter-régulées, le lysosome et sa machinerie protéolytique complexe, est devenu actuellement, à l'échelle cellulaire, un coordinateur métabolique essentiel dont tous les aspects ne sont pas encore connus aujourd'hui mais bien loin du « suicide bag » initialement proposé par C. de Duve.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] CIECHANOVER A. — Intracellular protein degradation: From a vague idea thru the lysosome and the ubiquitin-proteasome system and onto human diseases and drug targeting. *Biochim. Biophys. Acta*, 2012, 1824, 3-13.
- [2] WINCHESTER B.G. — Lysosomal membrane proteins. *Eur. J. Paediatr. Neurol.*, 2001, 5 suppl. A, 11-19.
- [3] GHOSH P., DAHMS N.M., KORNFELD S. — Mannose-6-phosphate receptors: new twists in the tail. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2003, 4, 202-212.
- [4] DITTMER F., ULBRICH E.J., HAFNER A. *et al.* — Alternative mechanisms for trafficking of lysosomal enzymes in mannose-6-phosphate receptor-deficient mice are cell type-specific. *J. Cell Sci.*, 1999, 112, 1591-1597.
- [5] NI X., MORALES C.R. — The lysosomal trafficking of acid sphingomyelinase is mediated by sortilin and mannose-6-phosphate receptor. *Traffic*, 2006, 7, 889-902.
- [6] OBERMÜLLER S., KIECKE C., VON FIGURA K., HÖNING S. — The tyrosine motifs of Lamp 1 and LAP determine their direct and indirect targeting to lysosomes. *J. Cell Sci.*, 2002, 115, 185-194.
- [7] SAFTIG P., KLUMPERMANN J. — Lysosome biogenesis and lysosomal membrane proteins: trafficking meets function. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2009, 10, 623-635.
- [8] COLETTI G.A., MIEDEL M.T., QUINN J. *et al.* — Loss of lysosomal ion channel transient receptor potential channel mucolipin-1 (TRPML1) leads to cathepsin B-dependent apoptosis. *J. Biol. Chem.*, 2012, 287, 8082-8091.
- [9] MARTINEZ-VICENTE M., CUERVO A.M. — Autophagy and neurodegeneration: when the cleaning crew goes on strike. *Lancet Neurol.*, 2007, 6, 352-361.

- [10] MÜLLER S., DENNEMÄRKER J., REINHECKEL T. — Specific functions of lysosomal proteases in endocytic and autophagic pathways. *Biochim. Biophys. Acta*, 2012, 1824, 34-43.
- [11] BHUTANI N., PICCIRILLO R., HOUREZ R. *et al.* — Cathepsin L and Z are critical in degrading polyglutamine-containing proteins within lysosomes. *J. Biol. Chem.*, 2012, 287, 17471-17482.
- [12] GRIMM S., HORLACHER M., CATALGOL B. *et al.* — Cathepsins D and L reduce the toxicity of advanced glycation end products. *Free Radic. Biol. Med.*, 2012, 52, 1011-1023.
- [13] LEE S., SATO Y., NIXON R.A. — Lysosomal proteolysis inhibition selectively disrupts axonal transport of degradative organelles and causes an Alzheimer's-like axonal dystrophy. *J. Neurosci.*, 2011, 31, 7817-7830.
- [14] YANG D-U, STAVRIDES P., MOHAN P.S. *et al.* — Therapeutic effect of remediating autophagy failure in a mouse model of Alzheimer disease by enhancing lysosomal proteolysis. *Autophagy*, 2011, 7, 788-789.
- [15] MAIRE I. — [Lysosomal storage diseases: functional classification and treatment principles] *Presse Med.*, 2007, 36 (Spec No 1), 1S 88-95. Review.
- [16] SCHULZ M.L., TECEDOR L., CHANG M., DAVIDSON B.L. — Clarifying lysosomal storage diseases. *Trends Neurosci.*, 2011, 34, 401-410.
- [17] LUBENSKY I.A., SCHIFFMANN R., GOLDIN E., TSOKOS M. — Lysosomal inclusions in gastric parietal cells in mucopolidosis type IV: a novel cause of achlorhydria and hypergastrinemia. *Am. J. Surg. Pathol.*, 1999, 23, 1527-1531.
- [18] LANGE P.F., WARTOSCH L., JENTSCH J., FUHRMANN J.C. — CIC-7 requires Ostml as a beta subunit to support bone resorption and lysosomal function. *Nature*, 2006, 440, 220-223.
- [19] OLKKONEN V.M., IKONEN E. — When intracellular logistics fails-genetic defects in membrane trafficking. *J. Cell Sci.*, 2006, 119, 5031-5045.
- [20] NOSKOVA L., STRANECKY V., HARTMANNOVA H. *et al.* — Mutations in *DNAJC5*, encoding cysteine string protein alpha, cause autosomal-dominant adult-onset neuronal ceroid lipofuscinosis. *Am. J. Hum. Genet.*, 2011, 89, 241-252.
- [21] BRAS J., VERLOES A., SCHNEIDER S.A. *et al.* — Mutations in the parkinsonism gene *ATP13A2* causes neuronal ceroid-lipofuscinosis. *Hum. Mol. Genet.*, 2012, 21, 2646-2650.
- [22] WALKLEY S.U. — Pathogenic cascades in lysosomal disease — Why so complex? *J. Inherit. Metab. Dis.*, 2009, 32, 181-189.
- [23] COX T.M., CACHON-GONZALEZ B.M. — The cellular pathology of lysosomal diseases. *J. Pathol.*, 2012, 226, 241-254.
- [24] VITRY S., AUSSEIL J., HOCQUEMILLER M. *et al.* — Enhanced degradation of synaptophysin by the proteasome in mucopolysaccharidosis type IIIB. *Mol. Cell Neurosci.*, 2009, 41, 8-18.
- [25] ORDONEZ M.P., ROBERTS E.A., KIDWELL C.U. *et al.* — Disruption and therapeutic rescue of autophagy in a human neuronal model of Niemann-Pick type C1. *Hum. Mol. Genet.*, 2012, 21, 2651-2662.

DISCUSSION

M. Raymond ARDAILLOU

Quel est le rôle des lysosomes dans la régulation du pH intracellulaire ?

Les lysosomes constituent le compartiment le plus acide de l'organisme. Ce pH acide entre 5,2 et 5,5 est maintenu grâce à une pompe à protons ATP dépendante. Par contre,

le maintien du pH dans le cytoplasme fait intervenir d'autres pompes. Toutefois si la membrane du lysosome est perméabilisée, une acidification du pH intracellulaire peut s'observer et aboutir à une nécrose cellulaire.

M. Jean-Yves LE GALL

Une partie des maladies lysosomiales, en particulier les maladies de Gaucher et de Tay-Sachs, est due à des mutations qui n'inhibent pas le site actif de l'enzyme, mais entraînent une anomalie de repliement et empêche l'intériorisation des porteurs enzymatiques dans les lysosomes. Comment faire la distinction entre ces deux types d'anomalies ? Quelles sont les populations respectives de ces anomalies ?

Il existe effectivement de nombreuses mutations qui affectent les gènes des enzymes lysosomiales. Les mutations qui conduisent à une absence de protéine donnent les formes les plus sévères de la maladie, c'est le cas, par exemple, des mutations qui induisent des anomalies de repliement entraînant la destruction de la protéine dans le reticulum endoplasmique par le système de contrôle de qualité de la cellule. Si la mutation concerne un acide aminé du site actif impliqué dans la réaction catalytique, il induira également une forme sévère. Par contre, pour d'autres acides aminés du site actif, l'effet n'est pas toujours aisément prédictible. La différence entre les deux situations que vous proposez est la présence de protéine dans un cas (anomalie du site actif) et son absence dans l'autre. Toutefois, il n'existe pas d'anticorps commercialement disponibles pour différencier aisément les deux situations. Enfin d'autres mutations sont également responsables de l'absence de protéine fonctionnelle. L'évolution actuelle consiste donc après avoir recherché les mutations les plus fréquentes à séquencer le gène et dans certains cas le transcrit. Les activités résiduelles mesurées ainsi que les bases de données génétiques et la connaissance de la structure protéique, quand elle est connue (modélisation, étude cristallographique), permettent alors de prévoir, dans certains cas, l'effet des mutations. Le problème est encore compliqué par le fait qu'il s'agit de maladies rares et que beaucoup de malades sont des hétérozygotes composites. Pour la maladie de Gaucher, plus de trois cents mutations ont été décrites à ce jour. Les formes modérées sont les plus fréquentes : elles ne correspondent donc à aucune des deux situations que vous évoquez, puisqu'elles impliquent la présence de la protéine et d'une activité résiduelle de l'enzyme. Pour la maladie de Tay-Sachs, les formes les plus sévères sont au contraire les plus fréquentes mais la situation est encore compliquée dans le cas de l'hexosaminidase A, par le fait que cette enzyme tétramérique (de structure $\alpha 2\beta 2$) possède deux chaînes protéiques (seules les mutations sur la chaîne α sont responsables de la maladie de Tay-Sachs) nécessite pour son action *in vivo* la liaison à une petite protéine lysosomiale (protéine activatrice du GM2) qui fait le lien entre le substrat liposoluble et l'enzyme hydrosoluble. En conclusion, en l'absence de dépistage systématique en dehors de la population juive ashkénaze dans laquelle on ne recherche que quelques mutations particulières, il ne m'est pas possible de donner les proportions effectives des deux types d'anomalies qui font l'objet de votre question.

M. Emmanuel-Alain CABANIS

Quelle est la part des maladies du système lysosomal dans la survenue d'une sclérose en plaques ou d'autres leuco-encéphalopathies voisines (puisqu'elles devraient, en fait, toujours être associées, au moins partiellement ou très partiellement) ?

Certaines maladies lysosomiales sont directement responsables de quelques leuco-encéphalopathies (leucodystrophie métachromatique et maladie de Krabbe par exemple) et la neuroinflammation, l'activation microgliale ainsi que la neurodégénération sont observées dans l'évolution de nombre d'entre elles. Toutefois il s'agit de maladies rares et leur part reste donc très limitée dans l'ensemble de ces pathologies. Par contre, les dérèglements secondaires du système lysosomal, au centre du système vésiculaire de la cellule et acteur primordial de la composition des membranes, jouent un rôle important de mieux en mieux étudié dans de très nombreuses maladies neurodégénératives.