

Les protéines à BH3-seulement à l'origine de maladies auto-immunes ou dégénératives ?

Philippe Bouillet

Molecular Genetics of
Cancer Division,
The Walter and
Eliza Hall Institute, PO
The Royal Melbourne
Hospital, Parkville,
Vic 3050, Australie.
bouillet@wehi.edu.au

> La mort cellulaire programmée, ou apoptose, est le mécanisme par lequel tout organisme multicellulaire élimine les cellules dont il n'a plus besoin, soit parce qu'elles ont fini de remplir leur mission, soit parce qu'elles ont été endommagées ou rendues potentiellement dangereuses (à cause de mutations induites par des radiations par exemple). L'apoptose joue aussi un rôle primordial dans la sculpture des organes au cours de l'embryogenèse. Des anomalies de contrôle de l'apoptose peuvent être à l'origine de certaines maladies, ou en être des facteurs aggravants. Par exemple, la survie de cellules qui normalement devraient mourir peut conduire au développement de pathologies cancéreuses ou à des maladies auto-immunes [1-3] (→) m/s 2001, n°5, p. 655. À l'inverse, la mort inappropriée de cellules à longue durée de vie, comme les neurones, peut être la cause de maladies dégénératives [4, 5]. La mort cellulaire est provoquée par l'activation de protéases appelées caspases, qui dégradent des constituants essentiels de la cellule [6]. Les caspases existent normalement sous une forme inactive dans la cellule. Elles sont activées soit par d'autres caspases qui ont été elles-mêmes activées, soit à la suite de leur agrégation dans un complexe nommé apoptosome comprenant des protéines adaptatrices (dont Apaf-1) et des cofacteurs (dont l'ATP et le cytochrome c). Les protéines de la famille Bcl-2 sont des facteurs de régulation essentiels de l'activation des caspases [7].

La famille Bcl-2 comprend les protéines anti-apoptotiques (Bcl-2, Bcl-x, Bcl-w, A-1 et Mcl-1) qui possèdent toutes trois ou quatre des domaines propres à cette famille (BH1-4). Les protéines pro-apoptotiques peuvent être divisées en deux sous-groupes : Bax, Bak et Bok contiennent deux ou trois des domaines BH, alors qu'au moins huit autres protéines ne contiennent que le domaine BH3. Bim est l'une de ces protéines à BH3-seulement (→), et notre travail sur cette protéine a largement contribué à la notion que les protéines à BH3-seulement sont essentielles au déclenchement de la cascade apoptotique contrôlée par la famille Bcl-2 [3, 8, 9].

Toutes sortes de signaux peuvent induire à la cellule qu'elle doit mourir : certains sont physiologiques, l'absence de facteurs de croissance et la perturbation des flux de calcium pour ne citer que ces deux exemples. D'autres ne sont pas physiologiques et sont utilisés à des fins thérapeutiques pour détruire des cellules tumorales : c'est le cas des radiations, des glucocorticoïdes ou de certaines drogues cytotoxiques. Notre approche expérimentale du contrôle de l'apoptose passe par le développement de souris auxquelles il manque un ou plusieurs de ces gènes

régulateurs de la famille Bcl-2, espérant que les dysfonctionnements engendrés par l'absence d'un de ces gènes nous renseigneront sur sa fonction physiologique.

Par exemple, en l'absence de *Bcl-2*, un gène anti-apoptotique, de nombreuses cellules qui normalement devraient survivre, meurent. Par conséquent, les souris *bcl-2*^{-/-} ont un déficit immunitaire, des reins polykystiques, et elles deviennent grises au second cycle des follicules pileux [5]. Ces défauts reflètent l'apoptose inappropriée de lymphocytes, de cellules souches épithéliales rénales et de précurseurs des mélanocytes. Les anomalies rénales sont à l'origine du grave retard de croissance observé chez ces souris et de leur mort prématurée à l'âge de 3 à 6 semaines.

La protéine Bim, en revanche, interprète et transmet des signaux de mort par apoptose. Nous avons montré que la protéine Bim est particulièrement

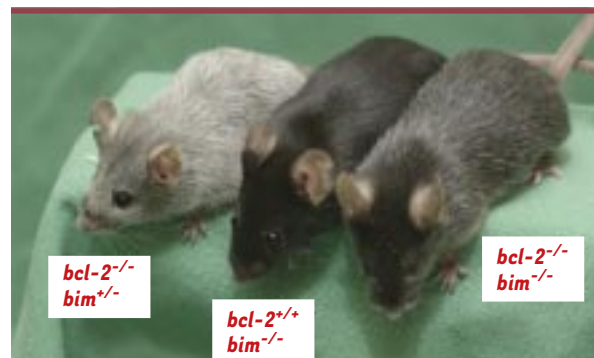


Figure 1. Conséquences de l'inactivation des gènes de la famille Bcl-2 sur la pigmentation, la taille et le phénotype des souris mutantes.



importante pour détecter l'absence de facteurs de croissance ou les perturbations des flux de calcium [3]. En son absence, certains signaux pro-apoptotiques ne sont pas transmis et, en conséquence, certaines cellules s'accumulent au lieu de disparaître. C'est ainsi que les souris *Bim*^{-/-} ont un excès de lymphocytes, en particulier un grand excès de cellules B productrices d'anticorps. La présence anormale d'anticorps dirigés contre des antigènes du soi (auto-antigènes) est détectée chez ces animaux au-delà de six mois, et un dysfonctionnement rénal dû à une précipitation d'immunoglobulines dans les tubules et les glomérules est à l'origine de leur mort prématurée. Des symptômes similaires sont observés chez les patients souffrant de lupus érythémateux.

En croisant les souris *bim*^{-/-} avec les souris *bcl-2*^{-/-}, nous avons créé des souris n'exprimant ni l'un ni l'autre de ces gènes (*bim*^{-/-}*bcl-2*^{-/-}), ainsi que des souris ne possédant qu'un seul allèle de l'un ou l'autre (*bim*^{+/-}*bcl-2*^{-/-} et *bim*^{-/-}*bcl-2*^{+/-}) [8]. Curieusement, l'ablation d'un seul allèle du gène *bim* suffit à prévenir complètement l'apparition de kystes rénaux chez les souris dépourvues de protéine Bcl-2, ce qui élimine aussi tout retard de croissance. L'ablation des deux allèles de *bim* confère aux souris *bcl-2*^{-/-} un système immunitaire encore plus efficace que celui de souris sauvages, très proche de celui des souris *bim*^{-/-}, et empêche aussi le défaut mélanocytaire à l'origine de leur grisonnement prématuré (Figure 1). Ces résultats montrent que Bim est la protéine responsable de la dégénérescence observée dans les différents tissus affectés par l'absence de Bcl-2. Dans ces différents tissus, aucune des autres protéines à BH3-seulement de la famille Bcl-2 ne peut compenser la perte de Bim.

Nous avons récemment démontré un autre rôle important Bim dans la prévention de l'auto-immunité [10]. Au cours du développement lymphocytaire T

dans le thymus, l'assemblage des gènes codant pour les TCR (récepteurs des antigènes des cellules T) se fait par recombinaison de différents segments des gènes codant pour les TCR. Ce processus au hasard engendre l'apparition de cellules T arborant un complexe (TCR)/CD3 capable de reconnaître des auto-antigènes. Ces cellules sont très dangereuses pour l'organisme, puisqu'elles ont le potentiel de déclencher des réactions auto-immunes. C'est pourquoi de telles cellules sont normalement éliminées du thymus lors du processus de sélection négative par apoptose. En utilisant six modèles expérimentaux différents de sélection négative, nous avons montré que Bim joue un rôle majeur dans l'élimination des thymocytes auto-réactifs [10]. De plus, nous avons maintenant démontré que Bim est aussi essentielle au processus apoptotique induit par l'activation des effecteurs lymphocytaires T et B. Il se confirme donc que Bim joue un rôle critique dans la prévention de l'auto-immunité.

Une régulation anormale du gène *bim* pourrait donc être à l'origine de certaines maladies auto-immunes ou dégénératives. Il est fort probable que certains des gènes codant pour les autres protéines à BH3-seulement ont des propriétés semblables. Nous étudions cette possibilité en créant des souris déficientes pour ces autres protéines. Si tel est le cas, les gènes des protéines à BH3-seulement seront des cibles très attractives pour les médicaments du futur. ♦

BH3-only proteins and autoimmunity

RÉFÉRENCES

1. Strasser A, Harris AW, Bath ML, Cory S. Novel primitive lymphoid tumours induced in transgenic mice by cooperation between *myc* and *bcl-2*. *Nature* 1990; 348 : 331-3.
2. Vaux DL, Cory S, Adams JM. *Bcl-2* gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with *c-myc* to immortalize pre-B cells. *Nature* 1988; 335 : 440-2.
3. Bouillet P, Metcalf D, Huang DCS, et al. Proapoptotic Bcl-2 relative Bim required for certain apoptotic responses, leukocyte homeostasis, and to preclude autoimmunity. *Science* 1999; 286 : 1735-8.
4. Barr PJ, Tomei LD. Apoptosis and its role in human disease. *Biotechnology* 1994; 12 : 487-93.
5. Nakayama K, Nakayama KI, Negishi I, Kuida K, Sawa H, Loh DY. Targeted disruption of *bcl-2ab* in mice: occurrence of gray hair, polycystic kidney disease, and lymphocytopenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91 : 3700-4.
6. Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. *Science* 1998; 281 : 1312-6.
7. Adams JM, Cory S. Life-or-death decisions by the Bcl-2 protein family. *Trends Biochem Sci* 2001; 26 : 61-6.
8. Bouillet P, Cory S, Zhang LC, Strasser A, Adams JM. Degenerative disorders caused by Bcl-2 deficiency are prevented by loss of its BH3-only antagonist Bim. *Dev Cell* 2001; 1 : 645-53.
9. Huang DCS, Strasser A. BH3-only proteins: essential initiators of apoptotic cell death. *Cell* 2000; 103 : 839-42.
10. Bouillet P, Purton JF, Godfrey DI, et al. BH3-only Bcl-2 family member Bim is required for apoptosis of autoreactive thymocytes. *Nature* 2002; 418 : 108.