

Apoptose

Mitochondries, pores, Bcl-2... une image apparaît dans le puzzle de l'apoptose

L'énergie déployée par tant d'excellents chercheurs des meilleurs laboratoires du monde pour résoudre l'énigme des mécanismes de l'apoptose ne peut qu'aboutir à des progrès rapides. Très récemment, ceux-ci ont porté sur trois points : les molécules de la famille Bcl-2/Bcl-X_L pourraient contribuer à la formation de pores au niveau des membranes intracellulaires. Ceux-ci pourraient intervenir dans la perméabilité de la membrane mitochondriale, notamment à des protéines activatrices de l'apoptose. Par ailleurs, les molécules anti-apoptotiques de la famille Bcl-2 pourraient également agir en titrant des activateurs endogènes de l'apoptose. Tout d'abord, la structure tridimensionnelle de la molécule Bcl-X_L a été résolue en 1996 et s'est révélée être similaire à celle du domaine formant des pores de toxines bactériennes telles que la toxine diphtérique et les colicines [1]. De fait, cette protéine peut s'insérer dans la membrane de vésicules lipidiques de synthèse ou d'une bicouche lipidique plane, formant un canal ionique sensible au pH (figure 1). La conductance de ce canal est maximale à pH acide, et beaucoup plus faible à pH neutre. Néanmoins, dans ces conditions, le canal devient spécifique des cations monovalents (K⁺ et Na⁺), [2]. On peut supposer, quoique cela n'ait pas été démontré, que la propriété de former des pores est partagée par les autres membres de la famille Bcl-2, anti-apoptotiques ou pro-apoptotiques. Peut-être peut-on même faire l'hypothèse que les propriétés de ces pores, leur perméabilité, dépendent de la nature des homo- ou hétéro-dimères formés, expliquant ainsi les effets différentiels de ces protéines sur l'apoptose.

Au niveau de la membrane mitochondriale, les protéines Bcl-2/Bcl-X_L pourraient ainsi contrôler la perméabilité à des protéines mitochondriales,

par exemple le cytochrome c qui est situé dans l'espace intermembranaire [3, 4], ou bien d'autres facteurs tels que AIF (*apoptosis-inducing factor*) [5]. Cependant, le cytochrome c et le facteur AIF semblent agir différemment l'un de l'autre.

Le cytochrome c apparaît dans le cytoplasme avant la dépolarisation de la membrane mitochondriale, qui est un phénomène assez tardif dans le déroulement de l'apoptose ; il induit l'activation de la cascade des protéases ICE (maintenant appelées cas-

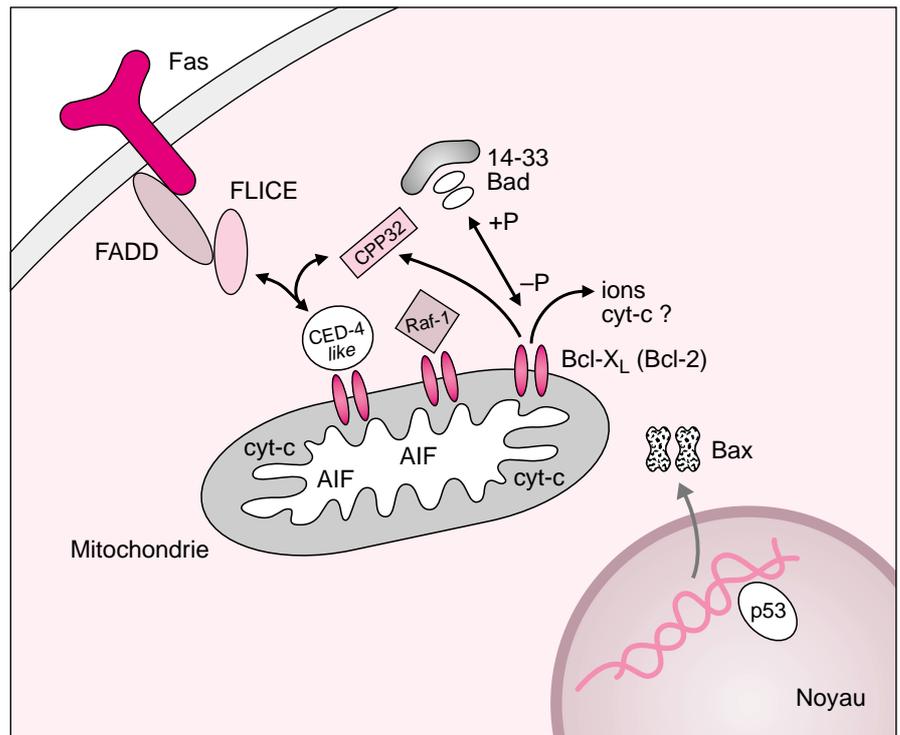


Figure 1. **Hypothèse concernant le mode d'action des molécules anti-apoptotiques Bcl-X_L et Bcl-2.** 1) Bcl-X_L pourrait former des pores au niveau des membranes intracellulaires, principalement la membrane mitochondriale externe, dont les propriétés pourraient être contrôlées par les membres pro-apoptotiques de la famille : Bax, dont le gène est activé par p53 ; Bad, qui se lie à 14.3.3 à l'état phosphorylé et à Bcl-X_L à l'état déphosphorylé. 2) Dans leurs configurations « pro-apoptotiques » (dimères Bcl-X_L/Bax, ou Bcl-X_L/Bad), ces protéines ne lieraient ni Raf-1, ni les équivalents hypothétiques de CED-4, et permettraient la fuite de cytochrome c et peut-être d'autres protéines (AIF) dans le cytoplasme. CED-4 et le cytochrome c activeraient, dans le cytoplasme, des caspases (FLICE, ICE, CPP32...). Les dimères anti-apoptotiques (Bcl-X_L, Bcl-2) recruteraient CED-4 et Raf-1 à la membrane et empêcheraient la libération de cytochrome c, et, peut-être, d'AIF. Ces différents mécanismes pourraient inhiber l'action de FLICE, une caspase directement associée à l'adaptateur FADD qui le relie au récepteur pro-apoptotique Fas.

pases, [6], et d'abord de la protéase CPP32. En revanche, AIF, probablement une protéase de 50 kDa, est libéré plus tardivement, parallèlement à la dépoliarisation de la membrane mitochondriale, et semble agir directement, indépendamment des caspases [6]. Dans ce schéma, les inconnues restent nombreuses: par quel mécanisme les protéines de la famille Bcl-2 inhibent-elles la libération du cytochrome c? Cet effet a-t-il un rapport avec la formation de pores, soit directement perméables au cytochrome c, soit à des ions intervenant comme co-facteurs de la libération du cytochrome c? Ultérieurement, par quel mécanisme le cytochrome c active-t-il les caspases? Enfin, une autre série de travaux insiste sur le rôle intermédiaire de la protéine CED-4 de *Caenorhabditis elegans* et d'éventuels équivalents chez les vertébrés entre Bcl-X_L et les caspases. CED-4 semble être un activateur de CED-3 et des caspases homologues de mammifères. CED-9, l'homologue chez *C. elegans* de Bcl-X_L et de Bcl-2, inhibe cette action de CED-4 sur l'activation de CED-3. Les travaux récents montrent que CED-4 peut interagir à la fois avec CED-9 et avec CED-3 et, dans un extrait cellulaire de mammifères, avec Bcl-X_L et les caspases ICE et FLICE (*FADD-linked ICE*; *m/s*, n° 11, vol. 12, p. 1263) [7]. Dans les extraits de mammifères, en l'absence de CED-4, Bcl-X_L peut également être co-précipité avec ces caspases ICE et FLICE, ce qui laisse supposer que pourrait exister dans ces extraits un équivalent fonctionnel de CED-4.

Dans des cellules humaines en culture transfectées avec un vecteur

d'expression pour CED-4, cette protéine est localisée dans le cytoplasme. Cependant, la co-expression dans ces cellules de CED-9, normalement localisé au niveau des membranes intracellulaires, entraîne un déplacement de CED-4 à ce niveau, probablement sous la forme d'un complexe avec CED-9. Un mutant de CED-9 incapable de se lier à la membrane a une distribution cytosolique, est inactif sur l'apoptose et est incapable de déplacer CED-4 [8]. L'association du complexe CED-9/CED-4 à la membrane, notamment mitochondriale, rappelle le rôle récemment démontré de Bcl-2 dans la localisation de la protéine kinase Raf-1 à ce même site [9].

Ces résultats suggèrent que les protéines anti-apoptotiques de la famille Bcl-2/Bcl-X_L pourraient jouer plusieurs rôles [10]: le premier serait lié à la formation de pores trans-membranaires, notamment mitochondriaux, réglant le passage dans le cytoplasme d'ions et (ou) de substances activatrices de l'apoptose. Le deuxième rôle serait d'être des protéines d'ancrages et des modulateurs d'autres régulateurs de l'apoptose tels que CED-4 et Raf-1 recrutés au niveau des membranes intracellulaires. L'activité de ces protéines pourrait être modulée par leur association aux membres pro-apoptotiques de la famille, Bax et Bad. Bax est un relai du pouvoir apoptotique de p53 (*m/s* n° 4, vol. 11, p. 635) alors que l'activité et la localisation de Bad sont contrôlées par phosphorylation [9]. La connexion de la caspase FLICE à l'adaptateur FADD, lui-même associé au récepteur Fas, indique qu'il existe une voie très

directe d'activation de la cascade protéolytique des caspases (*m/s* n° 11, vol. 12, p. 1263). Dans ce cas, les membres anti-apoptotiques de la famille pourraient inhiber l'activation des caspases par CED-4, et par ses équivalents supposés chez les vertébrés. Par ailleurs, un contrôle des mouvements ioniques entre les cytoplasmes et les organites intracellulaires pourrait également constituer un point de contrôle de l'apoptose.

A.K.

1. Muchmore SW, Sattler M, Liang H, Meadows RP, Harlan JE, Yoon H S, Nettesheim D, Chang BS, Thompson CB, Wong SL, Ng SC, Fesik SW. X-ray and NMR structure of human Bcl-X_L, and inhibitor of programmed cell death. *Nature* 1996; 381: 335-41.
2. Minn AJ, Vélez P, Schendel SL, Liang H, Muchmore SW, Fesik SW, Fill M, Thompson CB. Bcl-X_L forms an ion channel in synthetic lipid membranes. *Nature* 1997; 385: 353-7.
3. Yang J, Liu X, Bhalla K, Kim CN, Ibrado AM, Cai J, Peng TI, Jones DP, Wang X. Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science* 1997; 275: 1129-32.
4. Kluck RM, Bossy-Wetzel E, Green DR, Newmeyer DD. The release of cytochrome c from mitochondria: a primary site for Bcl-2 regulation of apoptosis. *Science* 1997; 275: 1132-6.
5. Kroemer G, Zamzami N, Susin SA. Mitochondrial control of apoptosis. *Immunol Today* 1997; 18: 44-55.
6. Alnemri ES, Livingston DJ, Nicholson DW, Salvesen G, Thornberry NA, Wong WW, Yan J. Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell* 1996; 87: 171.
7. Chinnaiyan AM, O'Rourke K, Lane BR, Kixit VM. Interaction of CED-4 with CED-3 and CED-9: a molecular framework for cell death. *Science* 1997; 275: 1122-6.
8. Wu D, Wallen HD, Nunez G. Interaction and regulation of subcellular localization of CED-4 by CED-9. *Science* 1997; 275: 1126-8.
9. De la Coste A, Perret C. Bad est-elle la protéine cible des facteurs de survie? *Med Sci* 1997; 13: 384-6.
10. Golstein P. Controlling cell death. *Science* 1997; 275: 1081-2.