

Les mitochondries, carrefour entre vie et mort cellulaire : rôles des protéines de stress et conséquences sur l'inflammation

**Barbara S. Polla
Nathalie Banzet
Josette Dall'Ava
André Patrick Arrigo
Antonio M. Vignola**

Les protéines de *stress*, ou protéines *heat shock* (HSP) exercent une fonction essentielle dans la vie cellulaire et la survie en conditions de *stress*, du fait de leur rôle de chaperon moléculaire. L'induction des HSP consécutive à un prétraitement thermique ou à la surexpression de leurs gènes, conduit à une tolérance générale aux *stress* cellulaires et à l'inhibition des processus apoptotiques associés. La mitochondrie serait le centre décisionnel entre survie ou mort cellulaire, et entre mort par nécrose ou mort par apoptose. Ces phénomènes jouent un rôle-clé dans les processus inflammatoires, car le type de mort cellulaire en détermine l'évolution : l'inflammation est amplifiée par la nécrose, elle peut être limitée par l'apoptose. Cependant, si l'effet anti-apoptotique des HSP n'est pas finement réglé, il pourrait, *in fine*, contribuer à une chronicisation de l'inflammation. La maladie asthmatique, inflammation chronique des voies aériennes supérieures, peut être considérée comme une affection modèle dans l'illustration de ces concepts.

ADRESSES

B.S. Polla : directeur de recherche à l'Inserm. N. Banzet : docteur ès sciences. J. Dall'Ava : professeur. Laboratoire de physiologie respiratoire, UFR Cochin Port-Royal, Université Paris V, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France. A.P. Arrigo : professeur. Laboratoire du stress cellulaire, CGMC, Cnrs UMR 5534, Université Claude-Bernard, Lyon I, 43, boulevard du 11-Novembre, 69622 Villeurbanne, France. A.M. Vignola : chef de laboratoire. Istituto di Fisiopatologia Respiratoria, CNR, via Trabucco 180, 90145 Palermo, Italie.

Les mitochondries sont revenues à la mode, particulièrement du fait de leur implication dans l'apoptose [1-3]. Plusieurs groupes ont en effet récemment suggéré que le « choix » cellulaire entre les deux types de mort cellulaire que nous reconnaissons aujourd'hui, la nécrose et l'apoptose, se fait au niveau mitochondrial ([4, 5] et *p. 54 de ce numéro*). Des arguments militent en faveur d'un rôle déterminant des protéines *heat shock* (*heat shock proteins*, HSP), et en particulier, d'HSP70 et HSP27 dans la régulation de ce « choix » de mort – ou de survie – cellulaire. Or, l'évolution des réactions inflammatoires dépend étroitement du type de mort cellulaire, en particulier du degré d'apoptose. La protéine HSP70, en synergie avec

HSP27, par l'intermédiaire de ses effets sur les concentrations d'ATP, pourrait limiter l'inflammation en protégeant contre la nécrose ou, au contraire, la rendre chronique en inhibant l'apoptose. L'asthme est un paradigme de réaction inflammatoire dans laquelle une inhibition de l'apoptose pourrait être associée à la chronicisation de l'inflammation.

Les protéines de stress

Les protéines de *stress*, ou HSP, forment une famille de protéines remarquablement conservées au long de l'évolution, qui exercent des fonctions essentielles à la vie cellulaire et plus encore à la survie lors de *stress*, qu'ils soient physiques, chimiques, ou métaboliques. Les HSP, ou du moins certaines d'entre elles comme l'HSP70, l'HSP90, l'HSP65, les GRP (*glucose regulated proteins*), et l'HSP27, agissent comme chaperons moléculaires, liant les peptides ou protéines en cours de synthèse ou à fort risque d'agrégation, et permettant leur repliement correct ainsi que leur translocation dans leurs compartiments subcellulaires définitifs. Les différentes HSP exercent ces fonctions de chaperon dans des compartiments subcellulaires spécifiques au niveau desquels elles assurent, en coopération les unes avec les autres, un « contrôle de qualité » et la protection cellulaire.

Protéines heat shock et apoptose

Apoptose et choc thermique

Le choc thermique est le *stress* le plus classiquement utilisé en laboratoire pour induire les HSP. La réponse au *stress* physique provoqué par une élévation de température dépend de l'importance de celle-ci : synthèse d'HSP et/ou apoptose lorsqu'elle est modérée, nécrose cellulaire lorsqu'elle est importante [6]. La surproduction d'HSP permet la thermotolérance, c'est-à-dire l'adaptation de la cellule et sa résistance à un choc thermique consécutif. La thermotolérance concerne aussi l'apoptose : si le choc thermique peut induire l'apoptose, il la prévient lorsqu'il est administré sous forme de préconditionnement, permettant la surproduction de

l'ensemble des HSP [7, 8]. L'inhibition de l'apoptose est étroitement liée à l'induction de la thermotolérance et aux niveaux de synthèse des HSP. Cette prévention de l'apoptose par les HSP semble s'exercer essentiellement par l'intermédiaire d'une protection contre les oxydants (métabolites réactifs de l'oxygène, que nous abrégons RLO pour « radicaux libres de l'oxygène », incluant les dérivés non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène), même si d'autres mécanismes, tels des effets sur le calcium, ne peuvent être exclus.

Dans cette revue, nous nous limiterons à l'étude d'HSP70 et HSP27. En effet, c'est pour ces deux HSP que la littérature est la plus informative quant à leur rôle dans l'apoptose, la surproduction de l'une ou l'autre induisant à elle seule une résistance à l'apoptose [8, 9].

HSP70

De nombreux travaux ont établi le rôle d'HSP70 dans la prévention de l'apoptose, un rôle essentiellement exercé par l'intermédiaire d'une protection contre les RLO.

In vitro, la protection cellulaire contre les lésions oxydatives ou la cytotoxicité du facteur de nécrose tumorale (TNF α) s'observe aussi bien lors de la préexposition au choc thermique que lors de la surproduction d'HSP70 [10, 11]. Cette protection par HSP70 contre les oxydants implique la mitochondrie et contre le TNF α , l'inhibition de la phospholipase A2 [10, 11]. Le rôle anti-apoptotique d'HSP70 a été aussi démontré grâce à l'utilisation de séquences antisens : le traitement des cellules tumorales avec un antisens HSP70 provoque une induction significative de l'apoptose en phases G1 et S et une inhibition de la prolifération cellulaire.

In vivo, de nombreux modèles d'ischémie-reperfusion (lésions qui résultent d'une augmentation non compensée de la production d'oxydants), ont établi, chez le lapin, le rat, le chien, la gerboise, l'effet protecteur de la préexposition à un choc thermique associé à la surproduction d'HSP70, dans l'organe considéré [12]. Les souris transgéniques surexprimant le gène *Hsp70*, notamment

au niveau cardiaque, confirment le rôle prépondérant d'HSP70 dans cette protection contre les lésions de reperfusion [13] qui ont elles-mêmes été mises en relation avec l'apoptose. Par ailleurs, la destruction ciblée du gène d'une HSP70 exprimé spécifiquement dans les gonades mâles détermine chez la souris l'arrêt de la méiose des précurseurs des cellules germinales et aboutit, du fait d'une exacerbation des phénomènes apoptotiques, à l'absence de spermatozoïdes postméiotiques et de spermatozoïdes mûrs [14]. Ces données soulignent l'importance d'HSP70, « gardien de la vie et de la mort cellulaires », dans la régulation *in vivo* de l'apoptose et du cycle cellulaire.

HSP27

Plus récemment, il a été démontré que la surproduction de différentes petites protéines de *stress*, et en particulier de l'HSP27, conduit à une protection similaire à celle induite par HSP70, contre les RLO, la cytotoxicité du TNF α , ou des médicaments anticancéreux générateurs de RLO, tels la doxorubicine ; elle prévient, de même, l'apoptose engendrée par le ligand Fas/APO-I ou la staurosporine [9]. La protection est proportionnelle au niveau de synthèse d'HSP27 [15]. Cet effet protecteur serait essentiellement lié à la capacité d'HSP27 d'interférer avec le métabolisme du glutathion : en effet, il existe une corrélation significative entre la concentration d'HSP27 et celle de glutathion [16]. Or, le glutathion joue un rôle-clé, d'une part dans la détoxification de protéines intracellulaires oxydées, et d'autre part dans l'extrusion des dérivés conjugués au glutathion par la pompe spécifique GS-X dépendante de l'ATP [17]. La renaturation des protéines oxydées, la limitation de la destructuration de microfilaments d'actine secondaire aux stimulus cytotoxiques, la prévention de l'activation de NF κ B et l'inhibition de la lipoperoxydation membranaire, seraient toutes consécutives aux effets d'HSP27 sur la concentration de glutathion [16].

Les petites protéines de *stress* ont la particularité d'être synthétisées de manière transitoire au cours de la différenciation cellulaire. L'inhibition partielle de l'expression du gène

Hsp27 dans la phase précoce de la différenciation des cellules HL-60 induit un arrêt de la division aberrante de ces cellules et altère le processus de différenciation. L'expression de *Hsp27* au cours de la phase précoce de différenciation des cellules embryonnaires souches (cellules ES) coïncide avec une accumulation maximale de glutathion, alors que l'inhibition de l'expression de *Hsp27* s'accompagne d'une diminution. L'inhibition de l'expression de *Hsp27* fait avorter le processus de différenciation par une exacerbation du phénomène apoptotique latent dans ces cellules [18]. HSP27 peut donc être considérée comme une protéine anti-apoptotique spécifiquement synthétisée au cours du processus de différenciation, essentielle lors de la transition entre division et différenciation cellulaires [19]. Le fait que HSP27 soit spécifiquement produite au cours de la maturation des lymphocytes T ou B suggère que cette protéine ralentit les processus apoptotiques lors de ces étapes.

Le rôle antiapoptotique d'HSP27 n'a cependant pas encore été examiné *in vivo*: il serait à ce titre particulièrement intéressant de créer des souris double transgéniques surexprimant *Hsp70* et *Hsp27* afin de tester un possible effet synergique dans la protection contre des lésions oxydatives telles celles produites lors de la reperfusion.

La mitochondrie, cible des effets protecteurs des HSP

Depuis la fin des années 1980, nous proposons l'hypothèse selon laquelle la cible essentielle de la protection relayée par HSP70 est la mitochondrie. Tout d'abord, la préexposition au choc thermique des DS7 (une lignée de fibroblastes pulmonaires de hamster chinois déficients en utilisation du glucose et de ce fait strictement dépendants, pour leur survie, de la phosphorylation oxydative) les protège de la mort instantanée induite dans ces cellules particulières par l'oligomycine, un inhibiteur de la F1F0 ATPase [10]. Par ailleurs, dans la levure (*Saccharomyces cerevisiae*, *Histoplasma capsulatum*), l'ATPase mitochondriale devient « thermotolérante » après préexposition à un

choc thermique [20]. Gabai et Kabakov ont ensuite montré qu'une augmentation de l'expression des gènes codant pour les HSP induit une tolérance à la déplétion en ATP [21]. Ces auteurs proposent que l'HSP70 cytosolique, inductible, peut prévenir la nécrose cellulaire induite par une chute rapide d'ATP [21, 22], notamment après exposition à un autre inhibiteur de la chaîne respiratoire, la roténone [22, 23]. Ils ont été les premiers à suggérer que la protection (thermotolérance) mitochondriale est due à l'HSP70, mais n'excluent pas la participation d'autres HSP, notamment l'HSP intramitochondriales. En effet, même si les travaux de Neupert et d'autres groupes ont établi le rôle déterminant de l'HSP70 cytosolique dans l'import protéique intramitochondrial et donc dans le fonctionnement correct des mitochondries, il paraît *a priori* logique d'attribuer la protection de la fonction mitochondriale en premier lieu à des chaperons intramitochondriaux [24, 25].

Après avoir écarté la possibilité d'une protection prépondérante au niveau des membranes plasmiques ou de l'ADN nucléaire, nous avons établi, dans la lignée prémonocytaire humaine U937, que le choc thermique protège sélectivement les mitochondries, avec une corrélation étroite entre le degré de protection mitochondriale et la concentration d'HSP70 [11]. Cette protection mitochondriale a depuis été confirmée *in vivo*, chez le rat préexposé au choc thermique avant perfusion cardiaque par le peroxyde d'hydrogène, alors que seule la concentration de l'HSP70 cytosolique – mais pas celle des HSP intramitochondriales – était augmentée à l'analyse immunocytochimique. Le rôle de l'HSP27 dans ces modèles n'a cependant pas encore été étudié.

Afin d'établir de façon définitive que la mitochondrie est la cible essentielle de la protection induite contre les oxydants par l'HSP70, il nous faudra reproduire ces résultats dans des cellules et chez des souris transgéniques surexprimant sélectivement le gène *Hsp70*, mais d'ores et déjà, la question se pose de savoir comment la protéine HSP70 agit au niveau mitochondrial. A l'heure actuelle,

trois hypothèses semblent plausibles (*figure 1*): (1) la première, selon Neupert [23, 24], est celle du maintien de l'importation intramitochondriale de protéines essentielles à la fonction de l'organite; (2) la deuxième implique les pores de transition de perméabilité à la membrane mitochondriale (*mitochondrial permeability transition pores*, MTP), qui joueraient, selon Kroemer, un rôle déterminant dans l'induction de l'apoptose par les RLO [2, 3]. Sous l'effet de *stress oxydants*, les mitochondries subissent ce qui est appelé une « transition de perméabilité »: elles libèrent du calcium, sont le siège d'un gonflement important, et présentent un découplage de la respiration mitochondriale. Les MTP sont identifiés, à la membrane interne des mitochondries, comme des canaux sensibles à la ciclosporine qui, en se liant aux cyclophilines (famille de protéines ubiquitaires qui en sont la cible intracellulaire), a la capacité de « fermer » les MTP [26]. L'HSP70 pourrait jouer un rôle similaire à la membrane externe de la mitochondrie, et il est tentant d'envisager une coopération des deux types de protéines dans la régulation de l'activité des MTP, HSP70 à la membrane externe, et les cyclophilines à la membrane interne. Cette coopération impliquerait également Bcl-2 [27]. En effet, deux travaux récents suggèrent que l'effet anti-apoptotique de Bcl-2 est, lui aussi, relayé par la fermeture des MTP [28, 29]; (3) la troisième hypothèse propose qu'HSP70 chaperonne de façon spécifique certaines protéines intramitochondriales, notamment le (ou les) présumé(s) « facteur(s) de mort mitochondriaux » (AIF, *apoptosis inducing factor(s)*) [3], prévenant de ce fait leur action pro-apoptotique. L'un des AIF pourrait être le cytochrome c [28, 29]. Or, l'un des membres de la famille des HSP70, PBP72-74, lie spécifiquement le cytochrome c [30], alors que des fragments d'HSP70 sont capables de réduire ce cytochrome [31].

La protéine HSP27 pourrait elle aussi agir sur la mitochondrie par l'intermédiaire, notamment, de ses effets sur la concentration de glutathion, car l'activité des MTP en dépend. La possibilité d'une protection coopérative entre HSP70 et HSP27 au niveau mitochondrial est donc aussi à consi-

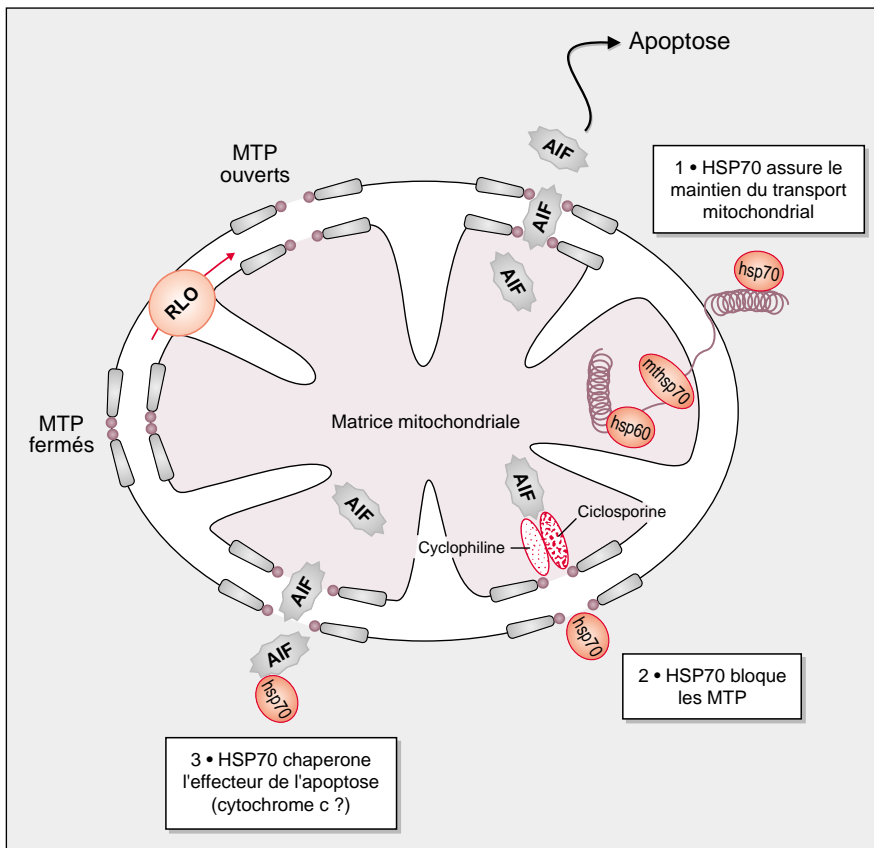


Figure 1. **HSP70 et protection mitochondriale : mécanismes proposés.** Les radicaux libres de l'oxygène (RLO) produits, par exemple, en cas d'inflammation, conduisent à l'ouverture des MTP (mitochondrial permeability transition pores), et au relargage du ou des AIF (apoptosis inducing factor(s)). Trois des mécanismes potentiels par lesquels HSP70 protège les cellules contre les RLO en agissant au niveau mitochondrial sont illustrés : (1) maintien du transport intramitochondrial ; (2) fermeture des MTP ; (3) chaperonage des AIF (particulièrement dans le cas du cytochrome c).

dérer, encore qu'il ne soit pas établi si HSP27 augmente spécifiquement le glutathion mitochondrial, ou cytosolique.

Mort cellulaire et inflammation

Nous aimerions proposer, en accord avec Richter [5], que les mitochondries règlent le carrefour même entre nécrose et apoptose, sous le contrôle d'une sentinelle essentielle, la protéine HSP70. Cette hypothèse est en accord avec les travaux de Newmeyer et ceux du groupe de Kroemer, qui ont établi dans un système acellulaire à activité apoptotique spontanée, que la présence de mitochondries est indispensable au déclenchement des signes nucléaires

de l'apoptose [3, 32]. Tant HSP70 que les mitochondries joueraient, de ce fait, un rôle déterminant dans l'évolution de l'inflammation – HSP70 étant entendu ici comme la famille de HSP70, HSC70 (forme constitutive) incluse.

Les mécanismes de la mort cellulaire par nécrose ou par apoptose sont fort différents, tant au niveau biochimique que morphologique. La nécrose est caractérisée par des altérations rapides de la membrane cellulaire, une réduction radicale de la production et de la concentration d'ATP, liée à l'altération de la structure et de la fonction des mitochondries. La cellule en nécrose libère dans le milieu environnant les médiateurs pro-inflammatoires qu'elle contient, médiateurs lipidiques de

l'inflammation, cytokines, protéases. La phagocytose, par les cellules avoisinantes, de fragments cellulaires postnécrotiques active leur production de RLO qui vont amplifier les lésions existantes. Au contraire, la mort cellulaire par apoptose se fait dans la plus grande discrétion : pas d'activation des cellules avoisinantes, pas de libération de produits activateurs ou cytotoxiques : la mort par apoptose permet ainsi la limitation de l'inflammation. Mais, si la cellule survit, si elle ne meurt plus, ni par nécrose, ni par apoptose, entièrement « protégée » contre la mort cellulaire, on se retrouve alors, paradoxalement, non pas dans une situation de protection contre l'inflammation, mais dans une situation à risque. En effet, la survie prolongée des cellules inflammatoires dans les tissus ou organes concernés, entretient les lésions par activation autocrine et paracrine. Au décours d'une inflammation aiguë, la nécrose cellulaire massive peut évoluer, soit vers la mort, soit vers la guérison souvent complète malgré des lésions initiales menaçantes, soit vers la chronicisation. La concentration d'HSP70 serait déterminante dans cette évolution. En l'absence d'HSP70 en concentration suffisante, la nécrose se poursuit. Si la concentration d'HSP70 est modérée (ainsi que celle d'autres facteurs protecteurs tels Bcl-2, HSP27, cyclophilines...), la cellule, qui conserve une concentration en ATP suffisante pour engager la mort cellulaire programmée, meurt par apoptose [5]. La protection totale contre la mort cellulaire, telle qu'elle pourrait être observée en présence d'une concentration d'HSP70 permettant une conservation complète de la fonction mitochondriale [11] et de la concentration d'ATP, serait favorable dans des situations lésionnelles aiguës, tel l'infarctus du myocarde, mais délétère dans les situations chroniques, où elle pourrait mener à la chronicisation de l'inflammation, voire à une prolifération cellulaire anormale. A cet égard, le travail de Seo [33] est illustratif : il montre en effet que des souris transgéniques qui surexpriment *Hsp70* sous le contrôle d'un promoteur à ciblage lymphoïde, sont prédisposées à développer des lymphomes ou des maladies auto-immunes (diabète). Si

ce travail confirme bien le rôle « protecteur » contre l'apoptose d'HSP70 *in vivo*, il démontre aussi le danger potentiel d'une telle « protection ». La figure 2 illustre ce concept d'évolution entre vie et mort cellulaire gouvernée par HSP70.

Le paradigme de l'asthme

L'asthme résulte d'une inflammation chronique à prédominance éosinophile des voies aériennes, souvent d'origine allergique. Nous choisissons ici cette maladie pour illustrer nos propos, dans la mesure où : (1) nous avons préalablement rapporté une augmentation de l'expression du

gène *HSP70* dans les bronches de patients souffrant d'asthme grave, corrélée de façon étroite à la sévérité de l'asthme [34, 35]; plus récemment, nous avons également mis en évidence une surexpression de *HSP27* dans les mêmes conditions (données non publiées); (2) l'un d'entre nous a récemment montré que dans les bronches des asthmatiques, l'inhibition de l'apoptose est également corrélée à la sévérité de l'inflammation [36]. Nous tenons à préciser que le type d'apoptose que nous considérons ici est celui induit par les RLO produits en excès par les cellules inflammatoires activées, notamment les éosinophiles.

L'inflammation liée à l'asthme est de type TH2, c'est-à-dire qu'elle ne dépend que peu du TNF α . Nous n'aborderons donc pas ici la controverse actuelle sur le rôle, ou l'absence de rôle, des RLO dans l'apoptose induite par le TNF α .

Dans l'asthme, les mastocytes de la lumière broncho-alvéolaire se situeraient à l'origine même de la cascade cellulaire et humorale des phénomènes inflammatoires. Ces cellules portent des récepteurs de forte affinité pour les IgE et, chez l'asthmatique, libèrent par dégranulation leur contenu phlogistique, dont des cytokines et des médiateurs pro-inflammatoires, notamment des facteurs chimiotactiques et activateurs des éosinophiles, cellules principales de l'inflammation asthmatique. Les éosinophiles sont présents de façon quasi constante au niveau des voies aériennes des asthmatiques, y compris chez ceux dont la maladie revêt une forme légère, et il existe une corrélation positive significative entre les éosinophiles activés et la sévérité de l'asthme [37]. Les éosinophiles jouent un rôle majeur dans la persistance de l'inflammation bronchique, notamment grâce à leur recrutement continu, leur activation fonctionnelle et l'augmentation de leur longévité, étroitement liée à l'inhibition de leur mort par apoptose.

Les lymphocytes T sont également présents en excès dans les voies respiratoires des asthmatiques, où ils libèrent de nombreuses cytokines. Plusieurs de ces cytokines sont impliquées dans le contrôle de la longévité des cellules inflammatoires, notamment le *granulocyte monocyte colony stimulating factor* (GM-CSF). Or, cette cytokine, capable de stimuler la survie cellulaire par le blocage du système apoptotique, est produite en excès dans les bronches de patients asthmatiques [38]. Le GM-CSF peut prolonger la survie des éosinophiles et des monocytes-macrophages [39]. Dans les bronches des asthmatiques, ces cellules seraient donc non seulement activées, mais aussi capables de survivre plus longtemps.

Nous proposons donc que la régulation du processus inflammatoire dans les bronches des asthmatiques a pour cible l'équilibre entre nécrose, apoptose et survie cellulaire tel qu'illustré dans la figure 2. Par sa

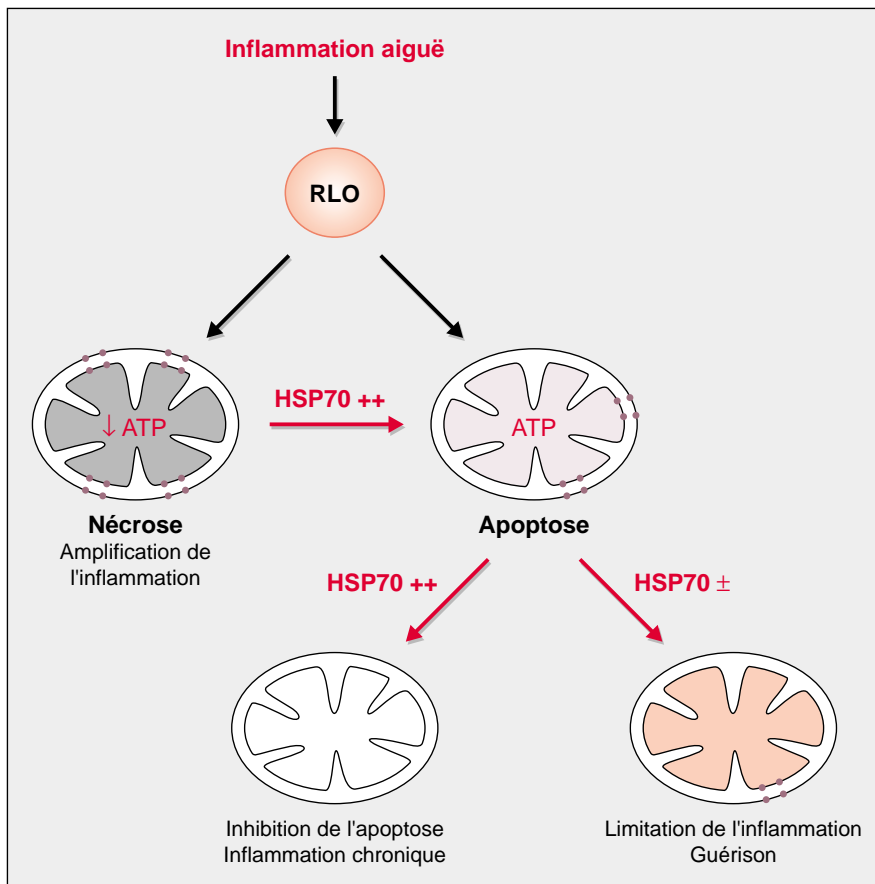


Figure 2. La concentration de la protéine HSP70 est l'un des facteurs déterminants dans l'évolution entre nécrose, apoptose, et guérison. Dans le contexte de l'inflammation aiguë, les radicaux libres de l'oxygène (RLO) entraînent une chute importante et rapide de l'ATP et les cellules meurent en nécrose, relâchant leur contenu toxique qui contribue à l'amplification de l'inflammation. En présence d'une synthèse importante d'HSP70 (++), la concentration d'ATP est maintenue et la cellule meurt par apoptose. Si la concentration d'HSP70 est ensuite précisément réglée (\pm), on peut observer la guérison complète de l'inflammation. Dans le cas contraire, si la concentration d'HSP70 reste très élevée (++), il peut alors y avoir évolution vers l'inflammation chronique, par inhibition de l'apoptose des cellules inflammatoires.

potentialité de modulation par des médiateurs externes, l'apoptose joue un rôle dynamique clé dans le contrôle de l'arrivée des granulocytes sur le site inflammatoire, et tend à limiter la destruction tissulaire et l'inflammation. L'activation de l'apoptose serait donc l'étape terminale du processus inflammatoire par l'élimination d'un nombre croissant des cellules accumulées dans la muqueuse bronchique, alors que la persistance de l'inflammation serait due à des anomalies dans la régulation de l'apoptose et à l'accumulation cellulaire chronique qui lui est consécutive. Parmi les produits de gènes qui interfèrent avec le processus apoptotique, Bcl-2, HSP70, HSP27 et d'autres facteurs encore, comme la superoxyde dismutase, sont tous capables de prolonger la demi-vie des cellules et de les protéger contre le *stress* oxydant. Il est possible que l'expression de BCL-2 et des gènes HSP soient sous le contrôle des mêmes facteurs pro-inflammatoires, telles les cytokines mentionnées ci-dessus, IL-4, IL-5, et GM-CSF. Il est intéressant de rappeler à cet égard qu'il existe une corrélation étroite entre le degré d'expression du gène HSP70 dans les bronches et les macrophages alvéolaires des asthmatiques et l'éosinophilie du lavage broncho-alvéolaire; de même, l'expression de Bcl-2 et d'HSP27, est corrélée à la diminution de l'apoptose. Cependant, dans les neutrophiles, le GM-CSF peut inhiber l'apoptose en l'absence d'augmentation de superoxyde dismutase ou d'HSP70 [40]; il est vrai que ces cellules, que ce soit en termes de réponse au *stress* ou de régulation du processus apoptotique, se comportent de façon différente des autres cellules, notamment des monocytes-macrophages.

La figure 3 illustre le rôle proposé des cytokines dans la chronicisation de l'inflammation bronchique, avec surproduction d'HSP70 et de Bcl-2, et inhibition de l'apoptose. La possibilité qu'un même et unique produit spécifique des éosinophiles, notamment le GM-CSF, ou certains leucotriènes, entraîne une co-activation de Bcl-2 et d'HSP70 et, par voie de conséquence, une diminution de l'apoptose, avec les effets délétères en termes d'amplification de

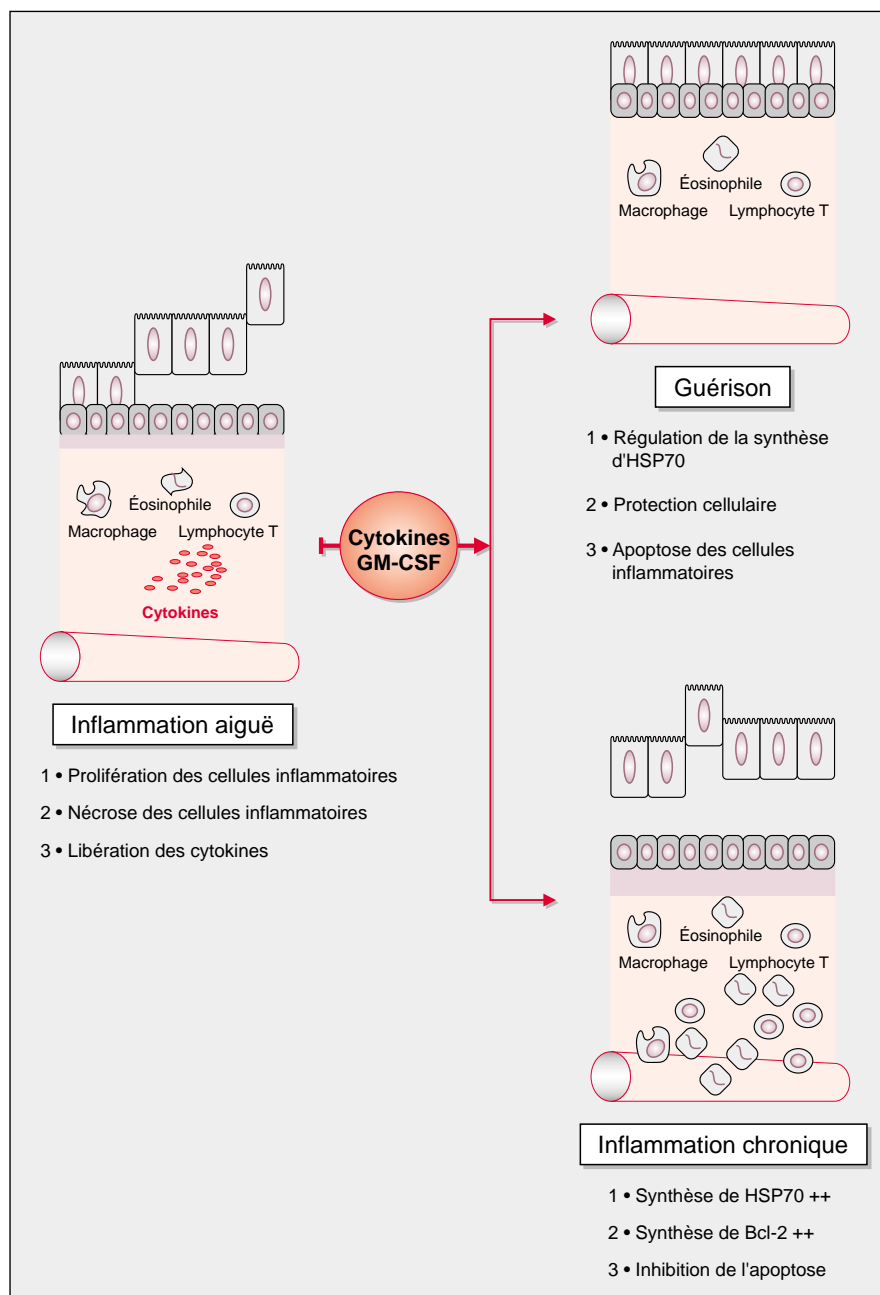


Figure 3. **L'asthme comme paradigme.** Dans les bronches des asthmatiques, on constate en cas d'inflammation aiguë un influx de cellules inflammatoires qui meurent par nécrose et libèrent leur contenu, notamment des cytokines, dont le GM-CSF. Sous l'effet du GM-CSF, et en collaboration avec d'autres facteurs de réparation tissulaire, la synthèse d'HSP70 en quantité précisément réglée peut permettre la guérison. Cependant, si HSP70 et Bcl-2 sont synthétisées toutes deux en quantité trop importante, elles peuvent complètement prévenir l'apoptose, favorisant la chronicité de l'inflammation bronchique. On constate alors une desquamation persistante des cellules épithéliales et un épaississement de la membrane basale.

l'inflammation qui en résultent, est actuellement en investigation dans nos laboratoires.

Enfin, la corticothérapie reste aujourd'hui encore le traitement le plus efficace pour contrôler et

réduire l'inflammation bronchique chez les sujets asthmatiques. Plusieurs études ont démontré que les stéroïdes sont capables de promouvoir la restitution *ad integrum* de la muqueuse bronchique, mais aussi de réduire le nombre et l'état d'activation de cellules inflammatoires dans les voies aériennes; en parallèle, ils diminuent l'expression d'HSP70, alors que leurs effets pro-apoptotiques, en particulier dans les lymphocytes, sont bien établis.

En conclusion

Les processus inflammatoires se dérouleraient donc selon la direction donnée par la mitochondrie, au carrefour entre nécrose, apoptose, et survie cellulaire, et les HSP pourraient être considérées, tout comme Bcl-2 et probablement d'autres facteurs, comme des sentinelles spécifiques de ce délicat carrefour. La poursuite de l'étude de la synthèse des HSP en parallèle de celle de la fonction mitochondriale comme témoin le plus précoce de l'apoptose, dans les maladies inflammatoires et notamment l'asthme, devrait permettre de déterminer plus précisément les patients à risque d'inflammation chronique ■

Remerciements

Les auteurs remercient Françoise Russo-Marie et René Olivier pour leurs commentaires et critiques. Nathalie Banzet bénéficie de bourses de la Société de Secours des amis des Sciences, de la CIBA Jubiläums Foundation ainsi que de la CISC (Communauté de l'Industrie Suisse de la Cigarette).

RÉFÉRENCES

- Henkart PA, Grinstein S. Apoptosis: mitochondria resurrected? *J Exp Med* 1996; 183:1293-95.
- Petit PX, Susin SA, Zamzami N, Mignotte B. Mitochondria and programmed cell death: back to the future. *FEBS Lett* 1996; 396: 7-13.
- Zamzami N, Susin SA, Marchetti P, Hirsch T, Gómez-Monterrey I, Castedo M, Kroemer G. Mitochondrial control of nuclear apoptosis. *J Exp Med* 1996; 183: 1533-4.
- Cossarizza A, Salvioli S, Franceschini MG, Kalashnikova G, Barbieri D, Monti D, Grassilli E, Tropea F, Troiano L, Franceschi C. Mitochondria and apoptosis: a cytofluorimetric approach. *Fundam Clin Immunol* 1995; 3: 67-8.
- Richter C, Schweizer M, Cossarizza A, Franceschi C. Hypothesis: control of apoptosis by the cellular ATP level. *FEBS Lett* 1996; 378: 107-10.
- Sellins KS, Cohen JJ. Hyperthermia induces apoptosis in thymocytes. *Rad Res* 1991; 126: 88-95.
- Mailhos C, Howard MK, Latchman DS. Heat shock protects neuronal cells from programmed cell death by apoptosis. *Neuroscience* 1993; 55: 621-7.
- Samali A, Cotter TG. Heat shock proteins increase resistance to apoptosis. *Exp Cell Res* 1996; 223: 163-70.
- Mehlen P, Schulze-Osthoff K, Arrigo AP. Small stress proteins as novel regulators of apoptosis. *J Biol Chem* 1996; 16510-4.
- Jacquier-Sarlin MR, Fuller K, Dinh-Xuan AT, Richard MJ, Polla BS. Protective effects of Hsp70 in inflammation. *Experientia* 1994; 50: 1031-8.
- Polla BS, Kantengwa S, François D, Salvioli S, Franceschi C, Marsac C, Cossarizza A. Mitochondria are selective targets for the protective effects of heat shock against oxidative injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 6458-63.
- Yellon DM, Marber MS. Hsp70 in myocardial ischaemia. *Experientia* 50 1994; 1075-84.
- Radford NB, Fina M, Benjamin IJ, Moreadith RW, Graves KH, Zhao P, Gavva S, Wiethoff A, Sherry AD, Malloy CR, William RS. Cardioprotective effect of 70-kDa heat shock protein in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 2339-42.
- Dix DJ, Allen JW, Collins BW, Mori C, Nakamura N, Poorman-Allen P, Goulding EH, Eddy EM. Targeted gene disruption of Hsp70-2 results in failed meiosis, germ cell apoptosis, and male infertility. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 3264-8.
- Garrido C, Mehlen P, Fromentin A, Hammann A, Assem M, Arrigo AP, Chauffert B. Inconstant association between 27-kDa heat-shock protein (Hsp27) content and doxorubicin resistance in human colon cancer cells. *Eur J Biochem* 1996; 237: 653-9.
- Mehlen P, Kretz-Remy C, Preville X, Arrigo P. Human HSP27, Drosophila HSP27 and human α -crystallin expression-mediated increase in glutathione is essential for the protective activity of these proteins against TNF α -induced cell death. *EMBO J* 1996; 15: 2695-706.
- Ishikawa T. The ATP-dependent glutathion S-conjugate export pump. *Trends Biochem Sci* 1992; 17: 463-8.
- Mehlen P, Mehlen A, Godet J, Arrigo P. Hsp27 as a switch between differentiation and apoptosis in murine embryonic stem cells. *J Biol Chem* 1997 (sous presse).
- Spector LN, Ryan C, Samson W, Levine H, Nadler LM, Arrigo AP. Heat shock protein is a unique marker of growth arrest during macrophage differentiation of HL-60 cells. *J Cell Physiol* 1993; 156: 619-25.
- Patriarca EJ, Maresca B. Acquired thermotolerance following heat shock protein synthesis prevents impairment of mitochondrial ATPase activity at elevated temperatures in *Saccharomyces cerevisiae*. *Exp Cell Res* 1990; 190: 57-64.
- Kabakov AE, Gabai VL. Heat-shock proteins maintain the viability of ATP-deprived cells: what is the mechanism? *Trends Cell Biol* 1994; 4: 193-5.
- Kabakov AE, Gabai VL. Heat shock-induced accumulation of 70kDa stress protein (HSP70) can protect ATP-depleted tumor cells from necrosis. *Exp Cell Res* 1995; 217: 15-21.
- Stuart RA, Cyr DM, Neupert W. Hsp70 in mitochondrial biogenesis: from chaperoning nascent polypeptide chains to facilitation of protein degradation. *Experientia* 1994; 50: 1002-11.
- Lill R, Neupert W. Mechanisms of protein import across the mitochondrial outer membrane. *Trends Cell Biol* 1996; 6: 56-61.
- Mihara K, Omura T. Cytoplasmic chaperones in precursor targeting to mitochondria: the role of MSF and HSP70. *Trends Cell Biol* 1996; 6: 104-8.
- Bernardi P. The permeability transition pore. Control points of a cyclosporin A-sensitive mitochondrial channel involved in cell death. *Biochem Biophys Acta* 1996; 1275: 5-9.
- Barazzone C, Christie P and Polla BS. Heat-shock proteins in the cell defence mechanisms of the lung. In: Chrétien J, Dusser D, eds. *Airways and Environment: from injury to repair*. New York: Marcel Dekker Inc., 1996; 263-84.
- 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.

DISPONIBLE EN VIDÉOCASSETTE

La journée Jean-Claude DREYFUS

RÉCEPTEURS ET MALADIES

Paris le 19 septembre 1997

sur deux vidéocassettes VHS

Nombreux autres congrès, liste sur demande

Pour information, contacter :

Professeur Gérard MELKI

Tél. : 02 99 33 69 64 - Fax : 02 99 33 68 78

E-MAIL : gérard.melki@univ-rennes1.fr

RÉFÉRENCES

29. Yang J, Liu X, Bhalla K, Naekyung Kim C, Ibrado AM, Cai J, Peng T, Jones DP, Wang X. Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science* 1997; 275: 1129-32.
30. Lakey EK, Margoliash E, Pierce SK. Identification of a peptide binding protein which plays a role in antigen presentation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 1659-63.
31. Simpkins CO, Fogarty KW, Nhamuro P. Reduction of cytochrome c by fragments of heat shock protein 70. *Life Sci* 1993; 52: 1487-92.
32. Newmeyer DD, Farschon DM, Reed JC. Cell-free apoptosis in *Xenopus* egg extracts: inhibition by Bcl-2 and requirement for an organelle fraction enriched in mitochondria. *Cell* 1994; 79: 353-64.
33. Seo JS, Park YM, Kim JI, Shim EH, Kim CW, Jang JJ, Kim SH, Lee WH. T cell lymphoma in transgenic mice expressing the human HSP70 gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 218: 582-7.
34. Fajac I, Roisman GL, Lacronique J, Polla BS, Dusser DJ. Bronchial $\gamma\delta$ T-lymphocytes and expression of heat shock proteins in mild asthma. *Eur Respir J* 1997; 10: 633-8.
35. Vignola AM, Chanez P, Polla BS, Vic P, Godard P, Bousquet J. Increased expression of heat shock protein 70 on airway cells in asthma and chronic bronchitis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995; 13: 683-91.
36. Vignola AM, Chanez P, Chiappara G, Merendino AM, Zinnanti E, Vachier I, Guddo F, La Rocca AM, Bonsignore G. P53 and Bcl2 expression in asthma and chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; A878 (abstract).
37. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barneon G, Ghavanian N, Enander I, Venge P, Ahlstedt S, Simony-Lafontaine J, Godard P, Michel FB. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med* 1990; 323: 1033-9.
38. Sousa AR, Poston RN, Lane SJ, Nakhoshteen JA, Lee TH. Detection of GM-CSF in asthmatic bronchial epithelium and decrease by inhaled corticosteroids. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 1557-61.
39. Bratton DL, Hamid Q, Boguniewicz M, Doherty DE, Kailey JM, Leung DY. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor contributes to enhanced monocyte survival in chronic atopic dermatitis. *J Clin Invest* 1995; 95: 211-8.
40. Cox G, Oberley LW, Hunningake GW. Manganese superoxide dismutase and heat shock protein 70 are not necessary for suppression of apoptosis in human peripheral blood neutrophils. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994; 10: 493-8.

Summary

Mitochondria at the crossroads between life and death: the role of heat shock proteins and effects on inflammation

As molecular chaperones, stress/heat shock proteins (HSP) play a critical role in cell biology and survival under stress conditions. Induction of HSP (Hsp70 and Hsp27 in particular), following either a thermal pretreatment or overexpression of the corresponding genes, leads to a general tolerance to cellular stresses: thermotolerance, protection against oxidative lesions such as post-ischemic cell damage, TNF α cytotoxicity, and to the inhibition of associated apoptotic processes. On the one hand, mitochondria are involved in the decision process as to whether a cell will survive or die, and whether it will do so by necrosis or by apoptosis. On the other hand, the maintenance of mitochondrial functional integrity is a preferred target for protection by Hsp70. Hsp70 therefore participates, at the mitochondrial level, in the control of the « choice » of cell death, probably in cooperation with Hsp27, the latter determining glutathione levels. These phenomena play essential roles in inflammatory processes inasmuch the type of cell death determines the outcome of inflammation. Indeed, inflammation is amplified by cell necrosis, while apoptosis can limit it. However, one has to take into account the potential risk of the antiapoptotic effect of HSP. Unless finely tuned, it could, in the end, contribute to chronic inflammation. Asthma, as a chronic inflammatory disease of the upper airways, may be considered as a model pathology to illustrate these concepts.

TIRÉS À PART

B.S. Polla.



BioDOCS
L'Association des Étudiants-Chercheurs en Biologie

**Vous voulez faire un DEA, une thèse ?
Vous cherchez un laboratoire de recherche ?**

BioDocs

- propose un annuaire des formations doctorales et des laboratoires avec des contacts étudiants ;
- offre des informations administratives et techniques sur la formation doctorale :
 - déroulement (inscriptions, sécurité sociale, service militaire...),
 - financements (montant et droits des bourses...),
 - débouchés publics et privés dans l'enseignement et la recherche ;
- développe un réseau d'échanges scientifiques

**Vous êtes inquiet pour votre statut
et votre avenir dans la recherche ?**

BioDocs

- en tant que Membre de la CEC (Confédération des Étudiants-Chercheurs) agit auprès des institutions universitaires et politiques (Conseils Scientifiques d'Université...)
- défend les intérêts et le statut social des étudiants-chercheurs ;
 - œuvre dans le sens d'une augmentation du recrutement dans la recherche publique et l'enseignement supérieur

Vous êtes inquiet sur les débouchés dans la recherche ?

BioDocs

- cherche à valoriser la formation doctorale auprès des entreprises privées ;
- propose un annuaire de vos compétences aux entreprises privées ;
- organise des forums de rencontre entre les étudiants, les grands organismes de recherche et les sociétés privées de biologie et biotechnologies

BioDocs vous invite

à consulter le serveur web (Internet) <http://157.136.20.60>
Contactez-nous également par e-mail (analenn@pasteur.fr)

SOCIÉTÉ DE BIOLOGIE

Les bloqueurs de canaux calciques

21 janvier 1998

16 heures

Institut des Cordeliers-Amphithéâtre
Bilski-Pasquier,
15-21, rue de l'École-de-Médecine,
75006 Paris

*Conférence du Pr Théo Godfrand
(Université catholique de Louvain – Belgique)*

Renseignements

Secrétariat de la Société de Biologie,
Collège de France,
3, rue d'Ulm,
75231 Paris Cedex 05

Tél./Fax : 01 44 27 13 40