

***L* La thérapie génique des hépatites fulminantes est-elle envisageable?**

Effets protecteurs d'un transgène bcl-2 vis-à-vis de l'apoptose hépatique induite par le système Fas (CD95/APO-1)

Largement conservée au cours de l'évolution, l'apoptose joue un rôle central dans l'embryogenèse, l'organisation du système nerveux central, le développement et la régulation du système immunitaire, ou encore les défenses de l'organisme contre les agressions toxiques, infectieuses ou immunologiques.

Parmi les nombreux signaux inducteurs d'apoptose, la voie de Fas (CD95/APO-1) est rapidement apparue déterminante pour le fonctionnement des cellules immuno-compétentes, lymphocyte T cytotoxique CTL et cellule *natural killer* NK [1]. Fas est un récepteur membranaire présent à la surface de cellules de nombreux tissus, tels que le thymus, le cœur, le rein ou le foie. L'interaction de Fas avec son ligand physiologique, FasL (*Fas ligand*), dont l'expression à la surface des cellules immuno-compétentes est induite par leur stimulation, engendre un signal intracellulaire encore mal connu, mais dont une des étapes ultimes est le clivage de protéases à cystéine inactives en protéases actives, dont l'ICE (*interleukin-1 converting enzyme*) est le membre fondateur (*m/s* n° 2, vol. 10, p. 232; n° 7, vol. 11, p. 1053) [2]. Cette activation de protéases à cystéine est ensuite suivie du suicide ou apoptose de la cellule cible.

Une fois leur fonction remplie, ces cellules cytotoxiques sont éliminées par apoptose à la suite de l'interaction paracrine ou autocrine de Fas et de son ligand à la surface cellulaire [1]. Un dysfonctionnement de la

voie de Fas, soit déficiente en cas de mutations spontanées de Fas ou du FasL (*souris lpr, gld*), soit suractivée au cours, par exemple, de maladies virales, semble impliqué dans la pathogénie de nombreuses maladies auto-immunes, syndromes lympho-

prolifératifs, ou maladies infectieuses comme le SIDA ou les hépatites virales [3].

Si le système Fas a rapidement été mis au devant de la scène dans le domaine de l'immunité, son rôle en hépatologie va grandissant.

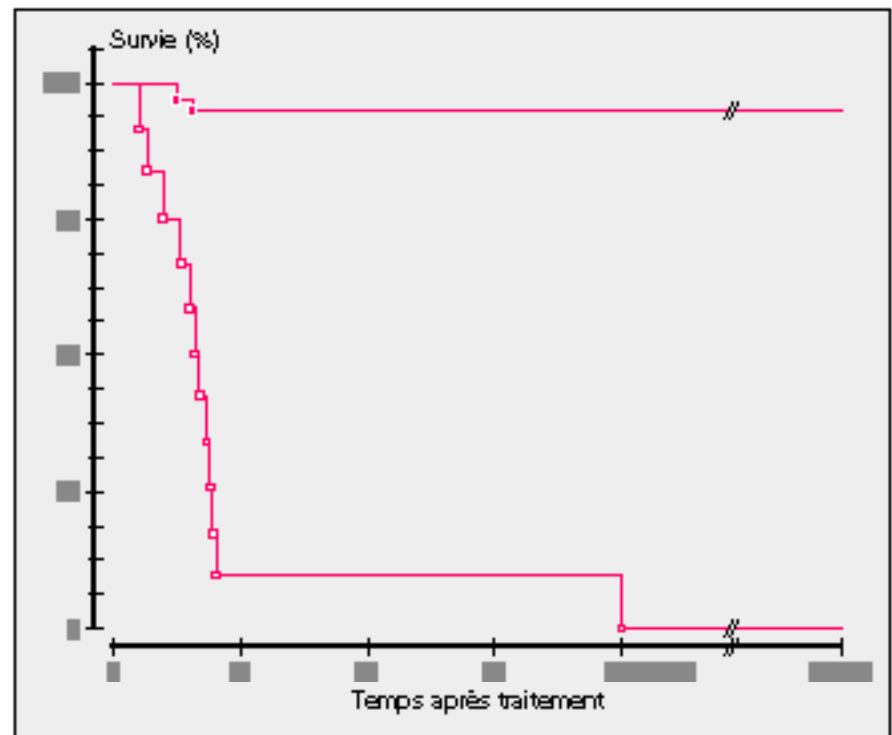


Figure 1. **Effet de Bcl-2 sur la survie de souris traitées par un anticorps anti-Fas.** Douze souris témoins (fratries de transgéniques) sur douze meurent d'une hépatite apoptotique en 40 heures après l'administration intraveineuse de 10 µg de Jo2, un anticorps agoniste anti-Fas. Vingt-huit souris transgéniques bcl-2 sur trente survivent au même traitement.

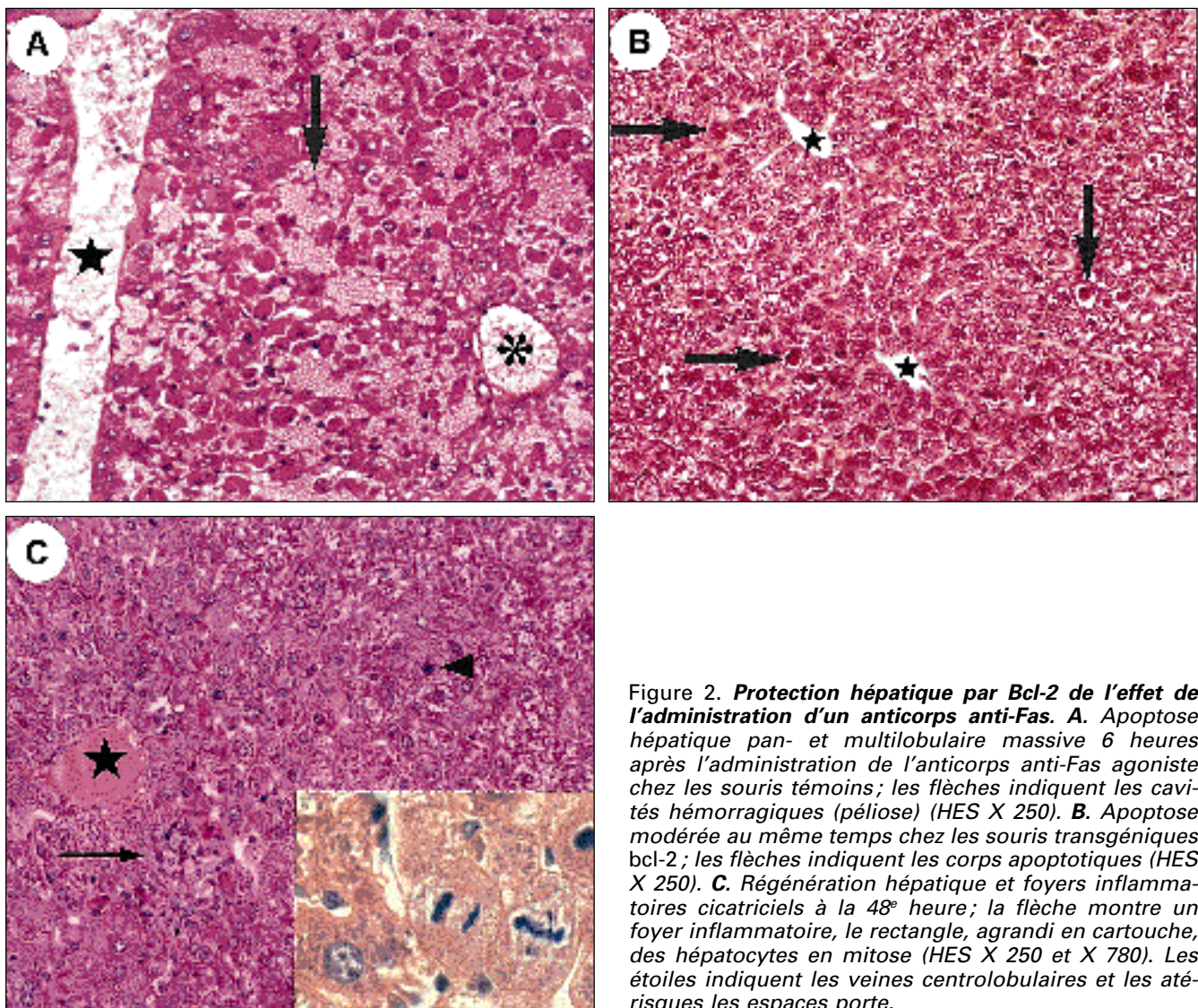


Figure 2. **Protection hépatique par Bcl-2 de l'effet de l'administration d'un anticorps anti-Fas.** **A.** Apoptose hépatique pan- et multilobulaire massive 6 heures après l'administration de l'anticorps anti-Fas agoniste chez les souris témoins; les flèches indiquent les cavités hémorragiques (pélioze) (HES X 250). **B.** Apoptose modérée au même temps chez les souris transgéniques bcl-2; les flèches indiquent les corps apoptotiques (HES X 250). **C.** Régénération hépatique et foyers inflammatoires cicatriciels à la 48^e heure; la flèche montre un foyer inflammatoire, le rectangle, agrandi en cartouche, des hépatocytes en mitose (HES X 250 et X 780). Les étoiles indiquent les veines centrolobulaires et les atérisques les espaces porte.

- En effet, le développement (initialement à visée antitumorale) d'anticorps agonistes anti-Fas, mimant l'effet du FasL sur les cellules cibles, induit en fait chez la souris une hépatite fulminante mortelle en quelques heures [4], tandis que la suractivation du système Fas/FasL est impliquée dans d'autres modèles murins d'hépatites virales. Ainsi, la stimulation des cellules cytotoxiques par des épitopes étrangers, viraux particulièrement, doit permettre l'élimination des cellules infectées, mais une suractivation du système Fas/FasL peut entraîner la destruction massive des

cellules infectées comme des cellules saines et conduire en cela aux tableaux dramatiques grevés d'une lourde mortalité (> 80 %) observés lors des hépatites fulminantes.

- Les souris dont les deux allèles du gène *fas* ont été invalidés par recombinaison homologue présentent, outre une hyperplasie du système lymphoïde, une hyperplasie hépatique mise sur le compte d'un excès d'hépatocytes sénescents non éliminés du fait de la déficience de l'apoptose relayée par Fas [5].

- Enfin, l'équipe de Kramer (Heidelberg, RFA) étudiant l'implication

de Fas dans différentes hépatopathies chez l'homme confirme, à partir d'hépatocytes humains en culture primaire, l'existence d'une apoptose hépatocytaire relayée par Fas, ainsi que la surexpression de Fas et de FasL dans les hépatites virales, les hépatites fulminantes, et les hépatopathies alcooliques [6].

Ainsi, l'apoptose passant par Fas devient-elle un enjeu thérapeutique, qu'il s'agisse de l'activer en cancérologie, ou de l'inhiber ou de la moduler, par exemple en hépatologie. A ce titre, l'utilisation d'inhibiteurs d'ICE et d'autres membres de la famille de

protéases à cystéine, effecteurs de la voie de Fas, mérite d'être évaluée [2]. Une autre stratégie consiste à inhiber les messages d'apoptose au niveau cellulaire en activant ou en transférant des gènes anti-apoptotiques comme *bcl-2*. *bcl-2* est le membre fondateur d'une famille toujours croissante de gènes (*bcl-x*, *bax*, *bak*, *bad*, etc.) codant pour des protéines soit pro, soit anti-apoptotiques [2]. Leurs mécanismes d'action intime restent encore mal connus, mais semblent résulter d'équilibres fragiles entre les formes pro- et anti-apoptotiques, *via* des jeux multiples d'homo- ou hétéro-dimérisation, comme par exemple, entre Bcl-2 et Bax. Ainsi, un homodimère Bax est-il pro-apoptotique, tandis que Bcl-2, conduisant à l'hétérodimère Bcl-2/Bax, est capable d'inhiber les effets pro-apoptotiques de Bax [2]. Les propriétés anti-apoptotiques de Bcl-2 ont été largement établies *in vitro* comme *in vivo*, dans des situations mettant en jeu des processus apoptotiques, comme la privation en facteurs de croissance, les radiations ionisantes ou les produits cytotoxiques utilisées en chimiothérapie [7].

Des travaux récents de Lacronique *et al.* (U.129 et U.380 de l'Inserm, ICGM, Paris) [8] permettent pour la première fois d'établir ces mêmes propriétés anti-apoptotiques de Bcl-2 *in vivo* dans un modèle d'apoptose massive relayée par Fas. En effet, des souris transgéniques exprimant *bcl-2* dans le foie, dans lesquelles son expression constitutive est pratiquement nulle, ont été engendrées. Ces souris transgéniques ont pu être protégées de l'hépatite fulminante induite par un anticorps agoniste de Fas, mortelle en 40 heures chez toutes les souris non transgéniques de la même fratrie (figure 1). Tandis que chez les souris témoins, une apoptose massive pan- et multi-lobulaire était observée 6 heures après traitement (figure 2A), une apoptose hépatique modérée et non létale était constatée chez les souris transgéniques au même temps (figure 2B). Dans les 48 heures suivantes, des foyers inflammatoires ainsi qu'une régénération hépatique étaient observés chez les souris transgéniques *bcl-2* (figure 2C), tandis que

les examens histologiques réalisés à partir du 5^e jour mettaient en évidence une récupération *ad integrum* du foie. De plus, alors que les souris transgéniques *bcl-2* résistaient à l'apoptose hépatique rapide et massive, elles ne souffraient d'aucune lésion dans d'autres tissus que le foie exprimant eux aussi le récepteur Fas : cela suggère que ces tissus sont moins sensibles que le foie à l'effet pro-apoptotique du signal lié à l'activation de Fas, du fait probablement d'une protection naturelle conférée par des molécules anti-apoptotiques endogènes, telles que Bcl-2.

Ces résultats significatifs et prometteurs permettent dès à présent d'envisager un nouveau programme de recherche visant à utiliser *bcl-2* et ses propriétés anti-apoptotiques dans des situations pathologiques impliquant une apoptose massive et menaçante, qu'il s'agisse des hépatites fulminantes virales ou, peut-être, des hépatites médicamenteuses. Enfin, le rôle protecteur de molécules anti-apoptotiques ou d'inhibiteurs de la voie relayée par Fas vis-à-vis des rejets après greffe hépatique mériterait d'être testé.

A.M.
V.L.

1. Golstein P. Deux mécanismes moléculaires pour la cytotoxicité T : perforine/granzymes et Fas. *médecine/sciences* 1995; 11: 99-104.
2. Martinou JC. La mort cellulaire programmée dans le système nerveux. *médecine/sciences* 1995; 11: 367-73.
3. Nagata S, Golstein P. The Fas Death Factor. *Science* 1995; 267: 1449-56.
4. Ogasawara J, Watanabe-Fukunaga R, Adashi M, Matsuzawa A, Kasugai T, Kitamura Y, Itoh N, Suda T, Nagata S. Lethal effect of the anti-Fas antibody in mice. *Nature* 1993; 364: 806-9.
5. Adashi M, Suematsu S, Kondo T, Ogasawara J, Tanaka T, Yoshida N, Nagata S. Targeted mutation in the Fas gene causes hyperplasia in peripheral lymphoid organs and liver. *Nature Genet* 1995; 11: 294-300.
6. Galle PR, Hofmann WJ, Walczak H, Schaller H, Otto G, Stremmel W, Krammer PH, Runkell L. Involvement of CD95 (Fas/APO-1) in human liver damage. *J Exp Med* 1995; 182: 1223-30.
7. Reed JC. Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *J Cell Biol* 1994; 124: 1-6.
8. Lacronique V, Mignon A, Fabre M, Viollet B, Rouquet N, Molina T, Porteu A, Henrion A, Bouscary D, Varlet P, Joulin V, Kahn A. Bcl-2 protects from lethal hepatic apoptosis induced by an anti-Fas antibody in mice. *Nature Med* 1996 (sous presse).



LA COLONISATION MICROBIENNE DES VOIES RESPIRATOIRES

Pierre GEHANNON, Paul LEOPHONTE, Yves MOUTON

- Cet ouvrage rassemble les actes des premières rencontres et échanges sur les pathologies infectieuses respiratoires, l'épidémiologie, la sensibilité des germes aux antibiotiques, la conception globale des traitements, leur durée et leur coût.
- Un débat multidisciplinaire s'imposait entre les ORL, infectiologues, cliniciens, microbiologistes, pneumologues, pédiatres, réanimateurs et internistes.

REESPIR

1995 - Coédition Laboratoires Glaxo/
John Libbey Eurotext
296 pages, broché

ISBN : 2-7420-0085-2

Prix : 190 FF



BON DE COMMANDE

à retourner aux éditions 
127, avenue de la République
92120 MONTROUGE, FRANCE
Tél. : 46.73.06.60 - Fax : 40.84.09.99

NOM :
Prénom :
Adresse :
.....
CP : Ville :
Pays :

- La colonisation microbienne des voies respiratoires
- 190 F + 30 F de port soit 220 F