

Contrôle de l'expression de Bcl-x_L par les facteurs de transcription Ets

La famille des facteurs de transcription *ets* comporte aujourd'hui plus de 30 membres qui sont impliqués dans de nombreux processus du développement dont l'hématopoïèse, l'angiogénèse et la vasculogénèse. Outre leur rôle dans les mécanismes de prolifération et de différenciation cellulaire, de nombreuses études suggèrent que les membres de la famille Ets interviennent aussi dans la survie des cellules. En particulier, des résultats récents révèlent que certains de ces facteurs contrôlent l'expression de Bcl-x_L, une protéine anti-apoptotique de la famille Bcl-2.

Les facteurs Ets sont définis par la présence d'un domaine d'environ 85 acides aminés appelé le domaine ETS qui est responsable de leur interaction avec l'ADN et de leur localisation nucléaire. Ets1, l'homologue cellulaire de v-Ets, la protéine virale du rétrovirus aviaire E26, fut le premier membre identifié. Un autre de ces facteurs de transcription, Ets2, présente une homologie de 97 % au niveau du domaine ETS, tandis que PU.1/Spi-1 est le membre le plus divergent, avec seulement 37 % d'identité (revue dans [1]) (figure 1).

Rôles des facteurs Ets et de Bcl-x_L dans le développement hématopoïétique

Ces trois facteurs Ets sont des facteurs cruciaux du développement des cellules de la lignée hématopoïétique. Ets1 et Ets2 sont notamment impliqués dans le développement et la maturation des cellules T et sont exprimés de façon spécifique et réciproque pendant toutes les étapes de ce processus [2, 3]. Ainsi, un haut niveau d'expression de Ets1 implique

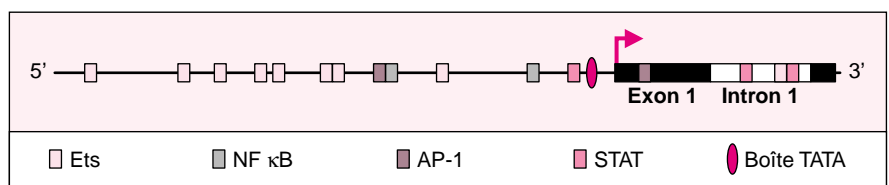


Figure 1. Structure de la séquence régulateur du gène *bcl-x_L* humain. Les sites de liaison pour les facteurs de la famille Ets, Rel/NFκB, STAT et AP-1 ont été déterminés par MatInspector Program. Les motifs consensus conservés, la boîte TATA, les exons, et le site majeur d'initiation de la transcription (+1) sont indiqués sur la figure. Positions, et orientations sur les brins positifs (+) ou négatifs (-) des neuf séquences EBS pour ets binding sites du promoteur *bcl-x*.

généralement un bas niveau de Ets2 dans la même cellule, et réciproquement. En outre, Ets2 est aussi exprimé par les macrophages primaires, venant de la moelle osseuse, et stimulés par le CSF-1 (*colony stimulating factor 1*), un facteur de croissance nécessaire à la différenciation et à la survie des macrophages [4]. Quant au facteur PU.1, il est fortement exprimé par les progéniteurs multipotents myéloïdes et B, ainsi que par les cellules B différenciées, les monocytes et les macrophages. Son rôle dans le développement hématopoïétique a d'ailleurs été démontré grâce à l'étude des souris *pu.1^{-/-}* qui sont dépourvues de neutrophiles, de cellules B et de macrophages [5, 6].

En ce qui concerne Bcl-x_L, elle est considérée comme la protéine anti-apoptotique clé exprimée dans les lignées hématopoïétiques dont les précurseurs myéloïdes et les macrophages, et impliquée dans certains stades de maturation des cellules lymphoïdes B et T. Son importance dans l'hématopoïèse a été confirmée par l'obtention de souris invalidées pour le gène *bcl-x*, qui meurent entre le 12^e

et le 13^e jour du développement embryonnaire du fait d'une apoptose massive des précurseurs neuronaux et hématopoïétiques [7]. L'expression de Bcl-x_L est augmentée par de nombreux facteurs, tels le CSF-1 ou l'interleukine 3 dans les cellules myéloïdes [8, 9]. En outre, elle est élevée de façon constitutive, même en l'absence de cytokines, dans des lignées tumorales myéloïdes ou des cellules T de souris comportant des insertions rétrovirales [8].

Facteurs Ets, apoptose et expression de Bcl-x_L

L'hypothèse d'un rôle direct des facteurs Ets, en particulier Ets2, sur l'expression de Bcl-x_L repose sur les cinétiques identiques de variation d'expression de ces deux protéines pendant la différenciation des macrophages. Dans la lignée macrophagique BAC1.2F5, dont la survie dépend de la présence de CSF-1, l'ajout de ce facteur de croissance provoque une augmentation de l'expression de Ets2 et Bcl-x_L. En l'absence de CSF-1, la surexpression de Ets2 permet aux cellules d'échap-

per à l'apoptose, et s'accompagne d'une augmentation de l'expression de Bcl-x_L [9]. La surexpression simultanée de PU.1 provoque un effet synergique pour la survie des cellules [4], ces effets étant abolis par la surexpression de mutants dominants négatifs de l'un ou l'autre facteur de transcription. De même, la différenciation des macrophages à partir de cellules de moelle osseuse de souris stimulées par les CSF-1 s'accompagne d'une augmentation simultanée de l'expression de Ets2 et Bcl-x_L. Ici encore, le retrait du CSF-1 provoque l'apoptose des macrophages primaires et la diminution de ces deux facteurs [4].

Si plusieurs mécanismes interviennent vraisemblablement dans cet effet des facteurs Ets sur la survie des cellules, la transactivation directe du gène *bcl-x* est probablement le principal. On dénombre en effet neuf sites de liaison des facteurs Ets dans un fragment de 700 pb dans la partie amont du gène humain [9] (*figure 1*), qui couvre deux régions régulatrices précédemment identifiées sur le gène *bcl-x* : la première correspond au promoteur, et la seconde se trouve dans le premier intron facultatif [10]. Ces sites de liaison des facteurs Ets sur *bcl-x* sont hautement conservés au cours de l'évolution puisque l'on observe une homologie supérieure à 70 % entre la souris et l'homme [10].

Des études de transfection transitoire dans les cellules 293 (une lignée transformée d'épithélium de rein humain) ont permis de montrer que les facteurs Ets2, Ets1 et PU.1 provoquent effectivement une augmentation de l'activité du promoteur de *bcl-x* [9]. On observe, comme pour la survie des macrophages, un phénomène de synergie entre Ets2 et PU.1 dans

cette transactivation, et cet effet nécessite la présence de chacun des deux domaines transactivateurs de ces deux facteurs de transcription, et l'intégrité du promoteur *bcl-x* [4].

Enfin, on sait que la surexpression de Bcl-x_L bloque, *in vitro*, l'activité de la protéine pro-apoptotique Bax, en formant notamment des hétérodimères inactifs [11]. Dans ce même système cellulaire, la surexpression simultanée de Ets2 et de PU.1 a le même effet anti-apoptotique que la surexpression de Bcl-x_L [4].

L'ensemble de ces résultats indiquent que ces deux membres de la famille Ets activent de façon synergique l'expression de *bcl-x*, ce qui protège les cellules contre la mort cellulaire programmée. D'autres facteurs de transcription, comme Rel/NF-κB, STAT et AP-1, qui contrôlent aussi la transcription de *bcl-x*, pourraient avoir des fonctions similaires dans les cellules hématopoïétiques (*figure 1*) [12]. Cependant, des études plus approfondies seront nécessaires pour pleinement appréhender les mécanismes moléculaires spécifiques qui contrôlent le gène *bcl-x* dans les différents tissus et les différentes situations physiologiques rencontrées.

1. Ghysdael J, Boureux A. The ETS family of transcriptional regulators In : Yaniv, M. and Ghysdael, J., eds. *Oncogenes as Transcriptional Regulators: Retroviral Oncogenes*. Basel: Birkhauser, 1997: 29-88.
2. Pognonec P, Boulukos KE, Gegonne A, Bailly M, Stéhelin D, Ghysdael J. Identification and differential expression of the proteins encoded by the *c-ets-1* and *c-ets-2* proto-oncogenes. *Arch Int Physiol Bioch* 1987; 96: B51.
3. Pognonec P, Boulukos KE, Gesquière JC, Stéhelin D, Ghysdael J. Mitogenic stimulation of thymocytes results in the calcium-dependent phosphorylation of c-Ets-1 proteins. *EMBO J* 1988; 7: 975-81.

4. Sevilla L, Zaldumbide A, Carlotti F, *et al*. Bcl-x_L expression correlates with primary macrophage differentiation, activation of functional competence and survival, and results from synergistic transcriptional activation by Ets2 and PU.1. *J Biol Chem* 2001; 276: 17800-7.

5. Scott EW, Simon MC, Anastasi J, Singh H. Requirement of transcription factor PU.1 in the development of multiple hematopoietic lineages. *Science* 1994; 265: 1573-7.

6. McKercher S, Torbett B, Anderson K, *et al*. Targeted disruption of the PU.1 gene results in multiple hematopoietic abnormalities. *EMBO J* 1996; 15: 5647-58.

7. Motoyama N, Wang F, Roth KA, *et al*. Massive cell death of immature hematopoietic cells and neurons in Bcl-x-deficient mice. *Science* 1995; 267: 1506-10.

8. Packham G, White EL, Eischen CM, *et al*. Selective regulation of Bcl-x_L by a Jak kinase-dependent pathway is bypassed in murine hematopoietic malignancies. *Genes Dev* 1998; 12: 2475-87.

9. Sevilla L, Aperlo C, Dulic V, *et al*. The Ets2 transcription factor inhibits apoptosis induced by CSF-1 deprivation of macrophages through a Bcl-x_L-dependent mechanism. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 2624-34.

10. Grillot DA, Gonzalez-Garcia M, Ekhterae D, *et al*. Genomic organization, promoter region analysis, and chromosome localization of the mouse *bcl-x* gene. *J Immunol* 1997; 158: 4750-7.

11. Chang BS, Kelekar A, Harris MH, Harlan JE, Fesik SW, Thompson CA. The BH3 domain of Bcl-x(S) is required for inhibition of the anti-apoptotic function of Bcl-x(L). *Mol Cell Biol* 1999; 19: 6673-81.

12. Sevilla L, Zaldumbide A, Pognonec P, Boulukos KE. Transcriptional regulation of the *bcl-x* gene encoding the anti-apoptotic Bcl-x_L protein by Ets, Rel/NFκB, STAT and AP1 transcription factor families. *Histol Histopathol* 2001; 16: 595-601.

Arnaud Zaldumbide
Lidia Sevilla
Philippe Pognonec
Kim E. Boulukos

Institut de signalisation, biologie du développement et cancer, centre de biochimie, Université de Nice, Faculté des sciences, parc Valrose, 06108 Nice Cedex 02, France.