



HAL
open science

La ferroptose, une voie de signalisation prometteuse pour de futurs traitements anticancéreux

Romain Fromenteau, May El Nmrawy, Léa Sellier, Bernard Mignotte

► **To cite this version:**

Romain Fromenteau, May El Nmrawy, Léa Sellier, Bernard Mignotte. La ferroptose, une voie de signalisation prometteuse pour de futurs traitements anticancéreux. *Médecine/Sciences*, 2024, 40, pp.215 - 217. 10.1051/medsci/2023215 . hal-04490218

HAL Id: hal-04490218

<https://uvsq.hal.science/hal-04490218v1>

Submitted on 12 Mar 2024

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.

Une voie de signalisation de la ferroptose prometteuse pour de futurs traitements anticancéreux

A ferroptosis pathway promising for future immunotherapy treatment

Romain Fromenteau¹, May El Nmrawy¹, Léa Sellier¹, Bernard Mignotte²

1 M1 Biologie Santé, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay, France.

2 Université Paris-Saclay, UVSQ, LGBC, 78000, Versailles, France.

fromenteaur@gmail.com

may.elnmrawy@hotmail.com

lea.sellier27@gmail.com

bernard.mignotte@uvsq.fr

La ferroptose fait partie des nombreux types de mort cellulaire identifiés à ce jour [1]. Elle correspond à une mort cellulaire régulée non apoptotique qui se manifeste par une accumulation de lipides peroxydés à la membrane des cellules [2,3]. Le fer joue un rôle important dans la ferroptose puisqu'il permet la conversion des espèces réactives de l'oxygène (ERO) faiblement oxydantes tel que H_2O_2 en espèces très oxydantes (OH^\bullet) *via* la réaction de Fenton¹ [4]. Ces espèces vont alors pouvoir oxyder les phospholipides membranaires. Cependant, les voies de signalisation permettant l'activation de cette mort cellulaire ne sont encore que très partiellement connus.

La ferroptose a été reliée à des maladies neurodégénératives comme la maladie de Parkinson [5]. Par ailleurs, certains oncosuppresseurs, comme p53 ou BAP1, sensibilisent les cellules à la ferroptose, ce qui contribuerait à leur fonction de supprimeurs des tumeurs [6]. L'induction de la ferroptose apparaît donc comme une stratégie thérapeutique innovante pour le traitement des cancers. Dans cette perspective, Zhang *et al.* ont voulu comprendre les voies de signalisation impliquées dans ce processus.

Criblage CRISPR-Cas9 : un outil performant

Afin d'identifier ces voies, Zhang *et al.* ont effectué un criblage visant à identifier des gènes codant des protéines impliquées dans la ferroptose [7]. Ils ont utilisé pour cela la technique de "CRISPR-Cas9 screening", un outil performant pour la mise en évidence d'une nouvelle voie de signalisation [8]. L'utilisation de cette technique permet *via* une banque d'ARN guide (sgRNA) et l'expression de la nucléase Cas9 [8] d'introduire aléatoirement des

1 $Fe^{2+}(aq) + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+}(aq) + HO^- + HO^\bullet$

mutations dans les cellules utilisées et donc de cibler une grande quantité de gènes et d'identifier ainsi une ou plusieurs protéines importantes. La sélection de cellules résistantes à une induction de la ferroptose par l'érastine², suivie d'un séquençage NGS³ de ces cellules, a permis aux auteurs de sélectionner des gènes potentiellement pro-ferroptotiques.. L'implication des gènes identifiés a ensuite été confirmée en inhibant spécifiquement l'expression des gènes identifiés.

PKCβII et ses partenaires sont impliqués dans la ferroptose

Ce criblage a notamment mis en évidence la contribution du gène codant la Protéine Kinase C β (PKCβ) à la ferroptose induite par l'érastine. Les PKCs forment une famille de protéines kinases qui, *via* des phosphorylations, activent de nombreuses protéines dans différentes voies de signalisation comme celles impliquant les récepteurs couplés aux protéines G, notamment les immunorécepteurs, mais aussi des voies aboutissant à la prolifération et la différenciation des cellules [9]. La PKCβ présente deux isoformes, produites par épissage alternatif, PKCβI et PKCβII. Les chercheurs ont donc utilisé la technique CRISPR_Cas9 pour inhiber spécifiquement l'expression de l'un ou l'autre de ces isoformes et ont pu ainsi identifier PKCβII comme étant un acteur majeur de cette voie de signalisation. Ainsi, les quantités de lipides peroxydés, analysés *via* une sonde BODIPY 581/591 reconnaissant la peroxydation lipidique [10], et le taux de mort cellulaire, sont réduits dans les cellules n'exprimant plus l'isoforme PKCβII, confirmant son rôle crucial dans la ferroptose. Par ailleurs, les auteurs montrent que des piègeurs de peroxydation lipidique (Fer-1 et liprostatine-1) inhibent l'activation de la PKCβII montrant ainsi que PKCβII pourrait être senseur de la peroxydation lipidique liée à la ferroptose.

Les auteurs de l'étude se sont également intéressés à l'identification des partenaires de PKCβII impliqués dans la signalisation de la ferroptose. Après induction de la ferroptose de cellules cancéreuses avec l'érastine ou RSL3 (un inhibiteur de la glutathione peroxidase 4, GPX4⁴), la protéine ACSL4 (Acyl-CoA synthetase long chain family member 4) est coprécipitée avec la PKCβII. ACSL4, dont le rôle dans la ferroptose était déjà connu, est une enzyme qui

2 : L'érastine est un inhibiteur du transporteur de cystéine SLC7A11, ce qui provoque notamment une baisse de l'activité de la glutathione peroxidase 4 (figure 1)

3 : Next-Generation Sequencing

4 : protéine réduisant le peroxyde d'hydrogène

catalyse l'incorporation des AGPI (acides gras polyinsaturés) dans les phospholipides. De plus, sa phosphorylation suite à son activation est nettement moins importante en présence des inhibiteurs de la PKC β II. La phosphorylation par PKC β II de la thréonine en position 328 de ACSL4 semble tout particulièrement importante puisque lorsqu'ACSL4 est mutée sur ce résidu, son activation puis sa dimérisation ne sont plus observées. En effet, alors que dans des conditions normales le traitement à base d'érastine induit une formation d'AGPI, des cellules produisant une ACSL4 mutée sur la thréonine 328 perdent cette propriété. Ces AGPI vont alors s'insérer dans la membrane plasmique et sont susceptibles d'être oxydés par les ERO produites *via* la réaction de Fenton. Cette étude met donc en évidence une boucle d'activation puisque ces nouveaux lipides peroxydés à la membrane vont de nouveau pouvoir être reconnus par la PKC β II et *in fine* produire de nouveaux lipides peroxydés conduisant à leur accumulation et donc à la ferroptose (**Figure 1**). En effet, l'inhibition de la PKC β II par des agents pharmacologiques tels que l'enzastaurine montre une diminution de la boucle d'activation et une baisse de la ferroptose. Il reste cependant une question à élucider : l'amplification est clairement démontrée mais le mécanisme moléculaire par lequel PKC β II est activé demeure inconnu et donc reste à éclaircir !

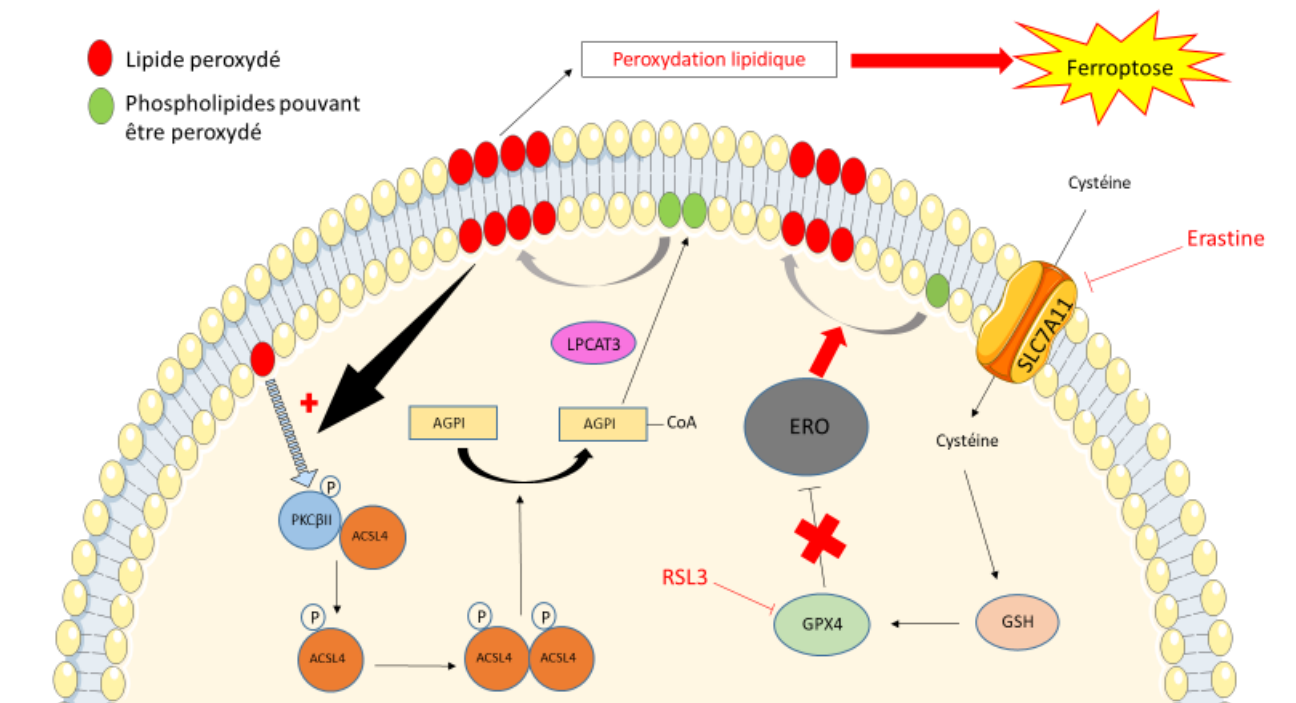


Figure 1. Boucle d'amplification de la ferroptose via l'axe PKC β II-ACSL4. Une phosphorylation de PKC β II *via* un mécanisme non connu (flèche pointillée) va phosphoryler et permettre la dimérisation de ACSL4 dont l'action est de synthétiser des AGPIs qui seront transportés à la membrane plasmique via une catalyse de la liaison médiée par la protéine LPCAT3. Ces AGPIs vont être oxydés par des espèces réactives de l'oxygène ERO et la production de lipides peroxydés va jouer deux rôles : l'amplification du signal (flèche noire) grâce aux nouveaux lipides peroxydés qui serviront de signal pour la phosphorylation de PKC β II et l'accumulation de lipides peroxydés aboutissant à la mort cellulaire par ferroptose. L'axe Cystéine-GSH-GPX4 est une voie permettant l'inhibition de la production d'ERO. L'éraстine agit notamment en inhibant SLC7A11 (un transporteur de cystéine) tandis que RSL3 est un inhibiteur de GPX4 respectivement, ce qui permet à ces composés d'induire la ferroptose *via* une accumulation d'ERO aboutissant à la production de lipides peroxydés.

Une découverte importante pour les traitements anticancéreux

Cette étude a aussi porté sur l'effet de l'axe PKC β II-ACSL4 dans un contexte physiopathologique. En effet, ACSL4 pourrait jouer des rôles comme suppresseur de tumeur ou comme oncogène en fonction du type de cancer et de l'environnement tissulaire [11]. Par ailleurs, le niveau de ferroptose joue un rôle dans la résistance aux immunothérapies [12]. Les tumeurs exprimant une forme sauvage d'ACSL4 phosphorylable en position 328, et dans lesquelles la peroxydation lipidique est plus élevée, sont plus sensibles à un traitement à base d'anticorps anti-point de contrôle du système immunitaire (anticorps anti-PD1) à la différence des tumeurs exprimant une forme mutée non phosphorylable de la protéine. De plus, des analyses de cytométrie en flux montrent l'existence dans les tumeurs traitées et possédant la forme sauvage d'ACSL4 d'un important infiltrat immunitaire composé de lymphocytes CD4+ et CD8+. En revanche, les tumeurs présentant une forme mutante d'ACSL4 ne présentent aucune variation du nombre de lymphocytes CD4+ et CD8+ infiltrés qu'elles soient traitées ou non, cette observation confirmant l'importance de la phosphorylation de la thréonine 328 d'ACSL4. L'axe PKC β II-ACSL4 joue donc un rôle important dans les traitements contre les cancers en induisant très probablement la ferroptose dans des cellules cancéreuses traitées avec des inhibiteurs de points de contrôle immunitaires tels que PD1. Cette découverte est encore à approfondir mais elle permettrait par un simple diagnostic du niveau d'ACSL4 dans la tumeur d'optimiser les stratégies d'immunothérapie impliquant ou non les anti-PD1, afin d'induire la mort cellulaire des cellules cancéreuses par ferroptose.

PKC β II : Protéine Kinase C β II ; ACSL4 : Acyl-CoA synthetase long chain family member 4 ; AGPIs : acides gras polyinsaturés ; LPCAT3 : Lysophosphatidylcholine Acyltransferase 3 ; ERO : espèces réactives de l'oxygène ; GSH : glutathione ; GPX4 : glutathione peroxidase 4 ; SLC7A11 : SLC7A11 solute carrier family 7 member 11.

Références :

1. Cabon L, Martinez-Torres A-C, Susin SA La mort cellulaire programmée ne manque pas de vocabulaire. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 1117-24
2. Tang D, Chen X, Kang R, *et al.* Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications. *Cell Res* 2021 ; 31 : 107–125.
3. Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. Ferroptosis: mechanisms, biology, and role in disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2021 ; 22 : 266–282.
4. Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, *et al.* Ferroptosis: An Iron-Dependent Form of Non-Apoptotic Cell Death. *Cell* 2012 ; 149 : 1060–1072.
5. Mahoney-Sánchez L, Bouchaoui H, Ayton S, *et al.* Ferroptosis and its potential role in the physiopathology of Parkinson's Disease. *Prog. Neurobiol* 2021, 196 : 101890
6. Birsén R, Grignano E, Chapuis N, *et al.* Ferroptose et cancer: Implications physiopathologiques et thérapeutiques. *Med Sci (Paris)* 2021 ; 37 : 726–734.
7. Zhang H-L, Hu B-X, Li Z-L, *et al.* PKC β II phosphorylates ACSL4 to amplify lipid peroxidation to induce ferroptosis. *Nat Cell Biol* 2022 ; 24 : 88–98.
8. Shalem O, Sanjana NE, Hartenian E, *et al.* Genome-Scale CRISPR-Cas9 Knockout Screening in Human Cells. *Science* 2014 ; 343 : 84–87.8.
9. Kawakami T, Kawakami Y, Kitaura J. Protein kinase C beta (PKC beta): normal functions and diseases. *J Biochem* 2002 ; 132 : 677–682.
10. Drummen GPC, Liebergen LCM van, Op den Kamp JAF, *et al.* C11-BODIPY(581/591), an oxidation-sensitive fluorescent lipid peroxidation probe: (micro)spectroscopic characterization and validation of methodology. *Free Radic Biol Med* 2002 ; 33 : 473–490.
11. Quan J, Bode AM, Luo X ACSL family: The regulatory mechanisms and therapeutic implications in cancer *Eur J Pharmacol* 2021 ; 909 : 174397.
12. Wang W, Green M, Choi JE, *et al.* CD8+ T cells regulate tumor ferroptosis during cancer immunotherapy. *Nature* 2019 ; 569 : 270–274.