

ANNEXE III MÉCANISME DE L'APOTOSE

L'apoptose a fait l'objet d'études approfondies chez *C. elegans*, la drosophile et les mammifères (homme et souris). Ces travaux ont permis de définir trois phases dans le déroulement du processus : une phase de décision, une phase d'exécution et une phase d'élimination des débris cellulaires.

La phase de décision peut dépendre de facteurs externes, sous la forme de signaux de survie ou de mort émis par certaines cellules de l'organisme. Elle peut aussi dépendre de facteurs internes, qui activent souvent, mais pas toujours, la protéine P53**. Nous ne nous intéresserons ici qu'aux phases de décision et d'exécution provoquées par des causes internes, parce que leur mécanisme présente certains points communs avec celui de la sénescence répllicative, tout au moins chez les mammifères.

III.A. CAENORHABDITIS

Chez cet animal, l'apoptose est un phénomène relativement simple et facile à étudier, parce que l'adulte comporte un nombre fixe de cellules (959 chez les hermaphrodites, les individus de loin les plus nombreux dans les populations naturelles). Sur un total de 1090 cellules produites pendant le développement embryonnaire et la croissance de la larve, 131 disparaissent à des moments et des endroits précis. Chaque cellule qui se suicide le fait de manière autonome, sans être incitée à le faire par des signaux émanant d'autres régions du corps. Par ailleurs, la protéine P53, appelée **Cep1⁺** chez *C. elegans*, ne déclenche l'apoptose que dans les cellules germinales et ne le fait que si l'organisme est soumis à un stress génotoxique*.

III.A.1. Exécution de l'apoptose

De nombreuses mutations peuvent perturber l'exécution de l'apoptose et laisser subsister chez l'adulte trop ou trop peu de cellules somatiques. Un excédent de cellules modifie de manière à peine perceptible la taille et la mobilité des animaux. Un déficit entraîne la mort de l'embryon. Les mutations répertoriées affectent quatre gènes qui sont actifs dans toutes les cellules qui se suicident : **egl1⁺**, **ced3⁺**, **ced4** et **ced9**. Les produits des gènes *egl1*, *ced3* et *ced4* sont des promoteurs d'apoptose, tandis que celui de *ced9* est un inhibiteur.

L'obtention de doubles mutants a permis de définir une chaîne d'interaction linéaire entre les produits des gènes concernés, deux d'entre eux (EGL1 et CED9) inhibant, et un troisième (CED4) activant un autre maillon :



On sait que la protéine CED9 est associée aux mitochondries. Elle retient CED4 et l'empêche d'activer CED3, qui est une protéase potentielle. Quand elle est présente, la protéine EGL1 séquestre CED9, ce qui libère CED4 et CED3 et leur permet de former des complexes fonctionnant comme l'apoptosome* des mammifères (*section C.6*). Au sein de ces complexes, plusieurs molécules de CED3 entrent en

contact et se convertissent par un effet de proximité en protéases fonctionnelles, aptes à déclencher la destruction de la cellule :



Des travaux ultérieurs ont montré que les mitochondries sont plus intimement impliquées qu'on ne le pensait jusqu'alors dans le processus apoptotique. La protéine EGL1 peut non seulement séquestrer CED9, mais aussi activer le facteur **DRP1**, qui le pouvoir de provoquer la fragmentation des mitochondries. Celles-ci libéreraient un ou plusieurs facteurs capables d'activer CED4 :



Le facteur EGL1 contribue donc de deux manières à l'exécution de l'apoptose. D'une part, il active CED3 et d'autre part, il provoque la libération d'au moins une protéine pro-apoptotique par les mitochondries.

L'un des facteurs pro-apoptotiques émanant des mitochondries a été identifié. Il s'agit de **WAH1⁺**, ainsi nommé parce qu'il est un orthologue de l'**AIF⁺**, découvert initialement chez la souris. La protéine WAH1 pénètre dans le noyau, où elle participerait à la condensation de la chromatine* et à la fragmentation de l'ADN. Dans le cytoplasme, elle contribuerait à modifier la structure de la membrane plasmique, ce qui faciliterait l'englobement des débris cellulaires par les cellules voisines.

III.A.2.Homologies

CED9, CED4 et CED3 sont les prototypes de trois familles de protéines qui fonctionnent en tant qu'inhibiteurs ou déclencheurs de l'apoptose chez la drosophile et les mammifères. CED9 appartient à la famille de **BCL2^{**}**, CED4 à la famille **Apaf⁺** et CED3 à celle des **caspases^{**}**. La protéine DRP1 a une orthologue chez la drosophile et les mammifères.

Les caspases se rangent en deux sous-familles, celle des caspases activatrices (aussi appelées apicales) et celle des caspases exécutrices. Les premières transforment les secondes en protéases fonctionnelles en les coupant en trois parties, dont l'une est éliminée, tandis que les deux autres forment des tétramères dotés de deux sites catalytiques. Les caspases exécutrices peuvent détruire de nombreuses protéines dans le cytoplasme et le noyau. Notons encore que l'interaction entre CED4 et CED3 préfigure celle qui a lieu chez la drosophile et les mammifères entre les facteurs Apaf et les précurseurs des caspases activatrices, appelés procaspases.

III.B. DROSOPHILE

Beaucoup de cellules disparaissent pendant le développement et la métamorphose de cet animal. Les mécanismes de base mis en œuvre par *C. elegans* opèrent également chez la drosophile, mais ils sont plus complexes. Par exemple, il existe sept caspases chez la drosophile, au lieu d'une seule (CED3) chez *C. elegans*. L'apoptose fait appel plus largement à la protéine P53, ainsi qu'aux mitochondries.

III.B.1.Activation de la protéine P53

La phase de décision endogène passe par la protéine P53 (appelée DMP53 chez la drosophile). Cette protéine est activée par divers facteurs qui perturbent le fonctionnement de la cellule. Les rayons X sont particulièrement efficaces, du fait qu'ils provoquent des cassures dans l'ADN :

Rayons X → Cassures dans l'ADN → DMP53 (mécan. III.4)

Devenue active, la protéine P53 déclenche la phase d'exécution. Elle stimule l'activité du gène *reaper* (la faucheuse, l'un des noms de la mort en anglais), donc la synthèse de la protéine correspondante. La protéine Reaper a comme cible le facteur Diap1⁺. Elle agit de deux manières. En premier lieu, elle ralentit la production de Diap1 en inhibant le système de synthèse protéique. En second lieu, elle entraîne la dégradation de Diap1, en la contraignant à fonctionner comme ubiquitine ligase et à fixer sur elle-même un signal de destruction par un complexe enzymatique de très grande taille, appelé protéasome (annexe X.B) :

DMP53 → Reaper → ~~Diap1~~ → Apoptose (mécan. III.5)

La protéine Diap1 a d'autres ennemis que Reaper, qui déclenchent l'apoptose en agissant sur elle de différentes manières. Citons les produits des gènes *hid* et *grim*, qui sont homologues* de *reaper*, ainsi que *hippo* et *salvador*. Les protéines Hippo et Salvador limitent également la prolifération des cellules.

III.B.2.Exécution de l'apoptose

Tant qu'elle est présente, la protéine Diap1 maintient hors d'état de fonctionner deux caspases en se liant à elles et en déclenchant leur dégradation par le protéasome* : une caspase activatrice, appelée Dronc⁺, et une caspase exécutive, appelée Drice⁺.

La caspase Dronc est activée par le facteur Dapaf1⁺ (aussi appelée Dark), comme cela se produit chez *C. elegans*, où CED3 est activé par CED4. L'activation se ferait dans un complexe dont le fonctionnement ressemble à celui de l'apoptosome* des mammifères. La caspase Dronc transforme à son tour la procaspase Drice en protéase fonctionnelle, qui déclenche l'apoptose en détruisant diverses protéines. Mais elle ne peut agir que si le facteur Diap1 est absent, car celui-ci inhibe les caspases Dronc et Drice, en déclenchant la dégradation de la première par le protéasome, et en empêchant la seconde de fonctionner :

Reaper
|
* ~~Diap1~~ *
Dapaf1 → Dronc → Drice → Apoptose (mécan. III.6)

La protéine Diap1 a donc une double fonction en tant qu'ubiquitine ligase, car elle peut déclencher non seulement sa propre destruction (*mécan. III.5*), mais aussi celle de la caspase Dronc.

La voie Dapaf1 → Dronc → Drice est essentielle, car les larves *dronc*^{-/-} meurent avant de se métamorphoser, en présentant une hypertrophie de certains tissus. Son inhibition par la protéine Diap1 est tout aussi importante, car elle constitue l'ultime rempart que les cellules peuvent opposer à l'exécution de l'apoptose.

III.B.3. Rôle des mitochondries

Le rôle des mitochondries dans l'activation du facteur Dapaf1 a été longtemps controversé. La drosophile possède deux orthologues du facteur antiapoptotique BCL2**, dont le mieux connu est DEBCL⁺. Comme BCL2, le facteur DEBCL s'associe à la membrane mitochondriale. Mais au lieu d'inhiber l'apoptose, il la favorise. En somme, DEBCL remplirait une fonction similaire à celle que remplit Bax** chez les mammifères (*section C.2*).

D'autres observations confirment l'importance des mitochondries dans l'exécution de l'apoptose. Les facteurs Reaper, Hid et Grim sont associés à ces organites. Dans les cellules où Reaper est actif, la protéine **DRP1⁺** (*section A.1*) provoque la fragmentation des mitochondries, ce qui aurait pour conséquence d'activer le facteur Dapaf1 :

Reaper → **DRP1** → **Mitochondries** → Dapaf1 → **Apoptose** (*mécan. III.7*)

La protéine Reaper active donc les procaspases Dronc et Drice de deux manières : soit en réduisant la concentration intracellulaire de la protéine Diap1 (*sections III.B.1 et III.B.2*), soit en activant le facteur DRP1.

Par analogie avec ce qui se passe chez les mammifères, on a pensé que dans les cellules se préparant au suicide, les mitochondries relarguent le cytochrome c*, qui déclencherait l'apoptose. Cette proposition a été en partie vérifiée : dans les cellules exprimant le gène *reaper* ou *hid*, les mitochondries laissent fuir le cytochrome c. Toutefois, celui-ci ne serait pas un déclencheur d'apoptose, car les cellules qui ne possèdent pas de gène fonctionnel du cytochrome c peuvent quand même se suicider en activant la caspase Dronc.

III.B.4. Protection contre l'apoptose

Pour échapper au suicide, les cellules de drosophile doivent impérativement maintenir la concentration du facteur antiapoptotique Diap1 à un niveau suffisant, pour qu'il puisse empêcher d'agir les promoteurs d'apoptose que sont les caspases Drice et Dronc. Le facteur Diap1 représente malgré tout un danger permanent, parce qu'il est capable de déclencher sa propre destruction (*mécan. III.5*), ainsi que celle de la caspase Dronc (*mécan. III.6*).

III.C. MAMMIFÈRES

Chez l'homme et la souris, les mécanismes qui déclenchent l'apoptose font le plus souvent intervenir les mitochondries, qui libèrent le cytochrome c. Parmi les facteurs déclenchants, il faut en premier lieu citer la protéine P53. Il convient aussi de mentionner les dérivés nocifs de l'oxygène qui se forment dans les mitochondries. L'apoptose peut encore être déclenchée par la protéine Parp1**, en réponse à un stress génotoxique provoqué par des cassures db dans l'ADN (*annexe VIII.B*).

L'exécution de l'apoptose atteint chez les mammifères un niveau de complexité inconnu dans les autres groupes zoologiques. Par exemple, la famille BCL2** comporte plusieurs éléments antiapoptotiques, comme la protéine BCL2 elle-même, BCLW et BCLX_L, ainsi que plusieurs éléments pro-apoptotiques, comme Puma⁺, Bax**, Bad, Bak, Bid, Bim, Bok et Noxa⁺. Il existe au moins huit protéines IAP, dont la plus connue est Xiap⁺ et une quinzaine de caspases différentes, appartenant aux deux sous-familles mentionnées plus haut. Les mitochondries peuvent relarguer, outre le cytochrome c, trois autres promoteurs d'apoptose : les protéines : Diablo⁺ (aussi appelée Smac), HTRA2⁺ (une protéase aussi appelée Omi) et AIF. Apparemment, cette dernière protéine n'intervient pas seulement dans l'apoptose. Sa fonction principale est de maintenir en bon état la chaîne respiratoire. Il y a donc deux protéines qui sont impliquées à la fois dans l'apoptose et dans la respiration* : le cytochrome c et la protéine AIF.

III.C.1. Activation de la protéine P53

Divers facteurs d'origine endogène activent la protéine P53 (*annexe XIV.A*). Suivant la gravité des lésions et l'état des cellules, la protéine P53 les empêche de se diviser ou déclenche l'apoptose :



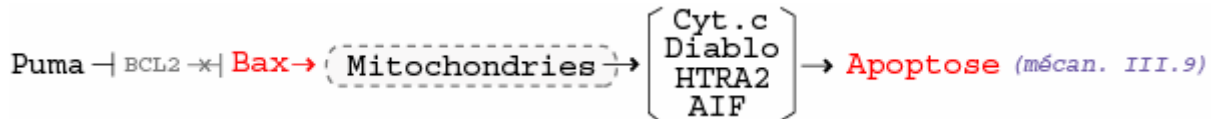
Les cassures dans l'ADN ont plutôt un effet cyostatique, tandis que les dommages produits par les dérivés nocifs de l'oxygène ont plutôt un effet pro-apoptotique. On ne sait pas très bien quels facteurs orientent l'action de la protéine P53 vers l'une ou l'autre voie. Suivant une hypothèse plausible, P53 arrêterait les mitoses quand elle est présente en petite quantité, mais déclencherait l'apoptose quand elle est plus abondante ou plus active. Les modifications qu'elle subit après sa synthèse jouent certainement un rôle dans la nature de l'influence qu'elle exerce (*annexe XVI.G*).

III.C.2. Mode d'action de la protéine P53

La protéine P53 déclenche l'exécution de l'apoptose de plusieurs manières. Elle stimule notamment l'expression de plusieurs gènes à fonction pro-apoptotique, tels que bax**, puma et noxa. Le mécanisme d'action de la protéine P53 est décrit plus en détail ailleurs (*annexe XVI.K et L*).

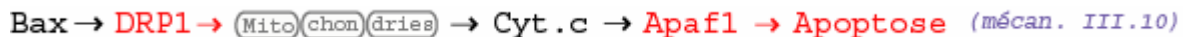
III.C.3. Rôle des mitochondries

La protéine Bax** forme des oligomères qui se fixent aux mitochondries et font apparaître des pores d'environ 5 nm dans leur membrane externe. On pense que la protéine BCL2**, est capable d'entraver la polymérisation de Bax, mais son action est contrecarrée par le facteur pro-apoptotique Puma. Les pores laissent se répandre dans le cytosol plusieurs protéines localisées normalement dans l'espace intermembranaire : le cytochrome c, les facteurs Diablo, HTRA2 et AIF :



Ce phénomène ne s'accompagne pas nécessairement d'une perte du potentiel ($\Delta\psi$) que maintient la chaîne de transport des électrons de part et d'autre de la membrane interne, parce cette membrane n'est pas rendue perméable (*annexe XXI.D*).

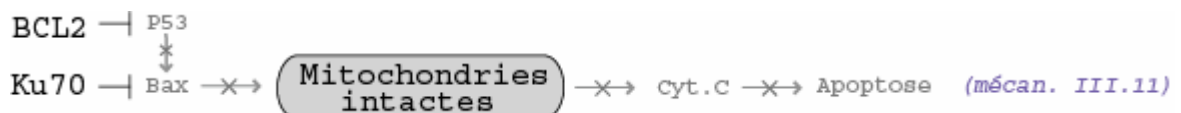
La perméabilisation de la membrane mitochondriale externe par le facteur Bax pourrait dépendre, au moins en partie, de la protéine DRP1 (*section A1*), qui agit également sur les mitochondries chez *C. elegans* et la drosophile (*sections III.A.1 et III.B.3*). Cette protéine provoque la fragmentation des mitochondries, ce qui pourrait faciliter la libération des facteurs pro-apoptotiques évoqués ci-dessus, dont le cytochrome c, qui active le facteur Apaf1, comme nous le verrons plus loin (*section C.5*) :



La protéine Bax favoriserait l'action de la protéine DRP1 en promouvant sa sumoylation (*annexe X.D et G*). Mais l'action de DRP1 est contrecarrée par la mitofusine (MFN). Comme son nom l'indique, cette protéine entraîne la fusion entre les mitochondries, et en particulier entre leur membrane externe. En fait, les protéines DRP1 et MFN contribuent à maintenir la forme des mitochondries dans les cellules saines, par un jeu continu de fragmentations et de fusions.

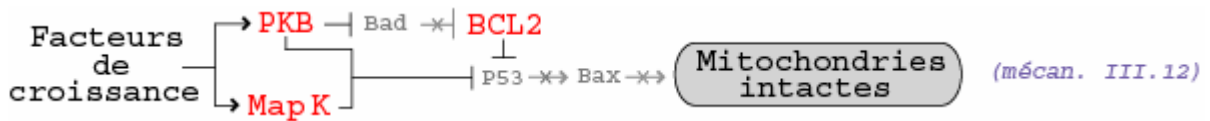
III.C.4. Inhibition de l'apoptose

L'action de la protéine Bax** est contrecarrée, non seulement par la protéine BCL2** (*mécan. III.9*), mais aussi par le facteur Ku70**, connu surtout pour son rôle dans la réparation de l'ADN (*annexe VII.A*). En association avec la protéine 14-3-3**, le facteur Ku retient Bax dans le cytosol et l'empêche de s'associer aux mitochondries, ce qui aurait pour effet de les rendre perméables et de laisser fuir divers facteurs pro-apoptotiques, et en particulier le cytochrome c :



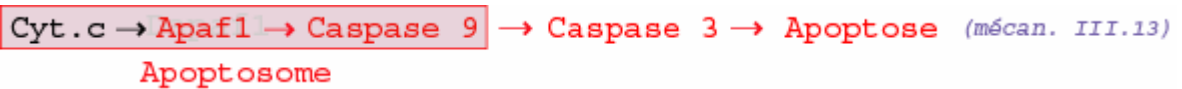
La protéine BCL2 doit être maintenue en activité pour bloquer le déclenchement de l'apoptose. C'est ce que font les facteurs de croissance, en ouvrant les voies de transduction PKB/Akt et JNK** (*annexe XXII.B*). La kinase PKB phosphoryle le facteur pro-apoptotique Bad, qui est un inhibiteur de

BCL2, et l'empêche de remplir sa fonction. Les kinases des deux voies réduisent indirectement la concentration intracellulaire de la protéine P53, qui ne peut plus activer le facteur Bax :

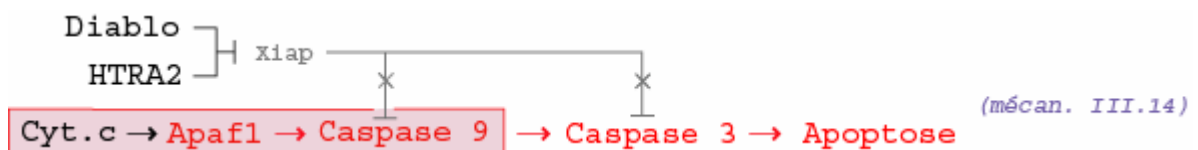


III.C.5. Action des protéines libérées par les mitochondries

Le cytochrome c sème la mort dans le cytosol. Il le fait en déclenchant l'assemblage de l'apoptosome*. Ce complexe contient, outre le cytochrome c, le facteur Apaf1 et la procaspase activatrice n°9. Au sein de l'apoptosome, le cytochrome c active le facteur Apaf 1, qui active la caspase n°9, qui active à son tour la caspase exécutive n°3 :



Les autres protéines libérées par les mitochondries (Diablo, HTRA2 et AIF) contribuent de deux manières différentes à l'exécution de l'apoptose. Les protéines Diablo et HTRA2 ont comme cible la protéine Xiap, qu'elles inactivent en se liant à elle ou en la détruisant. Comme celle de la drosophile (Diap1), la protéine Xiap inhibe deux caspases : la caspase activatrice n°9 et la caspase exécutive n°3. Mais elle ne peut pas le faire en présence des protéines Diablo et HTRA2 :



Quant au facteur AIF, il participerait à la condensation de la chromatine et à la destruction de l'ADN. Elle possède un signal de localisation nucléaire, un domaine de liaison à l'ADN, un domaine de liaison au NAD et un autre au FAD. La présence de ces deux derniers domaines donne à penser que l'AIF intervient dans le transfert des électrons au sein de la chaîne respiratoire.

III.C.6. Fonctionnement de l'apoptosome

L'apoptosome a fait l'objet de nombreuses études. C'est en fait un gigantesque enzyme dont la fonction consiste à transformer une procaspase inactive en caspase fonctionnelle. Sa forme évoque celle d'une roue à sept rayons. Il contient sept molécules de cytochrome c, sept molécules du facteur Apaf1, associées à autant de molécules de dATP, et sept molécules de caspase 9.

Le facteur Apaf1 joue un rôle crucial dans la formation de l'apoptosome. C'est une grosse protéine comportant plus de 1000 acides aminés. Une de ses extrémités contient un domaine Card*, capable de s'associer avec le domaine correspondant d'autres molécules d'Apaf1, ainsi qu'avec celui de la caspase 9. La partie médiane de la molécule est homologue* du facteur CED4 de *C. elegans*. Elle possède deux sites potentiels de fixation pour les nucléotides. La seconde extrémité comporte un domaine appelé WD, parce qu'il inclut 12 répétitions d'un module d'environ 30 acides aminés, dont beaucoup se terminent par un tryptophane (en abrégé W) et un aspartate (D) ou une glutamine. C'est à cette région de la molécule que se lie au cytochrome c.

La formation de l'apoptosome est amorcée par la fixation du cytochrome c sur le facteur Apaf1 (*fig. III.A*). Ce dernier forme des heptamères, dont le coeur est occupé par les domaines Carp. Ces derniers recrutent sept molécules de procaspase 9, qui seraient activées du seul fait que l'apoptosome les met en contact les unes avec les autres. Les procaspases forment des dimères qui se transforment en protéase fonctionnelle en pratiquant deux coupures internes ayant pour effet d'exposer les deux sites actifs. Mais le facteur Xiap empêche l'enzyme de fonctionner en se liant à lui à l'intérieur même de l'apoptosome (*mécan. III.14*). Le facteur Diablo lève cette inhibition, du fait qu'il peut aussi interagir avec Xiap et masquer le domaine de fixation de ce dernier à la caspase 9.

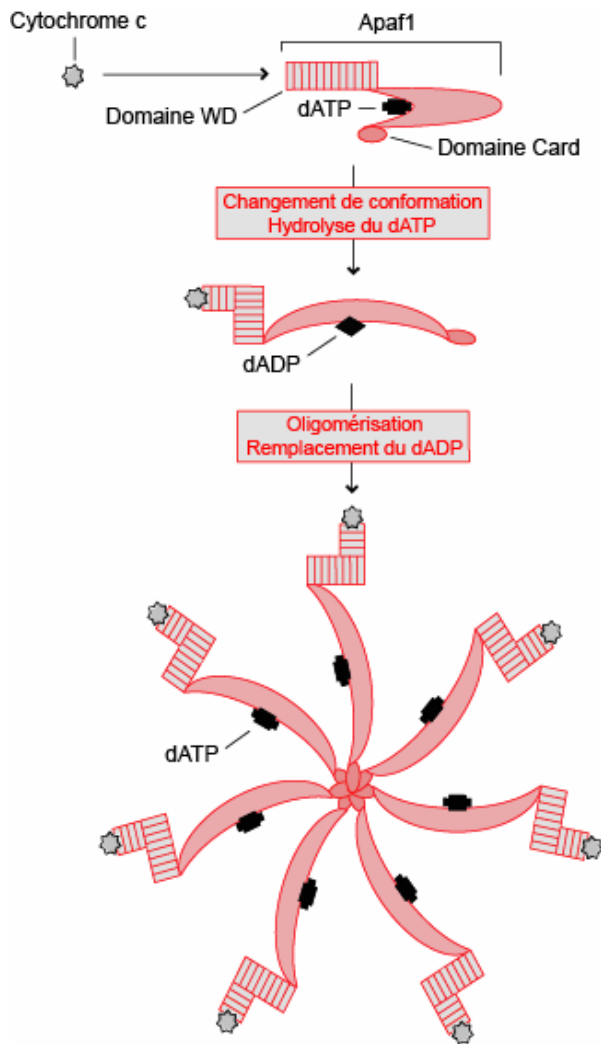


Fig. III.A. Assemblage de l'apoptosome.

Le cytochrome c déclenche l'apoptose en se liant au facteur Apaf1. Normalement, celui-ci forme un complexe avec une molécule de dATP et ses deux extrémités sont proches l'une de l'autre. En se fixant sur le domaine WD d'Apaf1, le cytochrome c y induit un changement de conformation, ainsi que l'hydrolyse du dATP en dADP et P_i . Sept molécules de protéine Apaf1 se lient par leur domaine Card pour construire une structure à sept branches, qui est l'apoptosome fonctionnel, prêt à activer la caspase 9. Au cours de l'assemblage, les sept molécules de dADP associées aux sept molécules d'Apaf1 sont remplacées par autant de molécules de dATP.

(D'après Schafer ZT et Kornbluth S. *Dev Cell* 2006; **19**: 549-61, modifié)

L'apoptosome joue un rôle essentiel au cours du développement, comme on a pu le montrer en manipulant les gènes dont les produits interviennent dans l'assemblage ou le fonctionnement du complexe enzymatique (*annexe XI*). Les fœtus de souris dont le gène cytochrome c a été invalidé (*cyt c^{-/-}*) meurent in utero, ce qui n'est pas étonnant, compte tenu du rôle crucial que joue cette protéine en tant que transporteur d'électrons (*annexe XXI.D*). Mais on a pu modifier le gène d'une manière plus subtile, de sorte que le cytochrome puisse toujours remplir sa fonction dans la chaîne respiratoire, mais non plus activer le facteur Apaf1. Les fœtus dont le génome a été manipulé de cette manière ne sont pas viables. Il en va de même pour les fœtus *apaf1^{-/-}* et *caspase 9^{-/-}*. Tous meurent avant la naissance en présentant diverses anomalies cérébrales, ce qui souligne l'importance de l'apoptose en tant que mécanisme de façonnement du cerveau.

De nombreux facteurs peuvent stimuler ou inhiber l'assemblage ou le fonctionnement de l'apoptosome. On en a identifié jusqu'à présent plus de 20. Le mieux connu est évidemment le cytochrome c. Signalons pour finir que de nombreux types de cellules cancéreuses souffrent d'un déficit d'apoptose dû à un dysfonctionnement de l'apoptosome. Dans presque tous les cas, c'est le facteur Apaf1 qui doit être incriminé. Il peut donc être considéré comme un suppresseur de tumeur.

III.C.7. Autres moyens de déclencher l'apoptose

Les dérivés nocifs de l'oxygène déclenchent l'apoptose en rendant la membrane externe des mitochondries perméable au cytochrome c, et peut-être à d'autres agents pro-apoptotiques :

Dérivés nocifs de l'oxygène → Mitochondries → Cyt.c → Apoptose (mécan. III.15)

Dans certaines circonstances, l'autophagie peut aussi promouvoir l'apoptose. La cellule commencerait donc par se digérer par l'intérieur avant de se détruire complètement. La protéine P53 est capable de déclencher l'un et l'autre phénomène, mais il reste à savoir si l'autophagie est toujours indispensable à l'exécution de l'apoptose, en particulier lorsqu'elle est déclenchée par d'autres facteurs que la protéine P53 (*annexe IV.G*).

L'apoptose peut aussi être déclenchée par la protéine Parp1**. Le stress génotoxique active cette protéine, qui agit sur les mitochondries et les oblige à libérer le facteur AIF, par un mécanisme qui fait encore l'objet de discussions (*annexe VIII.B*).

Coupures db dans l'ADN → Parp1 → Mitochondries → AIF → Apoptose (mécan. III.16)

III.C.8. Rôle des ions Ca²⁺

Des informations contradictoires circulent concernant le rôle des ions Ca²⁺ dans l'exécution de l'apoptose. Suivant certains auteurs, la libération de ces ions à partir de réservoirs intracellulaires, localisés dans le réticulum endoplasmique, constituerait un signal déclencheur. Les ions pénétreraient dans les mitochondries et les forceraient à laisser fuir le cytochrome c, amorçant ainsi l'assemblage de l'apoptosome. Suivant d'autres auteurs, les ions Ca²⁺ inhiberaient ce même processus en ralentissant l'échange d'ADP/dATP qui a lieu lors de l'étape finale (*fig. III.A*).

III.C.9. Intégration du système

L'exécution de l'apoptose fait intervenir des protéines localisées dans plusieurs compartiments cellulaires. La protéine P53 agit à la fois dans le noyau, où elle stimule notamment l'expression des gènes *puma* et *Bax*^{**}, et dans le cytoplasme, où elle active la protéine Bax (*annexe XVI.K*). La protéine Parp1 est activée dans le noyau, où elle détecte les cassures dans l'ADN, mais exerce son action dans le cytoplasme. Les mitochondries participent au phénomène en libérant divers facteurs pro-apoptotiques (*fig. III.B*).

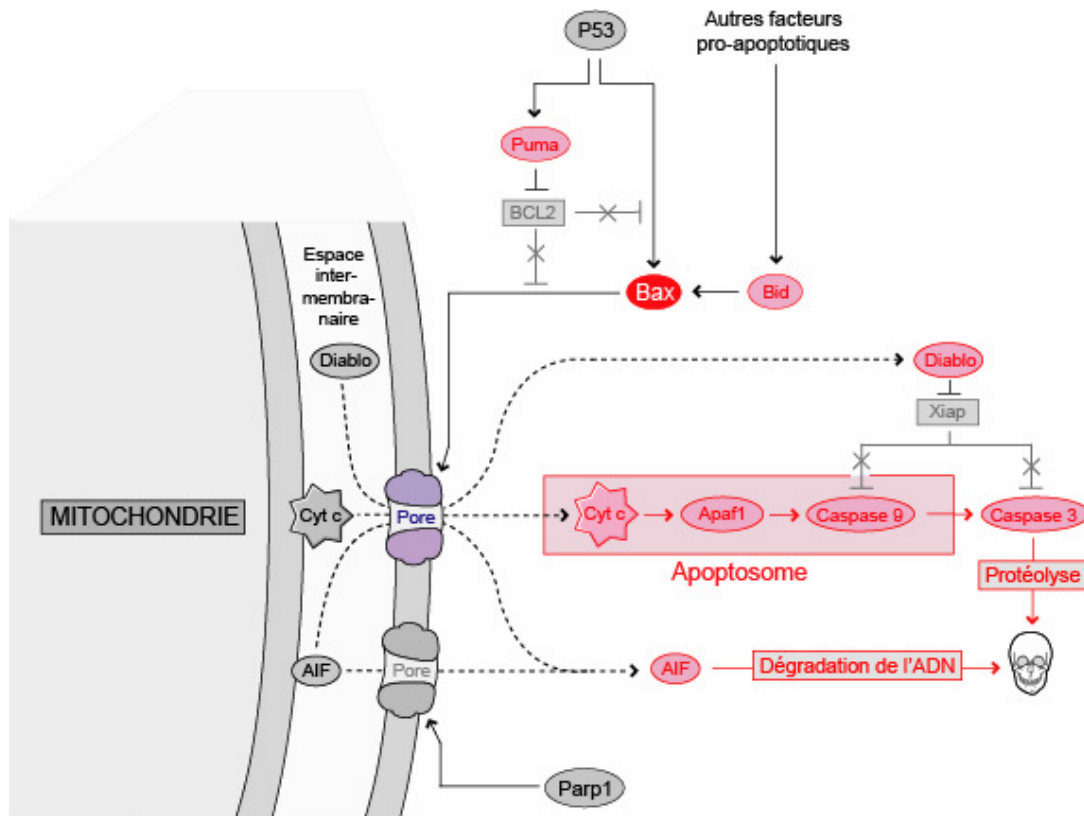


Fig. III.B. Exécution de l'apoptose dans les cellules des mammifères.

La protéine P53 et plusieurs autres facteurs pro-apoptotiques ont comme cible la protéine Bax. Ils stimulent l'activité de celle-ci, soit par l'intermédiaire des protéines antagonistes Puma et BCL2 (*mécan. III.9*), soit par l'intermédiaire du facteur Bid. La protéine P53 stimule également la synthèse de la protéine Bax. Celle-ci fait apparaître des pores dans la membrane mitochondriale externe, par où s'échappent divers promoteurs d'apoptose (Diabolo, cytochrome c, AIF), qui contrôlent l'assemblage et le fonctionnement de l'apoptosome, ainsi que la dégradation de l'ADN nucléaire. Ce dernier phénomène peut être déclenché plus directement par la protéine Parp1, qui contraint les mitochondries à libérer le facteur AIF. Cette voie apoptotique ne fait donc pas intervenir la chaîne des caspases.

III.C.10. Protection contre l'apoptose

L'apoptosome est une machine de destruction redoutable. Pour la bloquer, les mammifères ont mis en place deux garde-fous qui empêchent leurs cellules de se suicider : un système « anti-fuite » autour des mitochondries, dont l'agent d'exécution principal est la protéine BCL2** (*mécan. III.12*), et un système inhibiteur des caspases, qui fait intervenir la protéine Xiap (*mécan. III.14*).

III.D. COMPARAISONS INTERSPÉCIFIQUES

Il existe de nombreux points communs entre les mécanismes gouvernant l'apoptose chez les divers types d'animaux étudiés jusqu'à présent, malgré les différences morphologiques et physiologiques entre ces organismes (*tabl. III.A*). On a identifié jusqu'à présent six familles de protéines homologues* qui interviennent dans l'apoptose : celles de CED9-BCL2**, de DRP1 (*section A.1*), de CED4-Apaf, de CED3-caspases des IAP et des AIF.

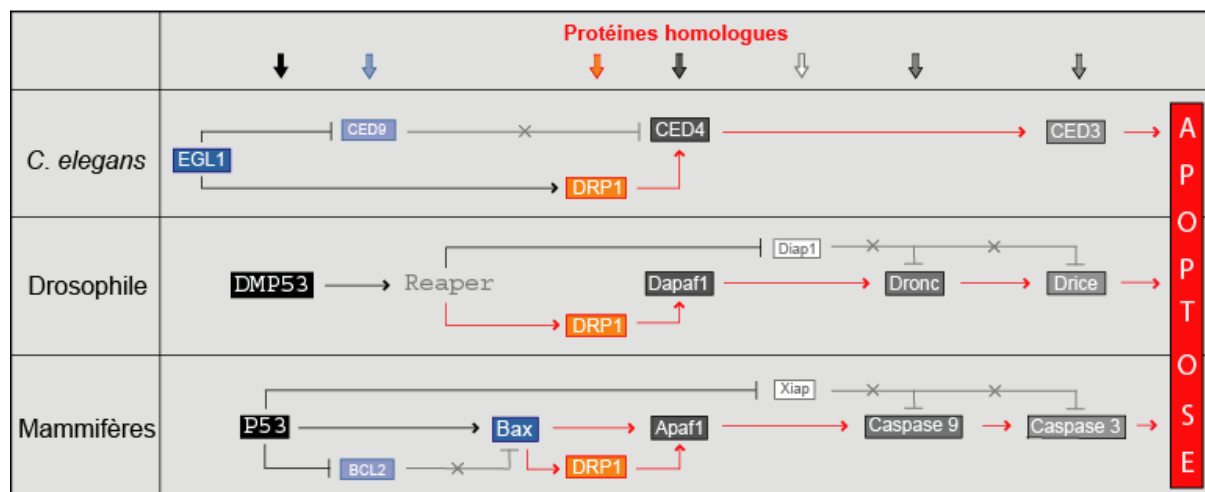
Tabl. III.A. Protéines contrôlant l'apoptose chez différents animaux

Processus contrôlé	Protéines de fonctions similaires			
	<i>C. elegans</i>	Drosophile	Mammifères	
Déclenchement de l'apoptose	EGL1 *	DEBCL *	Bax *	Protéines homologues
Inhibition de l'apoptose	CED9 *	?	BCL2 *	
Fragmentation des mitochondries	DRP1	DRP1	DRP1	
Activation des caspases	CED4	Dapaf1 Dronc	Apaf1 Caspase 9	
Inhibition des caspases	-	Diap1	Xiap	
Exécution de l'apoptose	CED3	Drice	Caspase 3	
Inhibition des IAP	-	Reaper	Diablo HTRA2	
Destruction de l'ADN	WAH1	?	AIF	

* Les protéines figurant sur la première et la deuxième ligne ont des fonctions opposées, mais sont malgré tout homologues*, tout au moins sur une partie de leur longueur.

En dépit de 500 millions d'années d'évolution divergente, la chaîne d'interaction relativement simple qui fonctionne chez *C. elegans* (*mécan. III.1* et *III.3*) n'a pas été modifiée de manière fondamentale chez la drosophile et les mammifères (*tabl. III.B*).

Tabl. III.B. Interactions entre protéines homologues contrôlant l'apoptose



Il y a cependant plusieurs différences notables. Une première réside dans le rôle du cytochrome c, qui ne semble pas intervenir dans l'exécution de l'apoptose chez *C. elegans* ou la drosophile. Une deuxième différence concerne la protéine P53. Chez *C. elegans*, le rôle de cette protéine est assez restreint puisqu'elle ne déclenche l'apoptose que dans les cellules germinales (*section A*). La protéine P53 de la drosophile (DMP53) inhibe le facteur Diap1 par l'intermédiaire d'un seul relais (*mécan. III.5*). Mais celle des mammifères agit sur le facteur Xiap de façon beaucoup moins directe, en provoquant la libération des protéines Diablo et HTRA2 par les mitochondries (*mécan. III.14* et *fig. III.B*). Une troisième différence concerne la régulation des facteurs de la famille CED4-Apaf. Les facteurs DRP1 de *C. elegans* et des mammifères sont activés par deux protéines homologues* : CED9 dans le premier cas et Bax** dans le second. En revanche, le facteur Dapaf1 de la drosophile est activé par un groupe de protéines (Reaper, Hid et Grim), qui n'ont rien à voir avec CED4 et Apaf1.

SIGNIFICATION DES SIGLES ET ACRONYMES

*AIF. Apoptosis-Inducing Factor.

*Apaf. Apoptotic protease-activating factor.

Card. (Caspase Recrutement domain).

*Caspases. cystein/aspartate-specific proteases.

*ced3. cell death defective gene 3.

*Cep1. *C. elegans* p53-like protein 1.

*Dapaf1. *Drosophila* Apaf1.

*DEBCL. Death Executioner BCL-2 homologue.

*Diablo. Direct IAP binding protein with low pl.

Diap1. *Drosophila* inhibitor of apoptosis factor 1.

*Dronc. *Drosophila* Nedd2-like caspase.

*Drice. *Drosophila* ICE/Ced-3 like caspase.

*DRP1. Dynammin-Related Protein 1.

*egl1. egg laying defective gene 1.

HTRA2. High Temperature Regulated protein A2.

Noxa*. De *Noxious*, qui signifie nocif en anglais.

*Puma. P53 up-regulated modulator of apoptosis.

*WAH1. Worm AIF Homolog 1.

*Xiap. X-linked Iap.

BIBLIOGRAPHIE

Généralités

- Adam M, Levraud J-P, Golstein P. Approches génétiques de la mort cellulaire programmée : succès et questions. *Med Sci* 2002; **18**: 831-40.
- Couzinet A, Hérics Z, Hueber A-O. Régulation de la mort cellulaire programmée : vers une conception plus dynamique. *Med Sci* 2002; **18**: 841-52.
- Downward J. Metabolism meets death. *Nature* 2003; **424**: 896-7.
- Meier P, Finch A, Evan G. Apoptosis in development. *Nature* 2000; **407**: 796-801.

C. elegans

- Abdelwahid E, Yokokura T, Krieser RJ, Balasundaram S, Fowle WH, White K. Mitochondrial disruption in *Drosophila* apoptosis. *Dev Cell* 2007; **12**: 793-806.
- Derry WB, Putzke AP, Rothman JH. *Caenorhabditis elegans* p53: role in apoptosis, meiosis, and stress resistance. *Science* 2001; **294**: 591-5.
- Goyal G, Fell B, Sarin A, Youle RJ, Sriram V. Role of mitochondrial remodelling in programmed cell death in *Drosophila melanogaster*. *Dev Cell* 2007; **12**: 807-16.
- Jagasia R, Grote P, Westermann B, Conradt B. DRP-1-mediated mitochondrial fragmentation during EGL-1-induced cell death in *C. elegans*. *Nature* 2005; **433**: 754-60.
- Metzstein MM, Stanfield GM, Horvitz HR. Genetics of programmed cell death in *C. elegans*: past, present and future. *Trends Genet* 1998; **14**: 410-6.
- Wang X, Yang C, Chai J, Shi Y, Xue D. Mechanisms of AIF-mediated apoptotic DNA degradation in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 2002; **298**: 1587-92.

Drosophile

- Dorstyn L, Mills K, Lazebnik Y, Kumar S. The two cytochrome c species, DC3 and DC4, are not required for caspase activation and apoptosis in *Drosophila* cells. *J Cell Biol* 2004; **167**: 405-10.
- Gaumer S, Guénel I, Brun S, Mignotte B. L'apoptose chez la drosophile : conservation et originalité. *Med Sci* 2002; **18**: 875-80.
- Harvey KF, Pflieger CM, Hariharan IK. The *Drosophila* Mst ortholog, *hippo*, restricts growth and cell proliferation and promotes apoptosis. *Cell* 2003; **114**: 457-67.
- Ollmann M, Young LM, Di Como CJ, Karim F *et al.* *Drosophila* p53 is a structural and functional homolog of the tumor suppressor p53. *Cell* 2000; **101**: 91-101.

Mammifères

- Bao Q, Lu W, Rabinowitz JD, Shi Y. Calcium blocks formation of apoptosome by preventing nucleotide exchange in Apaf-1. *Mol Cell* 2007; **25**: 181-92.
- Chipuk JE, Kuwana T, Bouchier-Hayes L, Droin NM, Newmayer DD, Schuler M, Green DR. Direct activation of Bax by p53 mediates mitochondrial membrane permeabilization and apoptosis. *Science* 2004 ; **303** : 1010-4.
- Green DR, Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death. *Science* 2004; **305**: 626-9.
- Mattson MP, Chan SL. Calcium orchestrates apoptosis. *Nature Cell Biol* 2003; **5**: 1041-3.
- Palaga T, Osborne B. The 3D's of apoptosis: death, degradation and DIAPs. *Nature Cell Biol* 2002; **4**: E149-51.
- Porter AG, Urbano AGL. Does apoptosis-inducing factor (AIF) have both life and death functions in cells? *BioEssays* 2006; **28**: 634-43.
- Vousden KH. p53 and PUMA: a deadly duo. *Science* 2005; **309**: 1685-6.

Wasiak S, Zunino R, McBride HM. Bax/Bak promote sumoylation of DRP1 and its stable association with mitochondria during apoptotic cell death. *J Cell Biol* 2007; **177**: 439-50.