



Université de Namur,
Faculté des sciences – Département de Biologie
Unité de Recherche en Biologie Cellulaire

Etude du rôle de l'autophagie et de la réponse UPR dans la résistance des cellules cancéreuses contre l'apoptose induite par le paclitaxel

Dissertation présentée par Annick Notte, en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences

Composition du jury :

Professeur C. Michiels (promoteur)

Unité de Recherche en Biologie Cellulaire (URBC)
NARILIS, UNamur, Namur

Docteur J. Verrax

Louvain Drug Research Institute (LDRI)
UCL, Woluwé-Saint-Lambert

Docteur N. Mazure

Institute for Research on Cancer and Ageing of Nice (IRCAN)
Université de Nice-Sophia-Antipolis

Professeur T. Arnould (co-promoteur)

Unité de Recherche en Biologie Cellulaire (URBC)
NARILIS, UNamur, Namur

Docteur J-P. Gillet

Unité de Recherche en Physiologie Moléculaire (URPhyM)
NARILIS, UNamur, Namur

Professeur M. Raes (présidente du jury)

Unité de Recherche en Biologie Cellulaire (URBC)
NARILIS, UNamur, Namur

Le 2 décembre 2013

Remerciements

Voici le moment de remercier toutes les personnes qui m'ont aidée durant mes quatre années de thèse. Ces quelques lignes sont les plus agréables à écrire ☺ et il y a énormément de personnes grâce à qui j'ai pu terminer cette thèse et que je tiens à remercier.

Tout d'abord, je souhaite remercier le FNRS, l'Université de Namur et l'URBC pour leur soutien financier.

Je remercie mon jury de thèse pour le temps consacré à la lecture de mon manuscrit, pour les commentaires constructifs et la discussion que nous avons eue lors de la pré-défense. Toutes vos remarques m'ont permis d'améliorer la qualité de mon manuscrit. Merci à Nathalie Mazure qui s'est déplacée à deux reprises vers le NORD ! pour venir assister à ma thèse.

Je tiens tout particulièrement à remercier le Professeur Carine Michiels qui m'a soutenue, conseillée et encouragée durant ces quatre années de thèse. Merci pour votre disponibilité, pour le temps que vous avez consacré à l'ensemble de mon travail et pour votre soutien dans les moments difficiles.

Merci à mon co-promoteur, le Professeur Thierry Arnould pour son expertise scientifique très pointue et pour ses conseils.

Je tiens également à remercier tous les « seniors » de l'URBC qui veillent au bon fonctionnement du laboratoire et au maintien d'une ambiance agréable entre les membres de l'URBC. Merci particulièrement à Martine Raes et Thierry Arnould qui ont dirigé l'URBC durant ma thèse.

Merci à Christophe Pierreux qui m'a accueillie dans son laboratoire, à l'institut de Duve de l'UCL et qui m'a aidée à faire des constructions de plasmides.

Merci aussi à mon mémorant Thomas Quenon pour son travail sur la mitophagie.

Je remercie toute l'équipe technique et administrative de l'URBC qui joue un rôle très important dans le bon fonctionnement de l'URBC. Merci à Anne pour son expertise administrative, à Antoine pour la bonne organisation du labo et pour ses citations mordantes ☺, à Martine pour ses conseils en bio cell, à Noëlle et Catherine pour les heures passées au confocale, à Guy et Guillaume pour leur aide précieuse et pour les discussions à la laverie, à Edouard pour ses super bons conseils en protéomique, à Maude pour son aide dans les manips et enfin merci à Marc, le Dieu de l'informatique et de la spectro de masse qui oublie de payer ses tournées à la beer hour ☺.

Je remercie aussi tous les membres de l'URBC pour la super ambiance qui règne au labo. J'ai vraiment passé quatre années inoubliables avec de super bons moments grâce à vous. Je remercie particulièrement tous les membres (passés et présents) de l'équipe HIF pour les réunions gâteaux, leur aide pour les dernières manips et pour votre bonne humeur et les bons moments passés ensemble qui ont contribué au bon déroulement de cette thèse. Merci également aux personnes qui ont partagé le même bureau que le mien car il y régnait toujours

une bonne ambiance: Neil, Virgine, Manu, Sylvia, Marie et surtout Sébastien que j'ai du supporter du début à la fin ☺.

Un GRAND MERCI à tous mes amis. Merci pour tous les bons moments passés ensemble et qui resteront gravés dans ma mémoire: les soirées jeux, les soirées foot, les soirées déguisées, la « beer hour », les verres au Bouffon et les restos, les vacances en France, les barbecues, les tartiflettes et autres soirées « bonne bouffe », les discussions dans les bureaux (avec des rires et des pleurs), les petites attentions pour les anniversaires, tous les gâteaux partagés au labo, le peket couille de singe, les fêtes de Wallonie, les cours de boulangerie, les sorties à Bruxelles, la solidarité entre blondes, les crêpes à la maison des desserts et j'en passe... Je ne vous remercierai jamais assez pour votre soutien, votre aide et pour tous ces bons moments passés ensemble.

Enfin, je remercie toute ma famille qui m'a soutenue et encouragée durant ces quatre années de thèse. Merci à mes parents pour leur aide, à mes frères et ma sœur qui m'ont rendue plus forte. Merci particulièrement à maman et à ma sœur Mélanie car vous m'avez énormément aidée et soutenue tout au long de ma thèse. Il n'existe aucun mot assez fort pour vous remercier !

Je n'oublie pas non plus mon petit chat Moka qui m'a tenu compagnie dans les moments de solitude ☺.

MERCI A TOUS !

TABLE DES MATIÈRES

RESUME	I
ABSTRACT	III
ABRÉVIATIONS	V
AVANT-PROPOS	X
I INTRODUCTION.....	1
I.1 L'apoptose.....	1
I.1.1 Relevance physiologique de l'apoptose.....	1
I.1.2 Caractéristiques morphologiques d'une cellule en apoptose.....	2
I.1.3 Les mécanismes de l'apoptose	3
I.1.3.a Activation de l'apoptose par la voie extrinsèque	3
I.1.3.a.i La voie Fas	4
I.1.3.a.ii La voie du TNF	4
I.1.3.a.iii La voie TRAIL.....	5
I.1.3.b Activation de l'apoptose par la voie intrinsèque	5
I.1.3.b.i Les protéines de la famille Bcl ₂	5
Les protéines anti-apoptotiques	6
Les protéines pro-apoptotiques	6
Régulation de l'apoptose : interactions protéine-protéine	7
L'apoptose induite par des dommages aux microtubules	8
L'apoptose induite par des dommages à l'ADN	9
L'apoptose induite suite à une absence de signaux de survie	9
L'apoptose induite par un stress hypoxique	10
I.1.3.b.ii Interaction entre les voies extrinsèques et intrinsèques	11
I.1.3.b.iii La perméabilisation mitochondriale.....	11
Les différents types de perméabilisation.....	11
L'apoptosome	12
I.1.3.c Les caspases	13
I.1.3.c.i Classification	13
I.1.3.c.ii Mécanismes d'activation des caspases.....	14
I.1.3.c.iii Substrats des caspases	15
I.1.3.c.iv Inhibition des caspases par les IAPs.....	15
I.1.3.d Libération d'autres acteurs mitochondriaux	16
I.1.3.e Les calpaïnes.....	17
I.1.4 Rôle de l'apoptose dans la tumorigenèse.....	18
I.1.5 L'apoptose induite par le taxol et les mécanismes de résistance	18
I.1.5.a Le taxol	18
I.1.5.b Structure des microtubules	19
I.1.5.c L'apoptose induite par des dommages aux microtubules	20
I.1.5.d Mécanismes de résistance à l'apoptose induite par le taxol	21
I.2 L'hypoxie	24
I.2.1 Réponse systémique à l'hypoxie.....	24
I.2.2 Réponse cellulaire à l'hypoxie	25
I.2.3 Le facteur de transcription HIF-1	25
I.2.3.a Structure de HIF-1 α	26
I.2.3.b Structure de ARNT	26
I.2.3.c Régulation de l'activité transcriptionnelle de HIF-1 par l'oxygène	26

Table des matières

I.2.3.d	Dégradation de HIF-1 α indépendante de pVHL	28
I.2.3.e	Rôle de la mitochondrie et des ROS	29
I.2.3.f	Facteurs de croissance et voies des PI3K et MAPK	29
I.2.3.g	Acétylations et désacétylations de HIF-1 α	30
I.2.3.h	Interactions protéine-protéine	31
I.2.4	Adaptation cellulaire à l'hypoxie	32
I.2.4.a	Erythropoïèse	32
I.2.4.b	Néoangiogenèse et flux sanguin	32
I.2.4.c	Glucose et métabolisme énergétique	33
I.2.5	Cancer et hypoxie	33
I.2.5.a	Adaptations métaboliques et régulation du pH	34
I.2.5.b	Néoangiogenèse	35
I.2.5.c	Métastases	36
I.2.6	L'hypoxie et l'apoptose	36
I.2.6.a	Influence directe du microenvironnement tumoral	37
I.2.6.b	HIF-1 anti-apoptotique	38
I.2.6.c	HIF-1 pro-apoptotique	38
I.2.7	Implication d'autres facteurs de transcription	39
I.2.7.a	NF κ B	39
I.2.7.b	AP-1	39
I.2.7.c	ATF4	40
I.3	L'autophagie	41
I.3.1	Rôles physiologiques de l'autophagie	42
I.3.2	Formation des autophagosomes	43
I.3.3	Régulation de l'autophagie: le complexe mTOR	46
I.3.4	Liens entre l'autophagie et l'apoptose	47
I.3.4.a	Interaction entre Beclin-1 et Bcl ₂ /xl	48
I.3.4.b	Clivage d'Atg5 et de Beclin-1	49
I.3.5	Rôle dans les cancers, la chimiothérapie et l'hypoxie	49
I.4	L'UPR (Unfolded Protein Response)	59
I.4.1	Mécanismes moléculaires	59
I.4.1.a	Activation des trois senseurs du stress au RE	60
I.4.1.b	PERK	61
I.4.1.c	IRE1 α	62
I.4.1.d	ATF6	63
I.4.2	Liens avec l'autophagie	63
I.4.2.a	Régulation de l'autophagie par les voies PERK, IRE1 α et ATF6	64
I.4.3	Liens avec l'apoptose	66
I.4.3.a	Régulation de l'apoptose par les protéines de la famille Bcl ₂	66
I.4.3.b	Activation des caspases initiateurs au sein du RE	67
I.4.4	Régulation de l'apoptose et de l'autophagie via le calcium	68
I.4.5	Rôle de l'UPR dans les cancers, la chimiothérapie, l'hypoxie	71
I.4.5.a	GRP78	71
I.4.5.b	UPR, hypoxie et angiogenèse	72
I.4.5.c	Rôle de l'UPR dans la chimiothérapie	72
II	OBJECTIFS	75
III	RÉSULTATS	77
III.1	Article 1: Etude de l'effet de l'hypoxie sur l'apoptose induite par le taxol et du rôle de l'autophagie dans la résistance induite par l'hypoxie	77
III.1.1	Objectifs	77
III.1.2	Supplementary data	92
III.1.3	Conclusion	106
III.2	Article 2: Etude du rôle de l'UPR dans la résistance induite par l'hypoxie contre l'apoptose induite par le taxol	108

Table des matières

III.2.1	Objectifs.....	108
III.2.2	Conclusion	128
IV	DISCUSSION ET PERSPECTIVES.....	130
RÉFÉRENCES		139

