



L'actine, principale protéine contractile du muscle squelettique, est ciblée et dégradée par le système protéolytique ubiquitine-protéasome dépendant, dans des cellules et chez l'Homme

Cécile Polge, Anne-Elisabeth Heng, A-E Heng, Marianne Jarzaguët, Sophie Ventadour, Agnès Claustre, Lydie Combaret, Daniel Béchet, Mariette I Matondo, Sandrine Uttenweiler-Joseph, et al.

► To cite this version:

Cécile Polge, Anne-Elisabeth Heng, A-E Heng, Marianne Jarzaguët, Sophie Ventadour, et al.. L'actine, principale protéine contractile du muscle squelettique, est ciblée et dégradée par le système protéolytique ubiquitine-protéasome dépendant, dans des cellules et chez l'Homme. Recherche en Nutrition en Auvergne, Contribution du CRNH et de ses équipes de Recherche, 2013. hal-03318523

HAL Id: hal-03318523

<https://hal.inrae.fr/hal-03318523>

Submitted on 10 Aug 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.

L'actine, principale protéine contractile du muscle squelettique, est ciblée et dégradée par le système protéolytique ubiquitine-protéasome dépendant, dans des cellules et chez l'Homme

C. Polge^{*,†}, A-E. Heng^{*,‡}, M. Jarzaquet^{*,‡}, S. Ventadour^{*,‡}, A. Claustre^{*,‡}, L. Combaret^{*,‡}, D. Béchet^{*,‡}, M. Matondo[§], S. Uttenweiler-Joseph[§], B. Monsarrat[§], D. Attaix^{*,‡} et D. Taillandier^{*,‡}

* Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Unité Mixte de Recherche 1019, Unité de Nutrition Humaine (UNH), Centre de Recherche en Nutrition Humaine (CNRH) Auvergne, Clermont-Ferrand ; † Clermont Université, Université d'Auvergne, UNH, BP 10448, Clermont-Ferrand ; ‡ Service de Néphrologie Réanimation Médicale, Pôle Respiratoire, Endocrinologie-Diabétologie, Urologie, Néphrologie-Dialyse, Nutrition Clinique, Infectiologie, Réanimation Médicale, Hygiène Hospitalière (REUNNIRH), Clermont-Ferrand ; § Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) et Université Paul Sabatier, Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale, Toulouse.

Mots-clés : atrophie musculaire, dégradation des protéines, système protéolytique ubiquitine-protéasome dépendant (UPS), protéine contractile, actine, MuRF1

Les travaux développés dans l'équipe Protéolyse de l'UNH portent sur l'étude des mécanismes de la dégradation des protéines musculaires pendant des phases de perte (atrophie) et de récupération musculaire au cours de situations physiologiques (vieillesse) ou faisant suite à un épisode catabolique (cancers, inactivité physique). Maîtriser la perte des protéines lors d'atrophies musculaires intenses (pathologiques ou physiologiques) est un des objectifs majeurs du laboratoire. En effet, une perte importante de protéines du muscle squelettique apparaît au cours de nombreuses situations physio-pathologiques comme l'inactivité (dénervation, apesanteur, immobilisation, ...), les maladies (cancer, myopathies, ...) ou encore l'âge, et induit un affaiblissement de l'organisme. Les diminutions conjointes du diamètre des fibres musculaires et de la production de force aboutissent à une perte dramatique de tonus musculaire. Outre une capacité de locomotion amoindrie, l'organisme entier est affaibli par l'atrophie musculaire aboutissant à la réduction de l'efficacité du système immunitaire et des traitements mis en place et augmentant ainsi les taux de morbidité et de mortalité. L'atrophie musculaire est donc un problème majeur de santé publique qu'il est primordial de limiter ou de ralentir, afin de maintenir le plus longtemps possible l'autonomie et un bon état de santé des patients.

L'homéostasie des protéines musculaires est le résultat de l'équilibre entre leur synthèse et leur dégradation. Bien que la synthèse protéique soit parfois affectée, l'augmentation de la dégradation (protéolyse) est une adaptation importante de la majorité des états cataboliques et souligne le rôle critique de la dégradation des protéines musculaires dans ces conditions. De plus, la dégradation des protéines est un processus complexe hautement régulé, jouant un rôle prépondérant dans de nombreuses fonctions cellulaires.

Comme tous les tissus et organes des mammifères, le muscle squelettique renferme de nombreuses enzymes dégradant les protéines (protéases), classiquement décrites comme appartenant à quatre systèmes principaux. Le système protéolytique ubiquitine-protéasome dépendant (UPS) est le système le plus conservé et complexe décrit à ce jour. Les études réalisées au sein de l'équipe Protéolyse ont permis d'établir la prépondérance de ce système dans la dégradation des protéines musculaires et notamment des principales protéines contractiles au cours de différentes situations d'atrophie musculaire. En effet, le système UPS s'est avéré majoritairement responsable de la perte de protéines musculaires dans tous les modèles animaux ou humains induisant une atrophie musculaire (cancers, apesanteur simulée, traitement par les glucocorticoïdes ou infections bactériennes). Les adaptations observées correspondent à une forte augmentation de certaines enzymes de l'UPS qui en compte plusieurs centaines (>1000). Cependant, quand nous avons commencé notre étude, aucune preuve directe de la dégradation des protéines contractiles n'existait et le rôle de l'UPS reposait uniquement sur des observations indirectes. Or, pour lutter contre l'atrophie musculaire, il est indispensable de connaître le ou les acteurs intervenants. Nous avons donc

décidé de déterminer si l'UPS ciblait les protéines contractiles et était capable de les dégrader et quelles enzymes de l'UPS étaient impliquées.

La principale protéine contractile présente dans le muscle squelettique est l'actine. Cette protéine joue un rôle primordial dans la contraction musculaire et sa présence doit être fortement contrôlée par la cellule. L'étude de cette protéine est cependant très difficile car son abondance est paradoxalement un frein à l'obtention d'informations. En effet, cette protéine est identique chez tous les mammifères et les outils moléculaires et biochimiques qui sont ordinairement produits à partir de lignées de lapin ou rongeurs (rat et souris) sont peu efficaces, en particulier les anticorps dirigés contre cette protéine. Nous avons donc construit une protéine chimérique d'actine portant une séquence additionnelle appelée « Flag », et nous l'avons introduite dans des cellules musculaires de souris en culture. Ce Flag est très bien étudié et de nombreux outils moléculaires et biochimiques sont commercialisés, ce qui permet de suivre n'importe quelle protéine portant ce Flag. Nous avons dans un premier temps créé une nouvelle souche de cellules musculaires exprimant la Flag-actine mais possédant les mêmes caractéristiques que la souche mère. Nous avons ensuite étudié le comportement de la Flag-actine dans ces cellules suite à un traitement catabolique (glucocorticoïdes) reproduisant les effets d'une atrophie musculaire. L'utilisation d'inhibiteurs chimiques des principaux systèmes protéolytiques nous a permis de démontrer sans ambiguïté un rôle prépondérant de l'UPS dans la dégradation de l'actine. L'utilisation d'outils biochimiques de pointe, mis aux point au laboratoire, ont permis de confirmer que l'actine est effectivement dégradée par l'UPS dans des cellules en culture soumis à un traitement catabolique. Comme ces premiers travaux étaient effectués sur cellules de souris en culture, nous avons ensuite voulu savoir si l'actine présente dans des muscles humains était, elle aussi, ciblée par l'UPS pour sa dégradation. En collaboration avec le service de néphrologie du CHU de Clermont-Fd, nous avons pu confirmer sur des biopsies humaines les travaux effectués sur les cellules de souris, c'est-à-dire que le système UPS était capable de cibler l'actine et de la dégrader.

Le système UPS comprend de nombreuses enzymes, chacune ciblant spécifiquement un nombre limité de protéines à dégrader. Découvrir l'enzyme (ou les enzymes) qui permet la dégradation de l'actine est donc primordial pour comprendre les mécanismes de l'atrophie musculaire. Nous avons utilisé la souche de cellules de souris que nous avons mise au point et avons mesuré l'expression de certains gènes de l'UPS, connus pour leur implication potentielle au cours de l'atrophie musculaire. En utilisant différentes techniques de biologie moléculaire, nous avons tout d'abord restreint le nombre d'enzymes de l'UPS potentiellement impliquées, puis nous avons réduit l'expression du gène le plus prometteur, appelé MuRF1. Nous avons observé que lorsque MuRF1 n'était plus présent dans les cellules, l'actine était résistante à l'atrophie induite par des glucocorticoïdes. De plus, nous avons démontré que MuRF1 était capable de s'accrocher à l'actine et de la modifier afin qu'elle soit dégradée.

Lorsque MuRF1 est absent (pistes 5 et 6) dans des cellules musculaires de souris, l'actine est résistante à l'atrophie induite par des glucocorticoïdes. Pistes 1 et 2 : conditions standards ; pistes 3 à 6 induction de l'atrophie par des glucocorticoïdes ; pistes 5 et 6 : extinction de MuRF1.

Traitement des cellules musculaires :	1	2	3	4	5	6
Glucocorticoïdes	-	-	+	+	+	+
Extinction de MuRF1	-	-	-	-	+	+
Niveau dans la cellule de :						
MuRF1						
Actine						

La complémentarité de nos approches (Biochimie, Biologie Moléculaire) et des modèles utilisés (culture de cellules, biopsies humaines) nous a permis d'identifier une partie des mécanismes de dégradation de la principale protéine contractile du muscle squelettique, l'actine. De plus, nos travaux ont invalidé une hypothèse émise par plusieurs laboratoires américains (Harvard) qui pensaient que l'actine était dégradée indépendamment des autres protéines contractiles. Cependant, d'autres enzymes du système UPS sont indispensables au fonctionnement de MuRF1 et nos résultats doivent être complétés afin de déterminer l'ensemble des acteurs intervenant, afin d'établir une stratégie thérapeutique permettant de limiter l'atrophie musculaire au cours d'une situation pathologique.