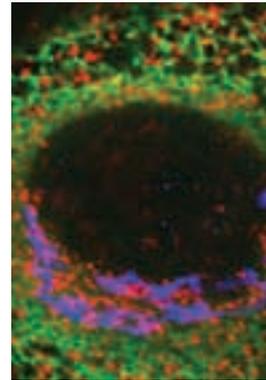


>Le stress du réticulum endoplasmique (RE) est produit par l'accumulation de protéines mal conformées dans le RE et conduit à l'activation d'une réponse adaptative, la réponse UPR (*unfolded protein response*). Le stress du RE est impliqué dans la pathogénie de nombreuses pathologies telles que la maladie d'Alzheimer, l'athérosclérose, les diabètes de types 1 et 2 ou certaines maladies inflammatoires du tube digestif. Des données expérimentales récentes suggèrent son implication en transplantation d'organe solide. L'objet de cette revue est de synthétiser les données sur les mécanismes moléculaires du stress du RE et les conséquences de celui-ci en pathologie, et plus particulièrement à partir de plusieurs modèles de transplantation d'organes solides et de lésions tissulaires dans lesquels le stress du RE peut être impliqué. Nous discutons aussi les implications possibles du stress du RE, au-delà de la simple réponse adaptative et de la régulation de la mort cellulaire, sur les modifications des propriétés fonctionnelles et les changements phénotypiques. La modulation de la réponse UPR au cours du stress du RE en transplantation d'organe solide pourrait constituer une cible thérapeutique prometteuse. La mise en évidence de marqueurs du stress du RE tels que BiP/GRP78 ou CHOP dans les biopsies de greffon pourrait permettre la détection précoce d'un processus pathologique en cours avant que les lésions histologiques ne soient définitivement établies. L'autre enjeu serait de trouver une stratégie pour bloquer la mort cellulaire causée par le stress du RE, ce qui fournit un champ d'investigation passionnant pour de futurs traitements protecteurs. <

Implication du stress du réticulum endoplasmique en transplantation d'organe solide

Nicolas Pallet, Nicolas Bouvier, Philippe Beaune, Christophe Legendre, Dany Anglicheau, Éric Thervet



N. Bouvier, P. Beaune :
 Inserm U775,
 Centre universitaire
 des Saints-Pères,
 45, rue des Saints-Pères,
 75006 Paris, France ;
 Université Paris Descartes,
 Paris, France.

C. Legendre : service
 de transplantation rénale,
 Hôpital Necker-
 Enfants malades, AP-HP,
 Paris, France.

N. Pallet, D. Anglicheau,
 É. Thervet : Inserm U775
 et Université Paris Descartes,
 Paris, France ;
 service de transplantation
 rénale,
 Hôpital Necker-Enfants malades,
 AP-HP,
 149, rue de Sèvres,
 75015 Paris, France ;
 Université Paris Descartes,
 Paris, France.
eric.thervet@nck.aphp.fr
nicolas.pallet@univ-paris5.fr

L'accumulation de protéines mal conformées à l'intérieur du réticulum endoplasmique (RE) génère un stress cellulaire pouvant aboutir à la mort de la cellule si aucune adaptation n'est mise en jeu. Les cellules soumises à un stress du RE activent une réponse adaptative conservée au sein de différentes espèces appelée réponse UPR pour *unfolded protein response* [1-5, 46]. Trois phases se distinguent schématiquement au cours de cette réponse : une phase adaptative, une phase d'alarme et une phase d'activation de la mort cellulaire. La phase adaptative est caractérisée par la dégradation protéasomale des protéines, l'inhibition globale de la traduction, l'augmentation du pool de protéines chaperonnes et d'enzymes de maturation protéique. Cette phase permet de limiter le stress du RE en réduisant la charge en protéines mal conformées. La phase d'alarme est caractérisée par la génération d'une réaction inflammatoire médiée par les voies NF- κ B et JNK (voir *Glossaire*). Cette phase permet l'activation de la réponse immune en réaction à un stress cellulaire



(infection virale par exemple). Enfin, si le stress se prolonge, ou si son intensité reste élevée, la réponse UPR peut induire la mort cellulaire par apoptose. Le stress du RE est impliqué dans de nombreuses pathologies telles que la maladie d'Alzheimer ou la maladie de Parkinson juvénile, le déficit en $\alpha 1$ -antitrypsine, la mucoviscidose, le diabète, les accidents vasculaires cérébraux, les maladies cardiaques et rénales [6-8].

L'organe transplanté est le lieu de multiples processus pathologiques, immunologiques ou non, pouvant conduire à la perte de structure et de fonction du greffon [9, 10]. Un certain nombre de situations physiopathologiques survenant dans l'organe transplanté peuvent être responsables d'un stress du RE : ischémie¹ froide (lorsque le greffon est réfrigéré), ischémie-reperfusion (I/R) (réapprovisionnement en sang d'un organe suite à une période d'ischémie), néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine par exemple. Une meilleure compréhension des conséquences adaptatives et délétères de la réponse UPR dans le tissu greffé en réponse à ces facteurs d'agression est de première importance car elle pourrait être à l'origine de biomarqueurs de souffrance tissulaire précoce mais également générer de nouvelles cibles thérapeutiques modulant cette réponse.

L'objet de cette revue est de détailler les données expérimentales existantes portant sur l'implication du stress du RE et de la réponse UPR du tissu soumis à des situations pathologiques observées en transplantation d'organe solide. Dans un premier temps, les voies de la réponse UPR au cours du stress du RE seront détaillées, puis seront analysées les données montrant l'implication de la réponse UPR au cours de l'I/R, du diabète post-transplantation et de la néphrotoxicité de la ciclosporine (CsA). Enfin, les données portant sur les possibilités thérapeutiques ayant comme cible la réponse UPR seront résumées.

Le stress du RE et la réponse UPR

Le RE fournit un environnement optimisé pour la formation et la maturation des protéines. Les protéines doivent être correctement conformées et assemblées dans le RE avant le transit dans les organites intracellulaires puis à la surface cellulaire. Les perturbations de l'équilibre redox cellulaire, les désordres de l'homéostasie calcique, la carence en glucose, les infections virales, l'altération de la glycosylation des protéines, l'inhibition des enzymes de maturation et la surcharge en cholestérol peuvent interférer avec la machinerie de formation des protéines et ainsi entraîner une accumulation de protéines mal ou non conformées dans la lumière du RE, et donc un stress du RE [7, 8]. La réponse UPR permet de réduire la quantité de protéines natives dans le RE en inhibant la traduction des ARNm, d'augmenter la dégradation dans le protéasome des protéines localisées au RE, mais également la capacité de maturation des protéines dans le RE. Quand l'adaptation échoue et que le stress du RE se prolonge, la cellule déclenche un programme de mort cellulaire, habituellement sous la forme d'apoptose (Figure 1) [6, 9, 10].

¹ L'ischémie se caractérise par une altération du flux sanguin au niveau d'une région, d'un organe ou d'un organisme entier.

Trois principaux médiateurs sont impliqués dans la voie de signalisation de la réponse UPR : ATF6 (*activated transcription factor 6*), IRE1 (*inositol requiring enzyme 1*) et PERK (*protein kinase RNA (PKR)-like ER kinase*) (Figure 1) [3, 11]. Lors d'un stress du RE, la réponse la plus précoce est une diminution transitoire de la traduction des ARNm due à la phosphorylation d'elf2 α (*eukaryotic initiation factor 2 α*). PERK, une kinase résidente du RE, est activée dans ces conditions et phosphoryle elf2 α . IRE1 possède une activité ribonucléase activée par oligodimérisation et autophosphorylation permettant l'épissage non conventionnel de l'ARNm codant le facteur transcriptionnel XBP1 (*X-box binding protein 1*). L'épissage de 26 nucléotides produit un décalage du cadre de lecture et permet la traduction de l'ARNm ainsi épissé (XBP1s) et la synthèse du facteur transcriptionnel XBP1 qui pourra se lier à un ERSE (*endoplasmic reticulum stress response element*) et conduire à la transcription de gènes codant pour des protéines chaperonnes telles que BiP, GRP94, calréticuline, mais aussi des enzymes de maturation et de dégradation. Des données récentes ont apporté des informations importantes et originales sur l'activité endonucléasique d'IRE1. L'accumulation de protéines mal conformées déclenche la dimérisation d'IRE1 qui est essentielle pour générer l'activité endoribonucléasique [12, 13]. Cette oligomérisation ouvre le domaine kinase d'IRE1 par modification conformationnelle, active la trans-autophosphorylation d'IRE1, ce qui a comme conséquence de stabiliser les dimères d'IRE1 et de faciliter l'addition de nouveaux monomères. La constitution d'un oligomère de plus grande taille est ainsi facilitée. La forme dimérisée d'IRE1 permet l'épissage de l'ARNm de XBP1 et ainsi l'activation de la réponse adaptative UPR. Si le stress du RE se poursuit, IRE1 va former des oligomères par l'intermédiaire de la trans-autophosphorylation et augmenter son activité RNase qui dégradera des ARNm localisés près du RE (*RNA decay*) [14]. Ces ARNm codant des protéines d'adaptation au stress comme des chaperonnes, leur destruction par *RNA decay* pourrait être délétère pour la cellule au cours du stress du RE. Ainsi, selon l'intensité et la durée du stress du RE, IRE1 peut avoir un rôle bénéfique en activant XBP1, mais si ce stress se poursuit, elle sera responsable de la dégradation d'ARN codant des protéines d'adaptation au stress.

IRE1 et elf2 α peuvent activer la voie NF- κ B et ainsi générer une réponse inflammatoire. L'activation d'IRE1 permet le recrutement de TRAF2 (*tumor necrosis factor receptor-associated factor 2*) et la phosphorylation et la dégradation de I κ B, un inhibiteur de NF- κ B. Le rôle de elf2 α dans l'activation de NF- κ B passe par

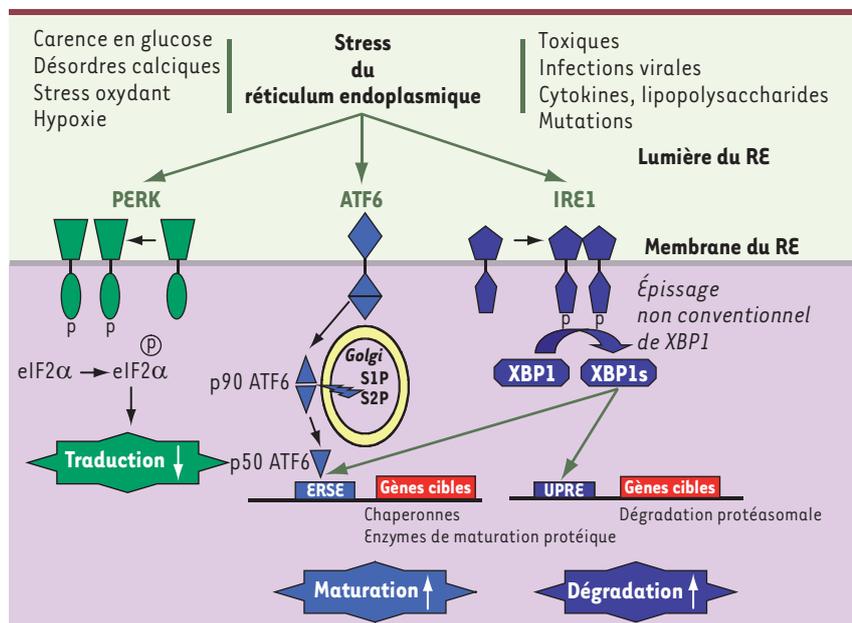


Figure 1. Mécanismes moléculaires de la réponse UPR (unfolded protein response). En condition normale, BiP est liée aux domaines endoluminaux d'IRE1, PERK et ATF6 pour les maintenir à l'intérieur du réticulum endoplasmique (RE). Lorsqu'il y a une accumulation de protéines mal conformées, BiP se lie préférentiellement à celles-ci et libère IRE1, PERK et ATF6, permettant ainsi la dimérisation/oligomérisation spontanée d'IRE1 et PERK, leur trans-autophosphorylation et leur activation. IRE1 activée va alors épisser l'ARNm du facteur de transcription XBP1 (XBP1s) permettant sa traduction. La protéine XBP1 est transloquée dans le noyau, où elle se lie aux ERSE (endoplasmic reticulum stress elements). IRE1 active également JNK, via TRAF2. La phosphorylation d'eIF2 α par PERK phosphorylée entraîne la diminution globale de la traduction des ARNm. Enfin, la séparation de BiP et ATF6 permet à ATF6 d'exposer une séquence permettant sa localisation dans l'appareil de Golgi. Ceci induit le transport d'ATF6 (p90 ATF6) dans l'appareil de Golgi où il est clivé et dont l'un des fragments (p50 ATF6), un facteur de transcription, va être transloqué dans le noyau où il se lie à des ERSE et induit la transcription de gènes tels que *Bip*, *CHOP* et *XBP1*.

tion des ARNm. Enfin, la séparation de BiP et ATF6 permet à ATF6 d'exposer une séquence permettant sa localisation dans l'appareil de Golgi. Ceci induit le transport d'ATF6 (p90 ATF6) dans l'appareil de Golgi où il est clivé et dont l'un des fragments (p50 ATF6), un facteur de transcription, va être transloqué dans le noyau où il se lie à des ERSE et induit la transcription de gènes tels que *Bip*, *CHOP* et *XBP1*.

l'inhibition de la traduction d'I κ B [7]. Dans des conditions de stress, ATF6 est activé par clivage protéolytique dans le Golgi. La portion cytosolique d'ATF6 se lie à un ERSE et induit une transcription des gènes de la réponse UPR dont ceux codant les protéines chaperonnes résidant dans le RE et des gènes d'enzymes de maturation. La protéine chaperonne BiP sert de régulateur principal de la réponse UPR et joue un rôle essentiel dans l'activation d'IRE1, PERK et ATF6 suite à un stress du RE [3]. Si la surcharge en protéines non ou mal conformées persiste dans le RE, l'activation prolongée de la réponse UPR dirigera la cellule vers la mort cellulaire programmée.

Dans des conditions de stress du RE, de nombreuses voies de signalisation activent l'apoptose [6]. IRE1 joue un rôle important dans l'apoptose à travers l'activation des voies JNK et NF- κ B. Une seconde voie conduisant à l'apoptose implique le clivage de la caspase 12 résidant dans le RE. Finalement, CHOP (C/EBP² homologous protein), dont le mode d'action n'est pas bien établi, est impliquée dans l'apoptose durant le stress du RE [15]. Le stress du RE produit de nombreuses réponses cellulaires qui ne sont pas directement liées à l'adaptation secondaire à l'accumulation de protéines mal conformées et à la mort cellulaire, mais qui pourraient avoir des implications sur des fonctions cellulaires précises ou sur la différenciation cellulaire. Le stress du RE intervient dans la différenciation de nombreux types cellulaires tels que les chondrocytes, les adipocytes, les cellules souches neurales, les myocytes et les lymphocytes [15-20]. Ainsi, la réponse UPR générée au cours du stress du RE doit être considérée comme un mode d'adap-

tation à un nombre de situations physiopathologiques très variées visant à rétablir l'homéostasie de la cellule et son fonctionnement normal. La mort cellulaire sera effective lorsque ces capacités d'adaptation seront dépassées et que le programme de suicide cellulaire inhérent à la réponse UPR sera prédominant par rapport au programme d'adaptation. Cette balance est dépendante du type de stimulus, de son intensité, de sa durée, du type cellulaire et du microenvironnement cellulaire. Nous allons détailler ci-dessous l'implication de la réponse UPR au cours de situations pathologiques pouvant survenir lors de transplantations d'organes solides.

Le stress du RE en transplantation d'organes solides

Ischémie-reperfusion

L'ischémie-reperfusion (I/R) rénale

Elle a comme conséquence une diminution de la synthèse protéique. Des études récentes suggèrent que la réponse UPR est responsable de l'inhibition de la synthèse des protéines qui a lieu dans les reins de rats reperfusés après une ischémie. L'ischémie secondaire à un arrêt cardiaque et la reperfusion qui survient au décours de la réanimation sont associées à l'activation de PERK et à la phosphorylation d'eIF2 α , aboutissant à

² les protéines C/EBP interagissent avec le motif CCAAT box (cytidine-cytidine-adénosine-adénosine-thymidine) présent dans de nombreux promoteurs de gènes.

l'inhibition du processus de traduction et de la synthèse des protéines [16]. Ce résultat suggère que l'I/R rénale induit un stress du RE et active la réponse UPR qui participe à l'apparition des lésions tubulaires rénales. Les processus d'assemblage et de maturation des protéines dans le RE sont perturbés au cours de l'ischémie, ce qui peut contribuer à l'apparition d'un phénotype ischémique des cellules épithéliales (altérations des protéines des jonctions transmembranaires, des transporteurs polarisés et des intégrines) [17]. En considérant que la récupération après un épisode ischémique requiert une synthèse protéique *de novo*, un assemblage et une maturation des protéines, les protéines chaperonnes du RE pourraient jouer un rôle majeur dans les processus de récupération.

Comme la réponse UPR peut engendrer de façon alternée une réponse pro ou antiapoptotique, le stress du RE joue un rôle complexe dans la survie des cellules rénales. Le préconditionnement *in vitro* de cellules épithéliales rénales avec des inducteurs du stress du RE les protège contre les agressions oxydantes (reperfusion) et la cytotoxicité, suggérant un rôle protecteur du stress du RE. Le préconditionnement par le stress du RE atténue les lésions induites par H₂O₂ dans les cellules LLC-PK1 (lignée de cellules épithéliales dérivées d'un rein de porc) en empêchant l'augmentation de la concentration de calcium intracellulaire, en potentialisant l'activation de PERK et en diminuant l'activation de la voie JNK. En revanche, la réduction par ARN interférence de BiP, le régulateur clé du stress du RE, aggrave les lésions cellulaires. L'I/R induit dans le rein des modifications d'expression de protéines spécifiques du RE telles que la HSP70 (*heat shock protein* de 70 kDa) et la HO-1 (*heme oxygenase-1*). Une autre protéine spécifique du RE, la HSP12A, également connue sous le nom d'ORP150, est surexprimée dans les cellules tubulaires pendant l'I/R rénale et il a été montré qu'elle jouait un rôle cytoprotecteur pendant les agressions liées à l'I/R. Les souris surexprimant HSP12A sont moins susceptibles à une insuffisance rénale aiguë pendant l'I/R que les souris hétérozygotes pour l'expression du gène codant cette protéine, exprimant moins de HSP12A, confirmant ainsi le rôle essentiel du stress du RE dans les lésions rénales d'origine ischémique. Le rôle protecteur de HSP12A pendant le stress du RE semble être lié à ses propriétés de protéine chaperonne, entraînant un repliement et un transport protéique plus efficaces pendant le stress du RE [18].

L'ischémie-reperfusion hépatique

Une cause importante de reprise retardée de fonction au décours d'une transplantation hépatique est l'I/R

[45]. Des données récentes suggèrent que le stress du RE est impliqué dans les phénomènes d'I/R. Dans un modèle murin d'I/R hépatique, la voie IRE1 est activée à la phase précoce de l'ischémie et, dans un second temps, à la phase précoce de la reperfusion. Cette réaction peut contribuer à l'activation de la voie SAPK/JNK (*stress activated protein kinase*/JNK) lors de la reperfusion [19]. Cette voie est activée pendant l'I/R hépatique et augmente les lésions hépatiques pendant la transplantation, principalement en induisant l'apoptose hépatocytaire [20]. La diminution de l'activité JNK protège de l'I/R et réduit l'apoptose hépatocytaire médiée par la voie mitochondriale [21, 22]. L'inhibition chimique de la voie JNK pourrait être utile afin de protéger la viabilité du greffon hépatique pendant l'I/R et serait une stratégie innovante chez l'homme. Au contraire, la voie PERK, qui induit l'inhibition de la traduction, est principalement activée pendant la reperfusion. On détecte l'activation de PERK dans les cellules endothéliales sinusoidales, ce qui pourrait contribuer à l'hypersensibilité de ce type de cellules hépatiques à l'I/R. Ces résultats sont bien corrélés au défaut observé dans la sécrétion protéique et suggèrent que la réponse biphasique du stress du RE peut influencer les fonctions sécrétrices du foie et, ainsi, le devenir de la transplantation [19].

La préservation d'organes

L'endothélium vasculaire est une cible privilégiée lors de la reperfusion qui suit la conservation hypothermique. La préservation de son intégrité est un facteur critique dans la préservation des organes destinés à la transplantation. Une analyse ultrastructurale détaillée des cellules endothéliales humaines conservées pendant 6 heures en hypothermie dans des solutions de préservation a montré des lésions cellulaires comme la disparition des contacts intercellulaires, l'organisation des fibres de stress, la condensation nucléaire et la perte de l'intégrité mitochondriale. Il faut noter que les citernes endoplasmiques sont distendues, signe très suggestif de stress du RE [23]. Des données expérimentales obtenues chez des souris chez lesquelles on a provoqué un arrêt cardiaque, puis qu'on a ressuscitées, suggèrent que le stress du RE et la diminution de la traduction protéique jouent un rôle, mais les réponses à l'I/R sont différentes selon les organes. Le stress du RE est activé de façon importante et transitoire dans le rein et le foie tandis qu'il est plus modéré dans le cœur [16]. Par conséquent, le stress du RE dans les organes peut contribuer à la physiopathologie de l'arrêt cardiaque et à l'I/R pendant l'intervention chirurgicale au cours de la greffe.

Le remplacement des liquides de conservation conventionnels par une perfusion hypothermique continue peut améliorer la viabilité des organes. Un essai récent chez l'homme a démontré un bénéfice certain de l'utilisation d'une machine de perfusion comparativement à la conservation en hypothermie classique sur la fonction et la survie du greffon à un an [24]. Dans ce cadre, la durée de perfusion semble importante par rapport à l'induction du stress du RE. Les foies de rats perfusés par une pompe avec une solution HTK (*histidine-tryptophan-ketoglutarate*) oxygénée démontrent une phosphorylation de PERK et l'activation de la caspase 12, suivies du clivage de la caspase 3, suggérant une apoptose liée au stress du RE. En revanche, quand les foies sont

d'abord perfusés pendant deux heures puis conservés au froid pendant 16 heures dans la solution HTK, la caspase 12 n'est plus clivée. De plus, cette stratégie de perfusion courte protège le foie contre la cytolysse et empêche les altérations ultrastructurales des hépatocytes [25]. Une autre étude a montré que la voie JNK est inhibée pendant l'oxygénation hypothermique [26]. Le mécanisme par lequel la préservation hypothermique par perfusion de manière prolongée active la réponse UPR est inconnu. Ainsi, les conditions de préservation de l'organe prélevé ainsi que les phénomènes d'ischémie et de reperfusion au moment de la transplantation d'organe génèrent un stress du RE suivi d'une réponse UPR et permettent une adaptation au stress pouvant être mise à profit par des techniques de preconditionnement chimique ou ischémique. Cependant, cette phase d'adaptation est limitée et transitoire et peut être dépassée lors d'un stress trop intense ou prolongé qui aboutira aux lésions tissulaire et structurelle de l'organe greffé.

Le diabète post-transplantation

Le stress du RE est impliqué dans la pathogénie du diabète car il contribue au développement d'une insulino-résistance et à la mort des cellules β [27, 28]. Les cellules sécrétant de grandes quantités d'insuline sont soumises à un stress inhérent à l'importance de la synthèse protéique et sont très sensibles à toute perturbation générant une accumulation de protéines mal conformées. Les mutations du gène codant PERK sont associées à une perte progressive des cellules β des îlots de Langerhans chez la souris et chez l'homme. Les souris porteuses de mutation de eIF2 α développent une perte des cellules β , alors que celles qui ont une délétion de CHOP, inducteur d'apoptose, sont protégées contre le développement du diabète [27, 29, 30]. Le diabète post-transplantation touche 10 à 40 % des patients greffés et augmente la morbi-mortalité cardiovasculaire [31, 32]. Le traitement par tacrolimus (un des deux inhibiteurs (IC) de la calcineurine, l'autre étant la CsA) fait partie des facteurs de risque les plus importants. La physiopathologie des lésions des cellules β du pancréas pendant le traitement par tacrolimus n'est pas bien comprise, mais des études suggèrent que la perturbation liée au stress du RE pourrait altérer la viabilité cellulaire. En effet, les anomalies morphologiques dont les inclusions nucléaires, la dilatation des citernes du RE granuleux, associées à la dégranulation cytoplasmique importante et à la dégénérescence des îlots β pancréatiques, ont été décrites dans des modèles de cellules β de rongeurs avec l'utilisation des deux IC [32, 33]. Ces données suggèrent que le stress du RE est impliqué dans le diabète induit par les IC. Les mécanismes précis par lesquels les IC induisent un diabète post-transplantation ne sont pas connus, mais la caractérisation du rôle de la réponse UPR dans la diabétogénèse est importante car elle pourrait offrir des perspectives thérapeutiques intéressantes, comme par exemple le ciblage de la voie JNK par des inhibiteurs spécifiques [28, 34].

La néphrotoxicité de la ciclosporine

La CsA induit le stress du RE. L'apoptose des cellules tubulaires induite par la CsA est associée à l'induction de CHOP [35]. En évaluant la réponse transcriptomique des cellules tubulaires à la CsA, nous avons

montré l'implication du stress du RE [36]. L'administration de CsA *in vivo* induit une augmentation de l'ARNm de BiP, un marqueur de stress du RE, dans des biopsies de greffon [36]. La CsA (pendant 7 jours) active la réponse UPR, confirmée par l'induction de BiP, et une réponse pro-apoptotique caractérisée par l'augmentation de la caspase 12 et CHOP. Cependant, un traitement long par CsA (pendant 28 jours) diminue l'expression de BiP [37]. Nous avons récemment montré que la néphrotoxicité liée à la CsA était en partie liée au stress du RE. En effet, la CsA et d'autres inducteurs du stress du RE sont responsables de changements phénotypiques épithéliaux conduisant à la formation de protomyofibroblastes, indépendamment de la voie de signalisation du TGF- β (*Transforming growth factor beta*). L'inhibition de la cyclophiline A par ARN interférence joue un rôle en déclenchant à la fois le stress du RE et des changements phénotypiques épithéliaux comme ceux induits par la CsA. Enfin, le salubrinal, un inhibiteur sélectif de la déphosphorylation de p-eIF2 α , réduit de façon significative les changements phénotypiques épithéliaux et la cytotoxicité induits par la CsA *in vitro* et *in vivo*. Ces données mettent l'accent sur le rôle du stress du RE pendant la néphrotoxicité liée à la CsA par induction de la mort cellulaire, mais aussi en tant que médiateur de la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) dans les cellules tubulaires [36]. Ainsi, le stress du RE est impliqué dans la médiation de la néphrotoxicité de la CsA *in vitro* et *in vivo* et peut constituer une cible thérapeutique puisque le salubrinal, une molécule limitant les effets du stress du RE, protège les reins de rats de la néphrotoxicité induite par la CsA.

La réponse UPR comme cible thérapeutique

Compte tenu de l'importance du stress du RE et de la réponse UPR dans la détermination de la vie ou de la mort cellulaire au cours d'un grand nombre de pathologies humaines, la caractérisation de cibles thérapeutiques présente un grand intérêt. La modulation de la réponse UPR est néanmoins complexe car des voies d'adaptation et de survie cellulaire sont activées parallèlement aux voies de mort cellulaire [28]. Ainsi, la modulation des voies de la réponse UPR vers l'adaptation pourrait être bénéfique pour la cellule. Par exemple, l'utilisation du salubrinal, qui inhibe la traduction des ARNm en inhibant la déphosphorylation de p-eIF2 α , a un effet cytoprotecteur dans des modèles cellulaires de maladie de Parkinson et d'excitotoxicité [28, 38]. Nous avons rapporté que le salubrinal atténue significativement la néphrotoxicité de la CsA *in vivo* [36]. Le preconditionnement ischémique améliore les

résultats des greffes hépatiques et rénales [39] et pourrait activer la réponse UPR, et plus spécialement la « composante adaptative » de la réponse. Enfin, des souris qui reçoivent de la tunicamycine ou de la thapsigargine, deux inducteurs importants du stress du RE, sont protégées des lésions d'I/R rénales [40]. L'utilisation de molécules chaperonnes pourrait être bénéfique pour la cellule au cours du stress du RE. Le 4-phénylbutyrate réduit *in vivo* l'action délétère du stress du RE [41]. Il a également été montré qu'un inhibiteur des produits de dégradation du glucose, le TM2002, réduit la mort cellulaire due au stress du RE *in vitro* et diminue les lésions d'I/R *in vivo* dans le rein [42]. L'induction sélective de BiP/GRP78 par du 1-(3-4-dihydrophényl)-2-thiocyanate-éthanone (BIX) avant l'occlusion d'une artère cérébrale réduit la taille de l'infarctus et la mort neuronale [43]. Plus récemment, il a été montré qu'un inhibiteur de kinase, le 1 NM-PP1 permettait la dimérisation d'IRE1 et l'épissage de XBP1 sans activer la dégradation des ARNm que l'on observe au cours du stress du RE soutenu [14]. La modulation de la voie adaptative IRE1-XBP1 par cette classe de molécules appelée KIRA (*kinase-inhibiting RNase attenuators*) pourrait trouver des applications au cours du diabète ou de certains cancers.

L'inhibition des voies activant la mort cellulaire au cours de la réponse UPR pourrait être bénéfique pour le maintien de la viabilité cellulaire. Ainsi, l'inhibition de la voie des MAP-kinases ASK/JNK, qui est activée au cours du stress du RE par IRE1, pourrait être bénéfique au cours du diabète de type 2, de maladies neurodégénératives ou de certaines cardiopathies [34]. De même, l'inhibition de p38 MAPK, qui est activée au cours du stress du RE et qui augmente l'activité de CHOP, a des propriétés cytoprotectrices [44]. Ainsi, les potentialités thérapeutiques qu'offre la réponse UPR sont grandes, mais la complexité des voies de signalisation et la dualité mort/survie cellulaire de cette réponse rend la modulation particulièrement délicate, en particulier dans un contexte de pathologies chroniques telles que le diabète de type 2 ou les maladies neurodégénératives.

Conclusion et perspectives

L'implication du stress du RE en transplantation d'organe solide est probablement sous-estimée, une littérature émergente suggère couramment son rôle dans divers types de situations pathologiques. Une meilleure compréhension de son implication est nécessaire afin de développer de nouveaux biomarqueurs de souffrance tissulaire et de mettre en évidence de nouvelles cibles thérapeutiques. La détection du stress du RE dans des

biopsies rénales pourrait servir de biomarqueur de souffrance parenchymateuse et aboutir à des modifications thérapeutiques adéquates. La modulation du stress du RE en tant que médiateur d'adaptation au stress, de mort cellulaire ou de différenciation cellulaire pourrait également être la cible d'interventions thérapeutiques à visée protectrice. ♦

SUMMARY

Involvement of endoplasmic reticulum stress in solid organ transplantation

Endoplasmic reticulum (ER) stress is a situation caused by the accumulation of unfolded proteins in the endoplasmic reticulum, triggering an evolutionary conserved adaptive response termed the unfolded protein response. When adaptation fails, excessive and prolonged ER stress triggers cell suicide. Important roles for ER-initiated cell death pathways have been recognized for several diseases, including diabetes, hypoxia, ischemia/reperfusion injury, neurodegenerative and heart diseases. The implication of the ER stress is not well recognized in solid organ transplantation, but increasing evidence suggests its implication in mediating allograft injury. The purpose of this review is to summarize the mechanisms of ER stress and to discuss its implication during tissue injury in solid organ transplantation. The possible implications of the ER stress in the modifications of cell functional properties and phenotypic changes are also discussed beyond the scope of adaptation and cell death. Increasing the understanding of the cellular and molecular mechanisms of acute and chronic allograft damages could lead to the development of new biomarkers and to the discovery of new therapeutic strategies to prevent the initiation of graft dysfunction or to promote the tissue regeneration after injury. ♦

GLOSSAIRE

- CsA** : ciclosporine
- ATF** : *activated transcription factor*
- CHOP** : *C/EBP homologous protein*
- eIF2 α** : *elongation initiation factor 2 α*
- ER** : *endoplasmic reticulum*
- ERSE** : *endoplasmic reticulum stress response element*
- GADD34** : *growth arrest and DNA damage inducible protein 34*
- GRP** : *glucose related protein*
- IR** : *ischemia-reperfusion*
- IRE1** : *inositol requiring enzyme 1*
- JNK** : *c-jun N-terminal kinase*
- NF- κ B** : *nuclear factor κ B*
- PERK** : *protein kinase RNA (PKR)-like ER kinase*
- TRAF2** : *tumor necrosis factor associated receptor 2*
- UPR** : *unfolded protein response*
- HTK** : *histidine-tryptophan-ketoglutarate*
- MAPK-SAPK** : *mitogen associated protein kinase-stress activated protein kinase*
- IC** : inhibiteur de la calcineurine
- BiP** : *immunoglobulin-binding protein*
- ASK** : *apoptosis signal-regulating kinase*

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Ellgaard L, Helenius A. Quality control in the endoplasmic reticulum. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; 4: 181-91.
2. Kaufman R, Scheuner D, Schroder M, et al. The unfolded protein response in nutrient sensing and differentiation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3: 411-21.
3. Mori K. Tripartite management of unfolded proteins in the endoplasmic reticulum. *Cell* 2000; 101: 451-4.
4. Ron D. Translational control in the endoplasmic reticulum stress response. *J Clin Invest* 2002; 110: 1383-8.
5. Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8: 519-29.
6. Xu C, Bailly-Maitre B, Reed J. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. *J Clin Invest* 2005; 115: 2656-64.
7. Zhang K, Kaufman RJ. From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. *Nature* 2008; 454: 455-62.
8. Boucheccarilh M, Chevet E. Stress du réticulum endoplasmique : une réponse pour éviter le pIRE. *Med Sci (Paris)* 2009; 25: 281-7.
9. Nankivell B, Borrows R, Fung C, et al. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med* 2003; 349: 2326-33.
10. Nankivell B, Chapman JR. Chronic allograft nephropathy: current concepts and future directions. *Transplantation* 2006; 81: 643-54.
11. Zhang K, Kaufman RJ. Signaling the unfolded protein response from the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 2004; 279: 25935-8.
12. Aragón T, van Anken E, Pincus D, et al. Messenger RNA targeting to endoplasmic reticulum stress signalling sites. *Nature* 2009; 457: 687-93.
13. Korennykh A, Egea P, Korostelev A, et al. The unfolded protein response signals through high-order assembly of Ire1. *Nature* 2009; 457: 687-93.
14. Han D, Lerner A, Vande Walle L, et al. IRE1alpha kinase activation modes control alternate endoribonuclease outputs to determine divergent cell fates. *Cell* 2009; 138: 562-75.
15. Oyadomari S, Mori M. Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress. *Cell Death Differ* 2004; 11: 381-9.
16. Montie H, Haezebrouck A, Gutwald J, DeGracia D. PERK is activated differentially in peripheral organs following cardiac arrest and resuscitation. *Resuscitation* 2005; 66: 379-89.
17. Kuznetsov G, Bush K, Zhang P, Nigam S. Perturbations in maturation of secretory proteins and their association with endoplasmic reticulum chaperones in a cell culture model for epithelial ischemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 8584-9.
18. Bando Y, Tsukamoto Y, Katayama T, et al. ORP150/HSP12A protects renal tubular epithelium from ischemia-induced cell death. *Faseb J* 2004; 18: 1401-3.
19. Emdali A, Nguyen D, Rochon C, et al. Distinct endoplasmic reticulum stress responses are triggered during human liver transplantation. *J Pathol* 2005; 207: 111-8.
20. Theruvath T, Czerny C, Ramsheh V. C-Jun N-terminal kinase 2 promotes injury via the mitochondrial permeability transition after mouse liver transplantation. *Am J Transplant* 2008; 8: 1819-28.
21. Boutros T, Nantel A, Emdali A, Tzimas G. The MAP Kinase phosphatase 1MKP-1/DUSP1 is a regulator of human liver response to transplantation. *Am J Transplant* 2008; 8: 2558-68.
22. Theruvath T, Snoddy M, Zhong Z. Mitochondrial permeability transition in liver ischemia and reperfusion: role of the c-jun N-terminal kinase 2. *Transplantation* 2008; 85: 1500-4.
23. Eberl T, Salvenmoser W, Rieger G, et al. Ultrastructural analysis of human endothelial cells after hypothermic storage in organ preservation solutions. *J Surg Res* 1999; 82: 253-60.
24. Moers C, Smits J, Maathuis M. Machine reperfusion or cold storage in deceased-donor kidney transplantation. *N Engl J Med* 2009; 360: 7-19.
25. Minor T, Manekeller S, Sioutis M, Dombrowski F. Endoplasmic and vascular surface activation during organ preservation: refining upon the benefits of machine perfusion. *Am J Transplant* 2006; 6: 1355-66.
26. Dutkowski P, Krug A, Kryciak M, Dunschede F. Detection of mitochondrial electron chain carrier redox status by transhepatic light intensity during rat liver reperfusion. *Cryobiology* 2003; 47: 125-42.
27. Harding H, Zeng H, Zhang Y, et al. Diabetes mellitus and exocrine pancreatic dysfunction in *per1-/-* mice reveals a role for translational control in secretory cell survival. *Mol Cell* 2001; 7: 1153-63.
28. Kim I, Xu W, Reed JC. Cell death and endoplasmic reticulum stress: disease relevance and therapeutic opportunities. *Nat Rev Drug Discov* 2008; 7: 1013-30.
29. Oyadomari S, Koizumi A, Takeda K, et al. Targeted disruption of the Chop gene delays endoplasmic reticulum stress-mediated diabetes. *J Clin Invest* 2002; 109: 525-32.
30. Scheuner D, Kaufman R. The unfolded protein response: A pathway that links insulin demand with beta-cell failure and death. *Endocr Rev* 2008; 29: 317.
31. Balla A, Chobanian M. New-onset diabetes after transplantation: a review of recent literature. *Curr Opin Organ Transplant* 2009; 14: 375-9.
32. Penforis A, Kury-Paulin S. Immunosuppressive drug-induced diabetes. *Diabetes Metab* 2006; 32: 539-46.
33. Drachenberg C, Klassen D, Weir M. Islet damage associated with tacrolimus and cyclosporine: morphological features in pancreas allograft biopsies and clinical correlation. *Transplantation* 1999; 68: 396-402.
34. Sahl B. c-Jun N-terminal kinases as potential therapeutic targets. *Expert Opin Ther Targets* 2007; 11: 1339-53.
35. Justo P, Lorz C, Sanz A, Egidio J, Ortiz A. Intracellular mechanisms of cyclosporin A-induced tubular cell apoptosis. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 3072-80.
36. Pallet N, Bouvier N, Bendjallabah A, et al. Endoplasmic reticulum stress triggers tubular phenotypic changes and death induced by cyclosporine. *Am J Transplant* 2008; 8: 2283-96.
37. Han SW, Li C, Ahn K, et al. Prolonged endoplasmic reticulum stress induces apoptotic cell death in an experimental model of chronic cyclosporine nephropathy. *Am J Nephrol* 2008; 28: 707-14.
38. Smith W, Pei Z, Tanaka Y, et al. Endoplasmic reticulum stress and mitochondrial cell death pathways mediate A53T mutant alpha-synuclein-induced toxicity. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 3801-11.
39. Desai K, Dikdan G, Shareef A, Koneru B. Ischemic preconditioning of the liver: a few perspective from the bench to the bedside translation. *Liver Transpl* 2008; 14: 1569-77.
40. Prachasilchai W, Sonoda H, Yokota-Ikeda N. A protective role of unfolded protein response in mouse ischemic acute kidney injury. *Eur J Pharmacol* 2008; 592: 138-45.
41. Qi X, Hosoi T, Okuma Y, Kaneko M, Nomura Y. Sodium 4-phenylbutyrate protects against cerebral ischemic injury. *Mol Pharmacol* 2004; 66: 899-908.
42. Izuhara Y, Nangaku M, Takizawa S, et al. A novel class of advanced glycation inhibitors ameliorates renal and cardiovascular damage in experimental rat models. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 497-509.
43. Kudo T, Kanamoto S, Hara H, et al. A molecular chaperone inducer protects neurons from ER stress. *Cell Death Differ* 2008; 15: 364-75.
44. Hynes J Jr, Leftheri K. Small molecule p38 inhibitors: novel structural features and advances from 2002-2005. *Curr Top Med Chem* 2005; 5: 967-85.
45. Durand F, Belghiti J. Transplantation hépatique chez l'adulte. *Med Sci (Paris)* 2005; 21: 89-94.
46. Foufelle F, Ferré P. La réponse UPR: son rôle physiologique et physiopathologique. *Med Sci (Paris)* 2007; 23: 291-6.

TIRÉS À PART

N. Pallet



Tarifs d'abonnement M/S - 2010

**Abonnez-vous
à Médecine/Sciences**

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès
des sciences biologiques et médicales

**Bulletin d'abonnement
page 337 dans ce numéro de m/s**



