

Apoptose

Contrôle mitochondrial de l'apoptose : la mort cellulaire programmée est-elle apparue à la suite de l'événement endosymbiotique à l'origine des mitochondries ?

Bernard Mignotte, Naoufal Zamzami, Patrice Petit, Jean-Luc Vayssière, Guido Kroemer

La plupart des cellules animales peuvent mourir par un processus de mort cellulaire que l'on appelle apoptose. Les protéines cellulaires impliquées dans ce processus d'autodestruction ont relativement peu changé depuis la dichotomie nématodes/vertébrés. Il apparaît maintenant que les mitochondries occupent une place déterminante dans le contrôle de l'apoptose. Chez les mammifères, comme chez les nématodes, les protéines de la famille Bcl-2/Bcl-X/Ced-9 inhibent l'apoptose au moins à deux niveaux : régulation du passage d'ions ou de molécules pro-apoptotiques au travers de pores transmembranaires, et ancrage, au niveau des mitochondries, de protéines impliquées dans la transduction de signaux apoptotiques.

Par ailleurs, il est maintenant admis que les mitochondries sont des endosymbiontes ayant pour origine une bactérie aérobie qui aurait été absorbée par l'ancêtre des cellules eucaryotes. Une partie de la machinerie apoptotique existerait chez des eucaryotes unicellulaires et certains des composants contrôlant l'apoptose pourraient même être présents chez les bactéries. Il est donc possible que le mécanisme à l'origine du maintien de la symbiose entre la bactérie ancêtre des mitochondries et la cellule hôte à l'origine des eucaryotes ait fourni les bases d'un contrôle de la survie cellulaire. Les métazoaires auraient exploité cette possibilité en connectant les effecteurs mitochondriaux de la mort cellulaire aux voies de transduction de signaux.

La mort cellulaire programmée permet de limiter la taille des populations cellulaires et d'éliminer certaines cellules indésirables. Ce processus est fondamental pour le développement des organismes pluricellulaires, au cours duquel de nombreuses cellules embryonnaires sont amenées à mourir. Cet article aborde deux questions. Quel est le mécanisme de la mort cellulaire programmée ? Comment son contrôle s'est-il mis en place au cours de l'évolution ?

Les acteurs du programme de mort cellulaire programmée

L'apoptose, définie par Kerr *et al.* en 1972 selon des critères morphologiques, est un type de mort cellulaire programmée. Elle est généralement opposée à la nécrose, une mort cellulaire résultant le plus souvent d'agressions massives du milieu extérieur. Un dérèglement de l'apoptose ou de son contrôle peut être impliqué dans diverses maladies. Certaines maladies neurodégénératives, dues à

une mort neuronale massive, feraient intervenir l'apoptose [1]. Ce même phénomène pourrait aussi être associé au SIDA où il serait impliqué dans l'élimination des lymphocytes T, conduisant ainsi à l'immunodéficience (*m/s* n° 7, vol. 11, p. 1055 ; n° 12, vol. 12, p. 1452). En revanche, le blocage de l'apoptose joue un rôle fondamental à différentes étapes de la carcinogenèse [2]. Schématiquement, l'apoptose peut être subdivisée en trois phases : induction, exécution et dégradation. La phase d'induction peut emprun-

ter des voies multiples qui dépendent du type cellulaire et de la nature du signal inducteur : carence en signaux de survie, signaux de mort, infection virale, dommages dans l'ADN... A l'issue de cette phase d'induction, les cellules subissent une série de modifications physiologiques qui va les engager irréversiblement vers la mort. Ensuite, les cellules entrent dans la phase de dégradation où elles présentent l'ensemble des caractéristiques morphologiques (condensation de la cellule, du noyau et de la chromatine) et moléculaires (fragmentation de l'ADN en fragments oligonucléosomiques) de l'apoptose. Chez le nématode *Caenorhabditis elegans*, l'approche génétique a permis d'identifier plusieurs gènes impliqués dans la mort cellulaire programmée [3]. Certains de ces gènes sont nécessaires au déroulement du processus (*ced-3*, *ced-4*), tandis qu'un autre gène (*ced-9*) est capable de le bloquer. Le gène *ced-9* est l'homologue de l'oncogène *Bcl-2* qui appartient à une famille multigénique. Les produits de ces gènes inhibent ou stimulent l'apoptose des cellules de mammifères. Le gène *ced-3* est l'homologue d'une famille de gènes codant pour des protéases, appelées caspases, pour « *cystein aspartases* » (*m/s n° 11, vol. 12, p. 1757*) (Tableau I). Ces observations soulignent l'origine évolutive lointaine du processus.

Les mitochondries peuvent contrôler l'apoptose des noyaux

Quelle est l'origine des différents composants du programme de mort cellulaire ? La destruction des noyaux observée lors de l'apoptose pourrait dériver de processus déjà présents chez les protozoaires [4]. Qu'en est-il des événements qui contrôlent l'exécution de ce processus ? Récemment, plusieurs travaux ont souligné l'importance de la mitochondrie dans le contrôle de la survie cellulaire. Depuis 1994, et contrairement à ce qui était admis jusque-là, il est apparu que l'engagement dans l'apoptose s'accompagne de profondes modifications affectant les mitochondries. Une chute du potentiel de membrane ($\Delta\Psi_m$) sur-

m/s n° 1, vol. 14, janvier 98

Tableau I HOMOLOGIES ENTRE PROTÉINES		
<i>C. elegans</i>	Mammifères	Modes d'action de la protéine
Ced-9	Bcl-2, Bcl-X, Mcl-1, A1... Bax, Bak, Bad, Bik...	Régulateurs de canaux transmembranaires intracellulaires et de protéines impliquées dans la transduction de signaux apoptiques
Ced-4	Apaf*	Activateur de caspases Chaperon
Ced-3	ICE, CPP32, NEDD2, ICH-1...	Protéases à cystéine (caspases)

* Apaf: apoptosis-protease activating factor.

vient avant la fragmentation de l'ADN en fragments oligonucléosomiques [5-7]. Cette chute du $\Delta\Psi_m$ est à l'origine d'un défaut de maturation des protéines mitochondriales synthétisées dans le cytoplasme, d'un arrêt de la traduction mitochondriale et d'un découplage des phosphorylations oxydatives [6]. Cette dissipation du $\Delta\Psi_m$ survient précocement par rapport à la fragmentation nucléaire, et elle est détectable quel que soit l'inducteur de l'apoptose : physiologique (absence de facteur de croissance, glucocorticoïdes ou TNF) ou non physiologique (irradiation ou chimiothérapie) [8-10]. Des cellules dépourvues d'ADN mitochondrial (cellules ρ^0) peuvent subir l'apoptose (*m/s n° 9, vol. 3, p. 328*). Ces cellules ont des mitochondries qui ne possèdent pas de chaîne respiratoire fonctionnelle, mais maintiennent, dans des conditions normales, un $\Delta\Psi_m$ proche de la normale. De plus, lorsque les cellules ρ^0 s'engagent dans l'apoptose, on observe aussi une dissipation du $\Delta\Psi_m$ [11, 12]. Il est donc tentant d'envisager que des fonctions mitochondriales qui ne sont pas liées directement à la respiration peuvent être impliquées dans l'apoptose. La transition de perméabilité est un phénomène caractérisé par l'ouverture de mégacanaux mitochondriaux qui rend la membrane interne perméable à des molécules de poids moléculaire inférieur à 1 500 Da, dissipe le $\Delta\Psi_m$ et arrête la

synthèse de l'ATP [13, 14]. La composition moléculaire de ces mégacanaux n'est pas entièrement connue. Le récepteur périphérique des benzodiazépines, qui est impliqué dans la protection contre les espèces actives de l'oxygène [15], la porine, la cyclophiline D, et la translocase de nucléotides adényliques (ANT) sont des composants et/ou des régulateurs de ce canal. En effet, parmi les substances décrites comme pouvant régler la transition de perméabilité, figurent deux inhibiteurs spécifiques de l'ANT : l'atractyloside et l'acide bongkrélique (BA). Ces deux substances pourraient favoriser des conformations différentes de l'ANT : une conformation fermée induite par le BA et la ciclosporine A, et une conformation ouverte induite par l'atractyloside. La chute du $\Delta\Psi_m$ induite par la protoporphyrine IX, un ligand spécifique du récepteur mitochondrial des benzodiazépines, entraîne l'apoptose [16]. A l'opposé, un dérivé non immunosuppresseur de la ciclosporine A et l'acide bongkrélique, empêchent la chute du $\Delta\Psi_m$ et la fragmentation consécutive de l'ADN. Ces expériences montrent que l'induction de la transition de perméabilité provoque l'apoptose tandis que son inhibition fournit une protection contre celle-ci. Il semble donc bien que la transition de perméabilité soit responsable de la chute de $\Delta\Psi_m$ observée lors de l'apoptose [8-10].

Bcl-2 inhibe la transmission du signal apoptogénique mitochondrial

Bcl-2, et d'autres protéines apparentées, sont localisées au niveau des membranes intracellulaires et en particulier de la membrane externe de la mitochondrie [17]. Ces protéines inhibent l'apoptose à une étape située en amont de la chute de $\Delta\Psi_m$ [18, 19]. Par ailleurs, Bcl-2 peut bloquer l'apoptose de cellules dépourvues d'ADN mitochondrial (*m/s n° 3, vol. 9, p. 328*) ou privées d'oxygène (*m/s n° 7, vol. 11, p. 1195*). L'effet protecteur de Bcl-2 peut donc s'observer en absence de production d'espèces activées de l'oxygène par les mitochondries. Néanmoins, ces expériences n'excluent pas que l'effet anti-apoptotique de Bcl-2 soit lié à des facteurs présents au niveau des mitochondries de cellules ρ^0 ni que son pouvoir anti-apoptotique s'exerce à plusieurs niveaux.

On a étudié *in vivo* et dans des systèmes acellulaires où sont confrontés des noyaux et des mitochondries purifiés, l'importance de la localisation de Bcl-2 dans les noyaux ou les mitochondries par rapport à sa fonction anti-apoptotique. *In vivo*, l'effet anti-apoptotique de Bcl-2 sur certaines cellules nécessite son ciblage à la mitochondrie [20]. Les expériences réalisées au moyen de systèmes acellulaires ont montré que les mitochondries normales n'ont pas d'effet sur les noyaux isolés de cellules HeLa, alors que le prétraitement des mitochondries avec des substances capables d'induire la transition de perméabilité est suffisant pour provoquer l'apoptose nucléaire (condensation chromatinienne et fragmentation de l'ADN). Cette observation suggère une implication de la transition de perméabilité dans la régulation de l'apoptose « nucléaire » induite par les mitochondries [21, 22]. De plus, ces expériences ont révélé que les mitochondries isolées à partir de cellules transfectées par *bcl-2* ne provoquent pas l'apoptose nucléaire, contrairement aux mitochondries purifiées à partir des cellules témoins. En revanche, les noyaux isolés à partir des cellules transfectées par *bcl-2* subissent une condensation chroma-

tiennne et une fragmentation de l'ADN lorsqu'ils sont mis en présence de mitochondries témoins traitées à l'atractyloside. Au moins une partie du pouvoir inhibiteur d'apoptose de Bcl-2 s'exerce donc sur la transition de perméabilité mitochondriale (*m/s n° 5, vol. 13, p. 738*).

La structure d'une protéine de la famille Bcl-2 (Bcl-X_L) a été récemment établie [23]. Elle rappelle celle de toxines bactériennes, en particulier la toxine diphtérique, qui forment un canal membranaire dépendant du pH. De plus, Bcl-X_L et Bcl-2 sont capables de former des canaux dans des membranes artificielles [24, 25], ce qui suggère que ces protéines pourraient être des constituants ou des régulateurs des mégacanaux mitochondriaux impliqués dans la transition de perméabilité.

Les mitochondries qui subissent la transition de perméabilité libéreraient une ou plusieurs protéines capables de déclencher l'apoptose nucléaire (*figure 1*). Il a ainsi été établi que la transition de perméabilité provoque la libération par les mitochondries d'une protéase apoptogène (AIF pour *apoptosis inducing factor*), un événement inhibé par Bcl-2 [26]. Par ailleurs, le cytochrome c, en se dissociant des mitochondries au cours de l'apoptose, active des protéases impliquées dans l'apoptose des noyaux et les protéines Bcl-2 et Bcl-X_L inhibent cette dissociation [27]. D'autres liens fonctionnels entre Bcl-2 et les mitochondries ont aussi été proposés. Bcl-2 agirait en permettant la liaison de la kinase Raf-1 à la membrane mitochondriale [17]. Toutefois le lien entre Raf-1 et les altérations

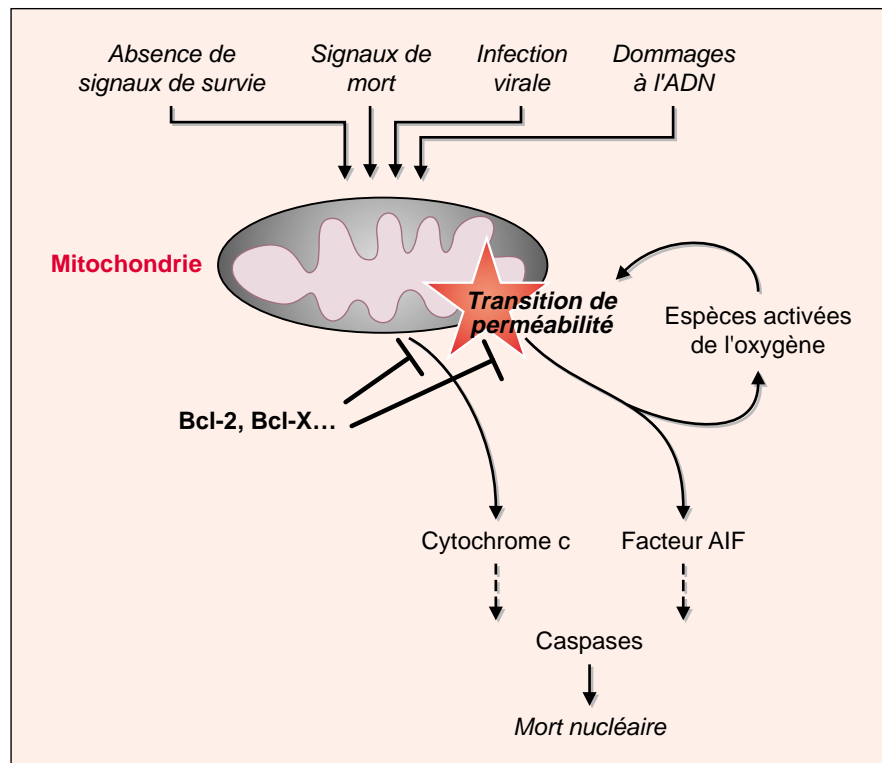


Figure 1. **Schéma du déroulement de l'apoptose.** De nombreux signaux peuvent induire l'apoptose. Les différentes voies d'induction semblent converger vers une série d'étapes communes faisant intervenir les mitochondries. L'action de Bcl-2 au niveau des mitochondries s'exercerait à deux niveaux : régulation des échanges ioniques au niveau de canaux transmembranaires responsables de la transition de perméabilité, et ancrage de protéines impliquées dans la transduction de signaux apoptotiques. AIF : apoptosis inducing factor.

mitochondriales qui surviennent lors de l'apoptose n'est pas connu et l'effet protecteur de Bcl-2 ne nécessite pas toujours l'activité de Raf-1 [28]. Des interactions entre Bcl-2 et diverses autres protéines (P53-BP, calcineurine, carnitine palmyltransférase I, BAG-1) ont aussi été décrites.

Enfin, chez le nématode *C. elegans*, il a tout récemment été observé que Ced-4 interagit, d'une part, avec Ced-9 et, d'autre part, avec Ced-3 [29]; l'inhibition de l'apoptose par Ced-9 ou Bcl-X_L est associée à une relocalisation de Ced-4 du cytosol vers les membranes intracellulaires (figure 2) [30]; enfin, Bax et Bik (deux membres pro-apoptotiques de la famille Bcl-2) dissocient les complexes formés entre Ced-9 et Ced-4. Il est donc tentant de supposer que Ced-9 inhibe la mort cellulaire en maintenant le complexe Ced-4/Ced-3 au niveau des mitochondries.

Les protéines anti-apoptotiques de la famille Ced-9/Bcl-2/Bcl-X_L maintiennent donc au niveau des mitochondries différents composants cellulaires susceptibles de déclencher l'apoptose nucléaire. Bcl-2 et les protéines homologues agiraient donc de deux manières: d'une part en réglant les échanges au niveau de pores situés dans les membranes intracellulaires et, d'autre part, en complexant des protéines impliquées dans la transmission de signaux apoptotiques (*m/s* n° 5, vol. 13, p. 738).

Origine évolutive de la mort cellulaire programmée

Dans un article précédent, nous proposons que la destruction du noyau de la cellule, telle qu'elle survient au cours de l'apoptose, pourrait dériver de processus de mort « nucléaire » déjà présents chez les protistes [4]. Il apparaît maintenant que la fragmentation de l'ADN en fragments oligonucléosomiques et la destruction des noyaux sont des événements terminaux du processus. Autrement dit, ils ne sont visibles que lorsque la cellule est déjà irréversiblement engagée dans le processus. L'engagement dans l'apoptose est donc contrôlé à une étape située en amont des événements nucléaires.

Des processus ressemblant à l'apoptose ont été décrits chez l'amibe *Dictyostelium* [31] et chez certains protozoaires comme le trypanosome [32, 33]. Ces observations suggèrent qu'au moins une partie des mécanismes de la mort cellulaire programmée existait avant que les organismes multicellulaires n'apparaissent. Quels éléments de l'apoptose se retrouvent chez les unicellulaires qui ne mettent pas en œuvre la mort cellulaire programmée? Des phénomènes similaires à la transition de perméabilité ont été décrits chez la levure [34]. Cependant, l'analyse des phases ouvertes de lecture déduites de la séquence du génome de la levure *Saccharomyces cerevisiae* ne permet pas de mettre en évidence un gène spécifiant une protéine présumptive contenant les régions conservées des protéines de la famille Bcl-2 ou des caspases (*S. Gaumer*, résultats non publiés). Il ne semble donc pas exister chez cet unicellulaire de gène spécifiant un homologue de Bcl-2 ou des caspases. Néanmoins, l'expression du gène *Bax* de mammifère chez la levure *S. cerevisiae* est létal à la condition que cette levure possède une chaîne respiratoire fonctionnelle; de plus, Bcl-2 inhibe la mort cellulaire induite par

Bax lorsqu'il possède sa séquence d'ancrage à la mitochondrie [35]. Bax et Bak (un autre membre pro-apoptotique de la famille Bcl-2) sont aussi capables de provoquer la mort cellulaire chez la levure *Schizosaccharomyces pombe* [36, 37]. L'expression de *ced-4* provoque certaines modifications morphologiques de l'apoptose chez *S. pombe* [38]. En conclusion, il semble que certains des éléments impliqués dans le contrôle de la mort cellulaire chez les mammifères soient présents chez les levures.

Origine du contrôle mitochondrial de la mort cellulaire

Il est maintenant admis que les mitochondries sont des endosymbiontes ayant pour origine une bactérie aérobie (une bactérie pourpre) qui aurait été absorbée par l'ancêtre des cellules eucaryotes [39]. Au cours de l'évolution, la plupart des gènes de cette bactérie ancestrale aurait migré dans le noyau de l'hôte. Cependant, l'existence de protéines mitochondriales difficilement importables du cytoplasme vers la mitochondrie aurait contraint celle-ci à conserver un génome semi-autonome [40].

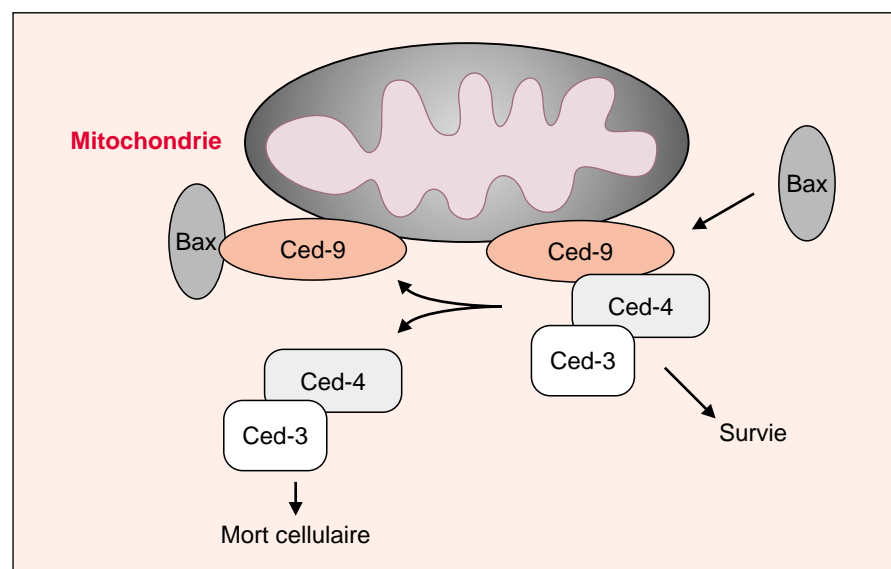


Figure 2. **Régulation de la localisation intracellulaire de Ced4 par Ced9.** Ced-9 maintiendrait les complexes Ced4/Ced-3 au niveau des mitochondries en s'associant, d'une part, à la membrane mitochondriale et, d'autre part, à Ced-4. La dissociation du complexe Ced-9/Ced-4 par des membres pro-apoptotiques de la famille Bax permettrait l'activation des caspases cytoplasmiques et nucléaires.

Récemment, certains processus de mort cellulaire observés chez les bactéries ont été comparés à la mort cellulaire programmée. Trois types de mort bactérienne programmée ont été identifiés chez *Escherichia coli*. Le premier est le système poison-contrepoison (modèles ccd et hok). Le deuxième est le système restriction-modification (modèle rm) et le troisième le système de létalité-immunité (modèle MccB17) [41]. Dans chacun de ces cas, la perte de gènes portés par un plasmide est à l'origine du processus de mort cellulaire. Dans les deux premiers modèles, un produit toxique stable et un antidote instable sont codés par un plasmide. A la suite de la perte du plasmide, la bactérie se retrouve en présence du seul produit toxique et meurt. Dans le troisième cas, une bactérie tueuse, détentrice du plasmide est responsable de la mort de la cellule l'ayant perdu. En fait, une fois que la cellule hôte a acquis le plasmide, elle est condamnée à le conserver ou à mourir. Ces systèmes contraignent donc la bactérie à conserver le plasmide concerné.

Si le génome de la bactérie aérobie ancêtre des mitochondries actuelles codait pour une combinaison de toxine stable-antidote labile sécrétée dans le cytoplasme de la cellule hôte (figure 3A), elle aurait pu devenir rapidement indispensable à son hôte. Une telle possibilité a été envisagée pour la sous-unité 8 de l'actuelle ATP synthase, en raison des similitudes qui existent entre ce polypeptide et les toxines respiratoires de la famille hok [42]. Une autre possibilité non exclusive serait que l'endosymbionte contenait dans son propre cytoplasme (la future matrice mitochondriale) des molécules létales pour la cellule hôte en cas de lyse (figure 3B). Dans ce cas, la cellule hôte aurait été contrainte de protéger la membrane de l'endosymbionte contre ses propres attaques et en particulier de ses protéases. Un équilibre se serait ainsi établi entre les deux cellules, chacune devenant dépendante de l'autre pour sa survie. A partir de ce moment, les deux organismes unicellulaires auraient donc été contraints de co-évoluer et le transfert d'une partie du génome de l'endosymbionte

vers le noyau de la cellule hôte aurait pu commencer. Cette hypothèse rend compte de l'absence de nécessité de protéine codée par le génome mitochondrial pour l'apoptose et pour l'activité de Bcl-2: les protéines mitochondriales impliquées dans l'apoptose (Bcl-2, translocase de nucléotides à adénine, récepteur des benzodiazépines, porine, cytochrome c, AIF...) sont toutes codées par le noyau et sont présentes dans les mitochondries de cellules ρ^0 . Nous pouvons donc nous poser la question suivante: le contrôle de la survie cellulaire par la mitochondrie pourrait-il dériver d'éléments déjà présents chez le précurseur des mitochondries? Certaines des molécules qui constitueraient le pore responsable de la transition de perméabilité, telles que les cyclophilines et les porines, existent chez les procaryotes [43]. Des constituants de ce pore

comme la translocase de nucléotides adényliques et le récepteur périphérique des benzodiazépines, pourraient avoir des analogues chez la bactérie *Rhodobacter capsulatus* [44, 45]. Par ailleurs, la protéine Bcl-X_L, présente des similitudes de structure avec les colicines de *E. coli* [23]. Le cytochrome c et certaines protéases animales étaient déjà présents chez les bactéries aérobies. Une partie des composants mitochondriaux impliqués dans l'apoptose existaient donc déjà chez les bactéries aérobies. De plus, chez les nématodes, *ced-9* est transcrit sous forme d'un ARNm polycystronique contenant aussi l'ARNm *cyt-1* qui spécifie le cytochrome b560, un composant du complexe II de la chaîne respiratoire [46]. Cette observation suggère que *ced-9* et *cyt-1* auraient été co-transférés du génome de la bactérie ancêtre des mitochondries vers le noyau ce qui

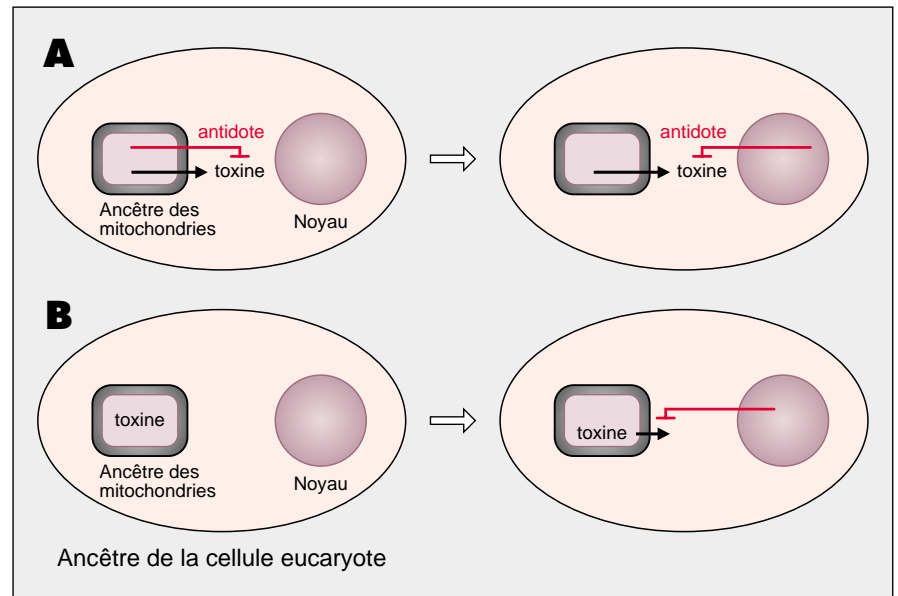


Figure 3. Mécanismes à l'origine de l'endosymbiose et du contrôle de l'apoptose. Deux mécanismes non exclusifs peuvent avoir contribué à l'endosymbiose et au contrôle de l'apoptose. **A.** Le génome de l'ancêtre bactérien des mitochondries pouvait spécifier une combinaison de toxine stable-antidote labile sécrétée dans le cytoplasme de la cellule hôte. Dans un deuxième temps, le gène spécifiant l'antidote aurait migré dans le noyau. **B.** L'endosymbionte aurait contenu dans la future matrice mitochondriale, ou dans l'espace intermembranaire, des molécules létales pour la cellule hôte. Dans ce cas, la cellule hôte aurait été contrainte de contrôler les échanges entre la mitochondrie et le cytosol. Chez les eucaryotes unicellulaires des atteintes aux membranes mitochondriales provoqueraient la libération de ces molécules dans le cytoplasme. Les métazoaires auraient développé des stratégies permettant de contrôler cet événement.

signifierait que *ced-9*, et par conséquent les membres de la famille *bcl-2*, auraient bien pour origine le génome de l'endosymbionte.

Conclusions

L'hypothèse présentée suppose donc que quelques protéines, situées à l'interface endosymbionte/hôte, auraient joué un rôle stratégique pour permettre l'établissement de l'endosymbiose à l'origine des mitochondries, mais auraient aussi fourni les bases d'un contrôle de la mort nucléaire programmée. Si cette hypothèse est exacte, des atteintes aux mitochondries entraîneraient le relargage dans le cytoplasme de molécules activatrices ou effectrices de l'apoptose nucléaire.

Ce modèle rendrait compte de l'existence, chez des eucaryotes unicellulaires, d'une mort de type apoptotique induite par des *stress*. Il suffit de supposer que ces *stress* provoquent des altérations mitochondriales capables de provoquer la libération par la mitochondrie de produits apoptogènes. La mort cellulaire programmée, telle qu'elle peut être observée au cours du développement des métazoaires, serait apparue dans un deuxième temps, lorsque les effecteurs mitochondriaux de l'apoptose ont été connectés aux voies de transduction de signaux.

Si cette hypothèse est exacte, les eucaryotes dépourvus de mitochondries ne devraient pas présenter de processus de type apoptotique. De plus, si la mort cellulaire programmée a une origine évolutive aussi ancienne, le mécanisme impliqué devrait être similaire chez les plantes et les champignons. Chez ces organismes, elle devrait donc aussi présenter des altérations mitochondriales précoces au cours du processus ■

Remerciements

Les auteurs remercient Herman Denis, Sébastien Gaumer, Isabelle Guénal et Jean-Claude Mounolou pour leur lecture critique du manuscrit.

RÉFÉRENCES

1. Martinou JC. La mort cellulaire programmée dans le système nerveux. *Med Sci* 1995; 11: 367-73.
2. Solary E, Bertrand R, Pommier Y. Le rôle de l'apoptose dans la genèse et le traitement du cancer. *Med Sci* 1993; 9: 667-75.
3. Labouesse M. *C. elegans*, les promesses d'un petit animal intelligent. *Med Sci* 1994; 10: 337-41.
4. Denis H, Mignotte B. L'apoptose dérivée de la mort nucléaire programmée mise en œuvre par les protistes ? *Med Sci* 1994; 10: 687-95.
5. Vayssière JL, Petit PX, Risler Y, Mignotte B. Commitment to apoptosis is associated with changes in mitochondrial biogenesis and activity in cell lines conditionally immortalized with Simian Virus 40. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 11752-6.
6. Petit PX, Lecœur H, Zorn E, Dauguet C, Mignotte B, Gougeon ML. Alterations in mitochondrial structure and function are early events of dexamethasone-induced thymocytes apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 130: 157-67.
7. Zamzami N, Marchetti P, Castedo M, Zanin C, Vayssière JL, Petit PX, Kroemer G. Reduction in mitochondrial potential constitutes an early irreversible step of programmed lymphocyte death *in vivo*. *J Exp Med* 1995; 181: 1661-72.
8. Kroemer G, Petit PX, Zamzami N, Vayssière JL, Mignotte B. The biochemistry of programmed cell death. *FASEB J* 1995; 9: 1277-87.
9. Petit PX, Susin SA, Zamzami N, Mignotte B, Kroemer G. Mitochondria and programmed cell death: back to the future. *FEBS Lett* 1996; 396: 7-13.
10. Kroemer G, Zamzami N, Susin SA. Mitochondrial control of apoptosis. *Immunol Today* 1997; 18: 44-51.
11. Marchetti P, Susin SS, Decaudin D, Gamen S, Castedo M, Hirsch T, Zamzami N, Naval J, Senik A, Kroemer G. Apoptosis-associated derangement of mitochondrial function in cells lacking mitochondrial DNA. *Cancer Res* 1996; 56: 2033-8.
12. Sidoti-de Fraisse C, Rincheval V, Risler Y, Mignotte B, Vayssière JL. TNF- α activates at least two apoptotic signaling cascades. 1997; Soumis.
13. Bernardi P, Vassanelli S, Veronese P, Colonna R, Szabo I, Zoratti M. Modulation of the mitochondrial permeability transition pore. Effect of protons and divalent cations. *J Biol Chem* 1992; 267: 2934-9.
14. Petronilli V, Niccoli A, Costantini P, Colonna R, Bernardi P. Regulation of the permeability transition pore, a voltage-dependent mitochondrial channel inhibited by cyclosporin A. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1187: 255-9.
15. Carayon P, Portier M, Dussossoy D, Bord A, Petitpretre G, Canat X, Le Fur G, Casellas P. Involvement of peripheral benzodiazepine receptors in the protection of hematopoietic cells against oxygen radical damage. *Blood* 1996; 87: 3170-8.
16. Zamzami N, Marchetti P, Castedo M, Hirsch T, Susin SA, Masse B, Kroemer G. Inhibitors of permeability transition interfere with the disruption of the mitochondrial transmembrane potential during apoptosis. *FEBS Lett* 1996; 384: 53-7.
17. de la Coste A, Perret C. Bad est-elle la protéine cible des facteurs de survie? *Med Sci* 1997; 13: 384-6.
18. Decaudin D, Geley S, Hirsch T, Castedo M, Marchetti P, Macho A, Kofler R, Kroemer G. Bcl-2 and Bcl-X_L antagonize the mitochondrial dysfunction preceding nuclear apoptosis induced by chemotherapeutic agents. *Cancer Res* 1997; 57: 62-7.
19. Guénal I, Sidoti-de Fraisse C, Gaumer S, Mignotte B. Bcl-2 and Hsp27 act at different levels to suppress programmed cell death. *Oncogene* 1997; 15: 347-60.
20. Zhu W, Cowie A, Wasfy GW, Penn LZ, Leber B, Andrews DW. Bcl-2 mutants with restricted subcellular location reveal spatially distinct pathways for apoptosis in different cell types. *EMBO J* 1996; 15: 4130-41.
21. Zamzami N, Susin SA, Marchetti P, Hirsch T, Gomez-Monterrey I, Castedo M, Kroemer G. Mitochondrial control of nuclear apoptosis. *J Exp Med* 1996; 183: 1533-44.
22. Marchetti P, Hirsch T, Zamzami N, Castedo M, Decaudin D, Susin SA, Masse B, Kroemer G. Mitochondrial permeability transition triggers lymphocyte apoptosis. *J Immunol* 1996; 157: 4830-6.
23. Muchmore SW, Sattler M, Liang H, Meadows RP, Harlan JE, Yoon HS, Nettekheim D, Chang BS, Thompson CB, Wong SL, Ng SC, Fesik SW. X-ray and NMR structure of human Bcl-X_L, an inhibitor of programmed cell death. *Nature* 1996; 381: 335-41.
24. Minn AJ, Velez 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.
25. Schendel SL, Xie Z, Montal MO, Matsuyama S, Montal M, Reed JC. Channel formation by antiapoptotic protein Bcl-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 5113-8.
26. Susin SA, Zamzami N, Castedo M, Hirsch T, Marchetti P, Macho A, Daugas E, Geuskens M, Kroemer G. Bcl-2 inhibits the mitochondrial release of an apoptogenic protease. *J Exp Med* 1996; 184: 1-11.
27. Kharbanda S, Pandey P, Schofield L, Israels S, Roncinske R, Yoshida K, Bharti A, Yuan ZM, Saxena S, Weichselbaum R, Nalin C, Kufe D. Role for Bcl-x_L as an inhibitor of cytosolic cytochrome C accumulation in DNA damage-induced apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 6939-42.

RÉFÉRENCES

28. Olivier R, Otter I, Monney L, Wartmann M, Borner C. Bcl-2 does not require Raf kinase activity for its death-protective function. *Biochem J* 1997; 324: 75-83.
29. Chinnaiyan AM, O'Rourke K, Lane BR, Dixit VM. Interaction of CED-4 with CED-3 and CED-9: a molecular framework for cell death. *Science* 1997; 275: 1122-6.
30. Wu D, Wallen HD, Nunez G. Interaction and regulation of subcellular localization of CED-4 by CED-9. *Science* 1997; 275: 1126-9.
31. Cornillon S, Foa C, Davoust J, Buonavista N, Gross JD, Golstein P. Programmed cell death in Dictyostelium. *J Cell Sci* 1994; 107: 2691-704.
32. Welburn SC, Dale C, Ellis D, Beecroft R, Pearson TW. Apoptosis in procyclic Trypanosoma brucei rhodesiense *in vitro*. *Cell Death Diff* 1996; 3: 229-36.
33. Ameisen JC, Idziorek T, Billaut-Mulot O, Loyens M, Tissier JP, Potentier A, Ouassi A. Apoptosis in unicellular eukaryote (Trypanosoma cruzi): implications for the evolutionary origin and role of programmed cell death in the control of cell proliferation, differentiation and survival. *Cell Death Diff* 1995; 2: 285-300.
34. Szabo I, Bathori G, Wolff D, Starc T, Cola C, Zoratti M. The high-conductance channel of porin-less yeast mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1235: 115-25.
35. Greenhalf W, Stephan C, Chaudhuri B. Role of mitochondria and C-terminal membrane anchor Bcl2 in Bax induced growth arrest and mortality in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett* 1996; 380: 169-75.
36. Jürgensmeier J, Krajewski S, Armstrong RC, Wilson GM, Öltendorf T, Fritz LC, Reed JC, Otilie S. Bax- and Bak-induced cell death in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Mol Biol Cell* 1997; 8: 325-39.
37. Ink B, Zornig M, Baum B, Hajibagheri N, James C, Chittenden T, Evan G. Human Bak induces cell death in *Schizosaccharomyces pombe* with morphological changes similar to those with apoptosis in mammalian cells. *Mol Cell Biol* 1997; 17: 2468-74.
38. James C, Gschmeissner S, Fraser A, Evan G. CED-4 induces chromatin condensation in *Schizosaccharomyces pombe* and is inhibited by direct physical association with CED-9. *Curr Biol* 1997; 7: 246-52.
39. Gray MW. The evolutionary origins of organelles. *Trends Genet* 1989; 5: 294-9.
40. Claros MG, Perea J, Shu Y, Samatey FA, Popot JL, Jacq C. Limitations to *in vivo* import of hydrophobic proteins into yeast mitochondria. The case of a cytoplasmically synthesized apocytochrome b. *Eur J Biochem* 1995; 228: 762-71.
41. Boutibonnes P. La mort des bactéries: provoquée ou programmée ? subie ou voulue ? *Med Sci* 1997; 13: 73-80.
42. Jacobs HT. Structural similarities between a mitochondrially encoded polypeptide and a family of prokaryotic respiratory toxins involved in plasmid maintenance suggest a novel mechanism for the evolutionary maintenance of mitochondrial DNA. *J Mol Evol* 1991; 32: 333-9.
43. Schulz GE. Porins: general to specific, native to engineered passive pores. *Curr Opin Struct Biol* 1986; 6: 485-90.
44. Carmeli C, Lifshitz Y. Nucleotide transport in *Rhodobacter capsulatus*. *J Bacteriol* 1989; 171: 6521-5.
45. Armstrong GA, Alberti M, Leach F, Hearst JE. Nucleotide sequence, organization and nature of the protein product of the carotenoid biosynthesis gene cluster of *Rhodobacter capsulatus*. *Mol Gen Genet* 1989; 216: 254-68.
46. Hengartner MO, Horvitz HR. *C. elegans* cell survival gene *ced-9* encodes a functional homolog of the mammalian proto-oncogene *bcl 2*. *Cell* 1994; 76: 665-76.

B. Mignotte

Professeur à l'université de Versailles-Saint-Quentin.

J.L. Vayssière

Maître de conférence à l'université de Versailles-Saint-Quentin.

Centre de génétique moléculaire du Cnrs UPR 9061 et Université de Versailles-Saint-Quentin, EA 1636, 91198 Gif-sur-Yvette, France.

N. Zamzami

Chargé de recherche à l'Inserm.

P. Petit

Chargé de recherche au Cnrs.

G. Kroemer

Directeur de recherche à l'Inserm.

Cnrs UPR 420, IRC, 94800 Villejuif, France.

Summary

Mitochondrial control of apoptosis: did programmed cell death appear after the endosymbiotic event giving rise to mitochondria?

Most animal cells can undergo a process of programmed cell death called apoptosis. Cellular proteins involved in this self-destruction process have changed relatively little since the divergence of nematodes and vertebrates. It appears now that mitochondria occupy a strategic place in the control of apoptosis. In mammals, as well as in nematodes, proteins of the Bcl-2/Bcl-X/Ced-9 family inhibit apoptosis at least at two levels: regulation of membrane permeability to ions or pro-apoptotic molecules, and anchorage to the mitochondria of proteins involved in the transduction of apoptotic signals. It is now accepted that mitochondria are endosymbionts, originating in aerobic bacteria which were integrated by the ancestor of eukaryotic cells. A part of the apoptotic machinery could exist in unicellular eukaryotes and some components controlling apoptosis might be present in prokaryotes. It is therefore possible that the mechanism originally involved in the maintenance of the symbiosis between the bacterial ancestor of the mitochondria and the host cell precursor of eukaryotes, provided the basis for the actual mechanism controlling cell survival. Metazoans would have exploited this possibility by connecting the mitochondrial effectors of cellular death to the pathways of signal transduction.

HOTEL-DIEU - UNIVERSITÉ PARIS-VI - INSTITUT BENJAMIN-DELESSERT
38^e journée annuelle de nutrition et de diététique

CNIT - PARIS LA DÉFENSE (amphithéâtre Goethe)

Vendredi 16 janvier 1998

Président: Professeur Bernard GUY-GRAND

Vice-Présidents: Professeur Arnaud BASDEVANT,
Professeur Bernard MESSING, Professeur Gérard SLAMA
Secrétaire Générale: Marie-France CARRIE-MOYAL

Fondateurs: Professeur Henri BOUR,
Professeur Maurice DEROT, Docteur Guy HERAUD
Membre d'honneur: Docteur Michel RATHERY

Pour tous renseignements s'adresser au Secrétariat de la Journée Annuelle de Nutrition et de Diététique:

30, rue de Lübeck, 75116 Paris, France - Tél. : 01 45 53 41 69 de 10 h à 18 h

TIRÉS À PART

B. Mignotte.