

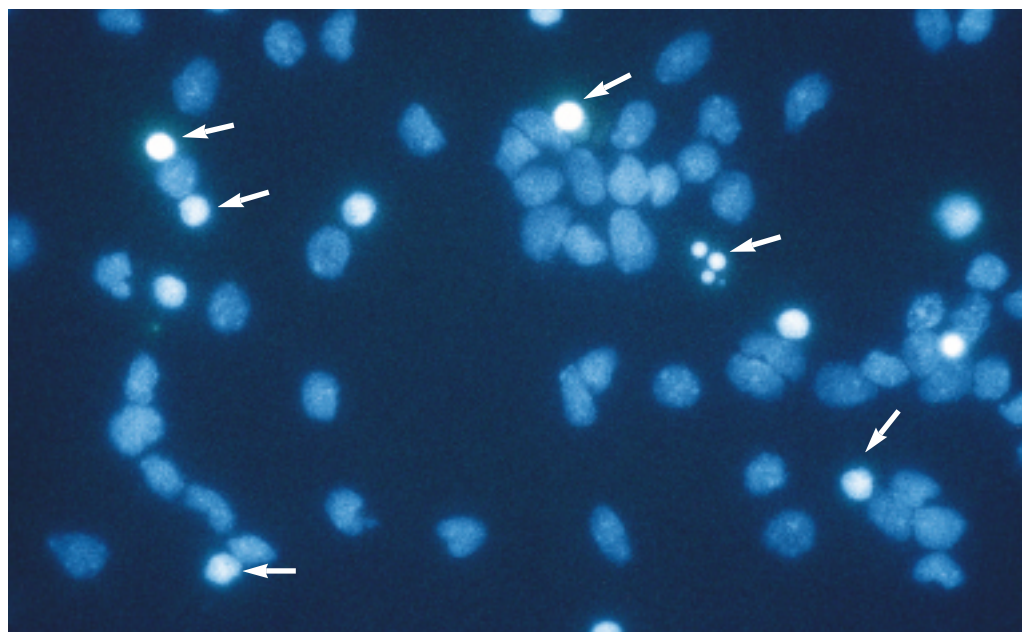
LE SUICIDE CELLULAIRE

Dans le combat de la cellule contre les lésions infligées à son ADN par des agents génotoxiques, et par des rayonnements ionisants notamment, la protéine p53 joue un rôle pivot. Elle intervient dans le contrôle de la prolifération et de la spécialisation cellulaire (différenciation) mais aussi dans le maintien de l'intégrité du génome. Elle peut orienter les cellules endommagées vers le suicide, ou apoptose, pour éviter le risque d'apparition de tumeurs qui seraient fatales à tout l'organisme. C'est par le dérèglement des programmes de suicide cellulaire que les cellules tumorales vont se développer. La connaissance approfondie des mécanismes de l'apoptose, pour les déclencher éventuellement à la demande, suscite de grands espoirs dans la thérapie du cancer.

58

● ● ● ● ●

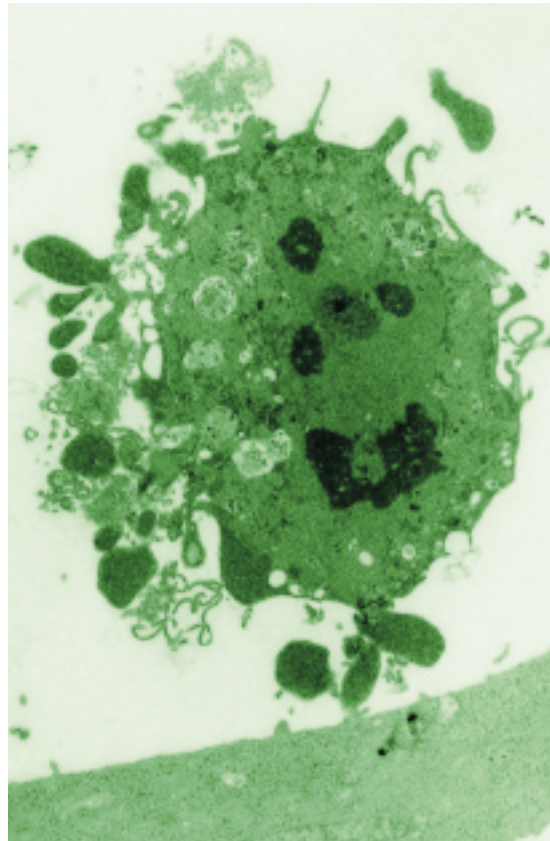
L'apoptose, mécanisme de mort cellulaire programmée, intervient fréquemment de façon naturelle ou peut être induite par l'action d'agents génotoxiques. Par exemple, lorsqu'un reptile mue, une nouvelle peau remplace l'ancienne dont les cellules sont mortes par apoptose. Ici, des noyaux de cellules du cortex cérébral de rat en culture après une irradiation de 1 Gy. Plusieurs cellules, repérées par des flèches, subissent l'apoptose.



CEA

Deux types de mort cellulaire

Chez l'adulte, la grande majorité des **cellules** sont à l'état **quiescent** mais quelques unes meurent alors qu'un nombre équivalent se divisent (encadré E, **Le cycle cellulaire : duplication sous contrôle**). C'est ce qui est observé par exemple dans des organes comme le foie ou le rein. Cependant, d'autres organes tels que la moelle osseuse, l'intestin grêle, le testicule ou la peau ont un renouvellement très élevé. Enfin, dans le cerveau, les neurones ne se divisent pas, ou très peu, et certains d'entre eux meurent progressivement tout au long de la vie de l'individu. Dans tous les cas, ces morts cellulaires sont isolées dans l'organe et donnent lieu à une phagocytose discrète. Les cellules mortes sont capturées, ingérées, digérées par des cellules voisines ou des cellules spécialisées, les **macrophages**, sans provoquer de réaction inflammatoire. Ce type de mort est activement mis en action par la cellule elle-même. C'est pourquoi le terme de *mort cellulaire programmée* ou **apoptose** est utilisé. La mue des insectes, des batraciens et des reptiles relève de ce mécanisme. Avant ce concept de mort cellulaire, le terme de **nécrose** était employé dans tous les cas. Aujourd'hui, ce terme est réservé à la mort cellulaire par foyer à la suite d'une modification de l'homéostasie⁽¹⁾ de la cellule, modification qui peut résulter d'une ischémie⁽²⁾, d'une hyperthermie, d'une agression par une substance chimique ou un choc physique. Les deux types de mort cellulaire, apoptose et nécrose, diffèrent par leur répartition dans le tissu et par les changements de la structure et de la morphologie cellulaire (encadré D, **La cellule, le maillon essentiel**). Au cours de l'apoptose, la cellule se contracte mais les **organites** (**mitochondries**, **appareil de Golgi** et **réticulum endoplasmique**) gardent leur aspect normal. Dans le **noyau**, la **chromatine** se condense puis se fragmente en **nucléosomes**. Enfin, la **membrane cytoplasmique** se rompt pour former des corps apoptotiques renfermant du **cytoplasme** avec des organites. Lors de la nécrose, la cellule et les organites gonflent puis éclatent en provoquant une



CNRS

réaction inflammatoire qui génère un foyer nécrotique.

L'apoptose est un processus qui joue un rôle primordial au cours de l'embryogenèse. Elle permet le modelage du nouvel être en éliminant des tissus ancestraux (la palmure des doigts, par exemple) ou l'établissement de la fonction du système nerveux et du système immunitaire. L'apoptose intervient aussi après l'action d'un **généotoxique** ou au cours d'une maladie. Dans le cas du cancer, il semble que l'apoptose soit réduite ou neutralisée pour autoriser la survie et laisser libre cours au développement des cellules cancéreuses.

Le rôle central de la protéine p53

L'**ADN** est la cible privilégiée de l'action des **rayonnements ionisants** qui induisent des cassures simple ou double **brin**. Cependant, les rayons ultraviolets et diverses substances chimiques, parmi lesquelles des molécules s'intercalant dans la molécule d'ADN, créent également des lésions de l'ADN. L'ensemble de ces dommages seraient reconnus directement par la partie C-terminale⁽³⁾ de la **protéine** p53 ou indirectement par

Vue au microscope électronique d'une cellule cancéreuse humaine de l'épithélium, dans laquelle a été introduite une molécule d'ADN conduisant à l'expression de la protéine p53, en phase terminale d'apoptose. La rupture de la membrane cytoplasmique a entraîné la formation de corps contenant du cytoplasme et des organites.

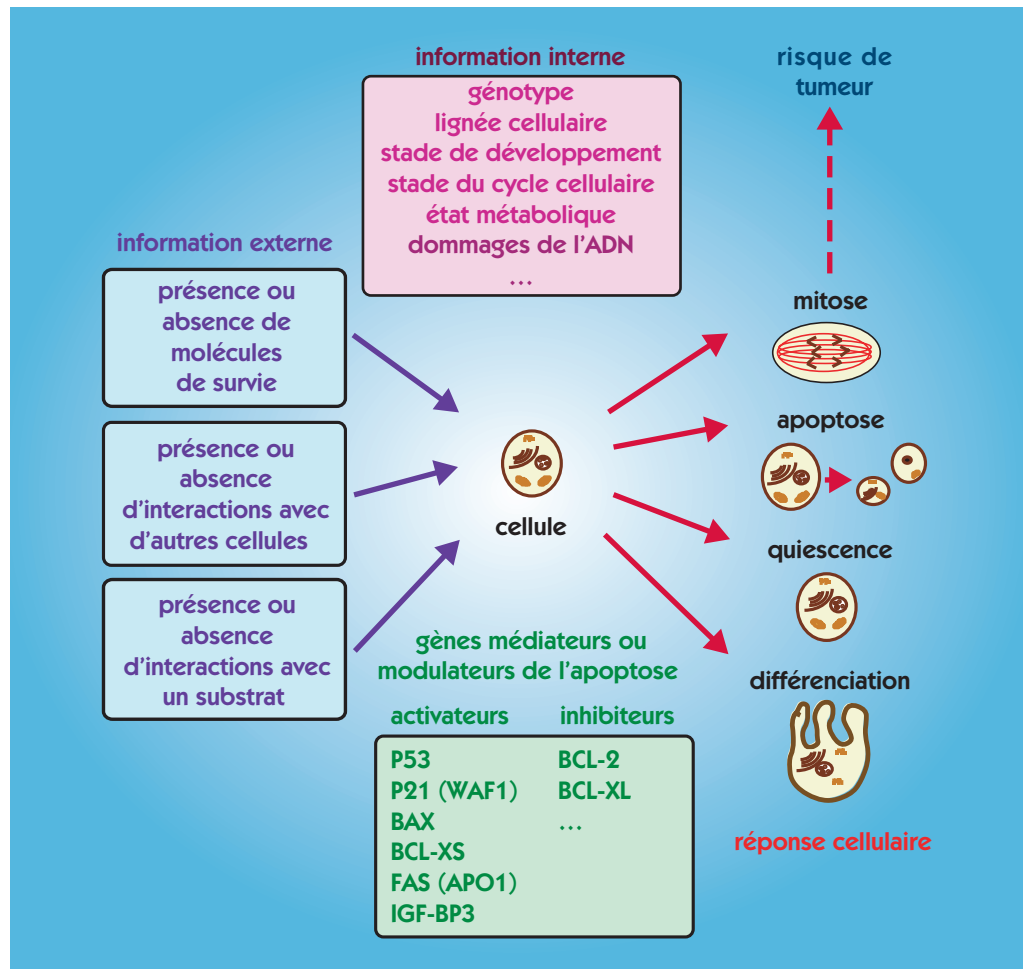


la protéine ATM (voir articles précédents). Cela provoque une activation de la protéine p53, produit du **gène suppresseur de tumeur** P53, qui active à son tour l'**expression** de plusieurs **gènes** dont P21 (WAF1-Cip-1), GADD45, BAX, MDM2...

La protéine p21 se complexe à des **cyclines** et à leurs **kinases** associées pour bloquer le cycle cellulaire à la transition G1/S (voir *Les gènes radio-induits*). Cet arrêt du cycle cellulaire permettrait à la cellule de réparer ses lésions avant d'entrer dans la phase de duplication de l'ADN (phase S). Si la réparation est impossible, incomplète ou infidèle, la protéine p53 orienterait alors la cellule vers l'apoptose en activant GADD45,

(1) Mécanisme visant chez les organismes vivants à maintenir ou à rétablir différentes constantes physiologiques quelles que soient les variations de l'environnement.
(2) Insuffisance de la circulation sanguine dans un organe ou un tissu.
(3) Les protéines, longs polymères d'**acides aminés** associés par des **liaisons peptidiques**, possèdent une extrémité **aminée** ou N-terminale ($-\text{NH}_3^+$) et une extrémité **carboxylique** ou C-terminale ($-\text{COO}^-$).

Figure 1. Les différentes réponses de la cellule en fonction de ses informations d'origines externe et interne.



FAS, IGF-BP3 (*Insulin Growth Factor Binding Protein*) et le **proto-oncogène** BAX.

La quantité de p53 présente dans la cellule est contrôlée par la protéine elle-même qui active l'expression du gène MDM2. En effet, la formation dans le noyau d'un complexe entre les protéines p53 et mdm2 entraîne le transport et la dégradation spécifique de p53 dans le cytoplasme. Ce mécanisme permet le redémarrage du cycle cellulaire après réparation.

Le choix d'une cellule de ne plus se diviser (arrêt en G1) ou de se diriger vers l'apoptose est guidé par de nombreux facteurs, les contacts intercellulaires notamment, et la présence ou l'absence de molécules de survie⁽⁴⁾ regroupant certains **métabolites**, des facteurs de croissance, des substances du système immunitaire (interleukines) et des **hormones**. La nature de la réponse dépend étroitement du type cellulaire. Sur des cellules en culture, une même **dose** d'irradiation va seulement bloquer le cycle cellulaire des **fibroblastes**, cellules du tissu

conjonctif, mais induire l'apoptose des thymocytes, cellules constitutives du thymus⁽⁵⁾. Chacun des facteurs qui régulent l'arrêt du cycle ou l'apoptose sont susceptibles de se combiner entre eux, donnant ainsi lieu à tout un éventail de possibilités qui détermineront le devenir de la cellule (figure 1).

Un suicide "organisé"

Après une irradiation, les cellules de la couche granulaire externe du cerveau du jeune rat meurent en grande quantité dans les 6 à 9 heures. L'injection d'actinomycine D (inhibiteur de synthèse d'**ARN**) ou de cycloheximide (inhibiteur de synthèse des protéines) empêche temporairement cette vague d'apoptose. L'activation de certains gènes de la cellule est donc nécessaire pour le développement apoptotique. C'est en étudiant les **mutations** chez un petit ver parasite, le *Caenorhabditis elegans*, que des gènes pro-apoptotiques CED-3 et CED-4 et un gène anti-apoptotique CED-9 ont été mis en évidence.

Chez les mammifères, les gènes équivalents sont respectivement ICE, APAF-1 et BCL-2. La protéine ICE (*Interleukine 1 Converting Enzyme*) fait partie de la famille des caspases⁽⁶⁾ qui s'activent les unes les autres en cascade puis activent finalement une endonucléase⁽⁷⁾ et de nombreuses autres **enzymes** chargées de modifier le **cytosquelette** et les protéines de la surface membranaire, permettant ainsi la phagocytose. L'apaf-1 est une molécule régulatrice de l'activité des caspases. La famille de bcl-2 est composée de deux sous-familles. L'une comprenant bcl-2 et bcl-xl favo-

(4) Molécules déclenchant des réactions intracellulaires favorisant la survie.

(5) Organe lymphoïde situé devant la trachée, particulièrement développé chez l'enfant et le jeune animal, et qui joue un rôle dans l'immunité.

(6) Enzymes contenant une molécule de Cystéine et une activité ASpartate protéase.

(7) Enzyme dégradant l'ADN, sauf au niveau de ses extrémités.

rise la survie, l'autre incluant bax, bak, bad, bcl-xs favorise la mort cellulaire.

La présence ou l'absence de **facteurs de survie** provenant de l'environnement cellulaire mais également l'état du **génom**e, qui conditionne le rôle de la protéine p53, vont encourager ou freiner le processus apoptotique. Le mécanisme d'action de la protéine bax est de se lier à la protéine de survie bcl-2. Elles forment alors des dimères et se neutralisent. Une augmentation de l'une ou de l'autre de ces protéines conduit à la constitution de dimères bcl-2-bcl-2 ou bax-bax, avantageant la survie ou la mort cellulaire. La surexpression de bcl-2 neutralise le complexe apaf-1-caspase et bloque l'apoptose. Par contre, un excès de bax favorise une perméabilisation de la **membrane mitochondriale** ainsi que la création d'un complexe cytochrome C-apaf-1-caspase, déclenchant le programme d'exécution de l'apoptose (figure 2).

Apoptoses naturelle et radio-induite

L'apoptose naturelle est très importante chez l'embryon et le fœtus à des périodes bien précises. Elle intervient par exemple pour éliminer les neurones n'ayant pas atteint leur cible, qui secrè-

tent des facteurs de survie, et ainsi affiner les connexions inter-neuronales. Ces phases d'apoptose naturelle concordent avec des phases de radiosensibilité ? Chez le rat, l'apoptose naturelle des neurones est abondante dans les jours qui suivent la naissance tandis que la phase de grande sensibilité de ces cellules à l'apoptose radio-induite se situe aux deux tiers de la gestation. La période d'apoptose naturelle correspond à la phase de synaptogenèse (pendant laquelle se forment les synapses, qui sont les connexions entre les neurones) alors que celle d'apoptose radio-induite se rapporte à la phase multiplicative des neuroblastes (neurones immatures). Chez l'adulte, les neurones ne se divisent pas (sauf un petit nombre d'entre eux) et sont peu sensibles à l'irradiation. Il existe donc des fenêtres de radiosensibilité au cours du développement embryonnaire et fœtal qui sont caractéristiques de chaque tissu. L'apoptose naturelle est indépendante de P53 car elle intervient normalement chez les souris dont le gène est invalidé, c'est-à-dire des souris qui n'expriment pas la protéine p53. Par contre, les cellules irradiées en phase multiplicative subissent l'arrêt du cycle en G1 et l'apoptose sous la dépendance de p53.

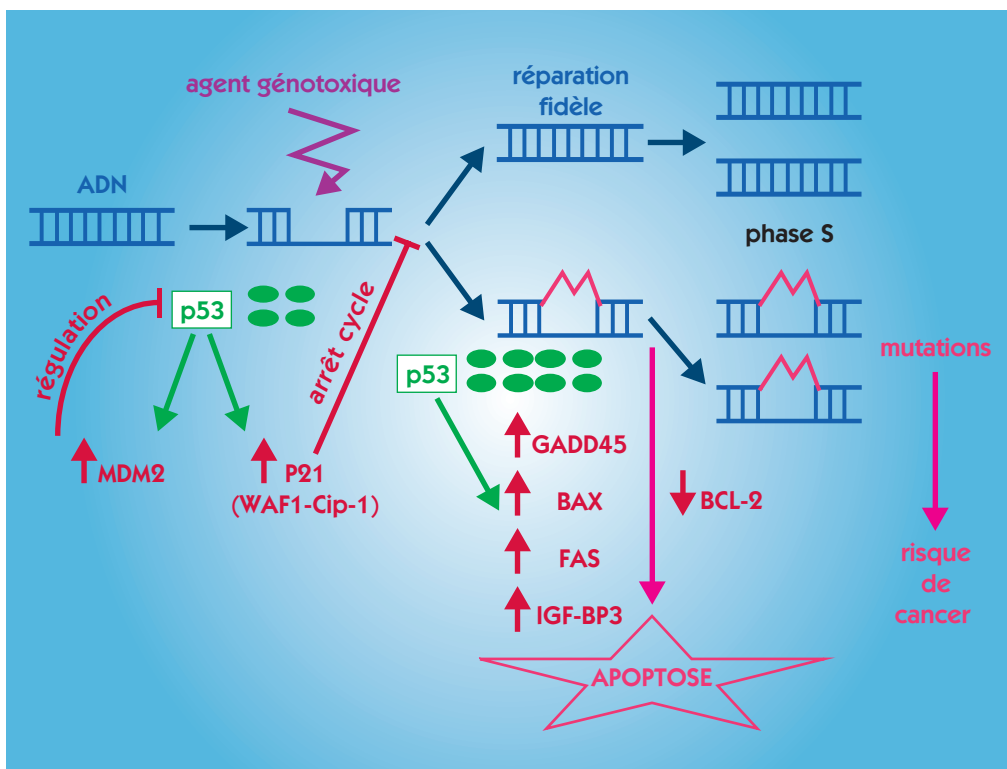
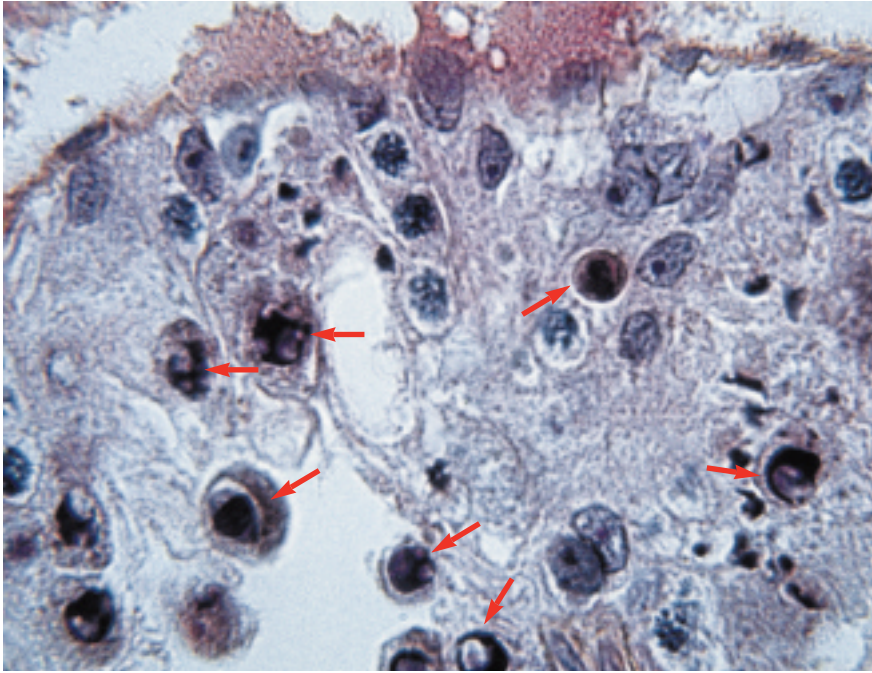


Figure 2. Les mécanismes de l'arrêt du cycle cellulaire et de l'apoptose induits par la protéine p53.



CEA

Cellules testiculaires de rat adulte après une irradiation à l'âge fœtal. De nombreuses cellules en apoptose parmi les spermatoocytes sont repérées par des flèches.



Au niveau de l'intestin de l'adulte, l'irradiation tue beaucoup de cellules de l'intestin grêle mais peu du côlon. Ceci s'explique par le fait que l'absence de la protéine bcl-2 dans l'intestin grêle favorise l'apoptose alors que son expression normale dans le côlon la freine. Les autres principaux tissus à renouvellement rapide de l'adulte subissent une apoptose radio-induite qui impliquerait la protéine p53. De même, la chimiothérapie provoque une apoptose généralisée dans ces tissus mais, heureusement, surtout dans les **tumeurs**.

La protéine p53 n'intervient pas seulement dans l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose. Elle est fortement exprimée durant la **prophase méiotique** des spermatoocytes, cellules **germinales** mâles, au cours de laquelle se forment les spermatides, cellules **haploïdes** ne possédant que la moitié du nombre des **chromosomes** propre à l'espèce, suggérant ainsi un rôle dans la recombinaison et les changements de structure de la chromatine.

Des espoirs dans la thérapie du cancer

Dans une tumeur, l'augmentation du nombre de cellules cancéreuses est le résultat d'une prolifération incontrôlée avec surexpression de proto-oncogènes particuliers mais aussi d'un taux d'apoptose limité ou nul. Ainsi, la surexpres-

sion de l'anti-apoptotique bcl-2, dans certaines tumeurs, permet la survie des cellules cancéreuses. Après exposition à un génotoxique, la majorité des cellules contenant des lésions non ou mal réparées sont éliminées par apoptose sous le contrôle de la protéine p53. La mutation du gène P53, qui favorise la survie de cellules porteuses d'anomalies, est une étape importante de la progression tumorale.

Le rôle primordial de la protéine p53 dans le développement tumoral est mis en évidence par le fait que des souris ayant les deux **allèles** du gène P53 inactivés meurent rapidement de diverses tumeurs dans les six premiers mois de leur existence. Ainsi, la réduction ou l'inhibition du suicide cellulaire apparaît-elle comme une étape clé de la cancérisation. C'est pourquoi la recherche de traitements favorisant l'apoptose radio- ou chimio-induite des cellules tumorales est un domaine en pleine effervescence. ●

Évelyne May et Hervé Coffigny

Département de radiobiologie
et de radiopathologie

Unité mixte de recherche CEA-CNRS
(UMR 217)

Direction des sciences du vivant
CEA/Fontenay-aux-Roses