

université  
PARIS-SACLAY

# Dynamique Cellulaire

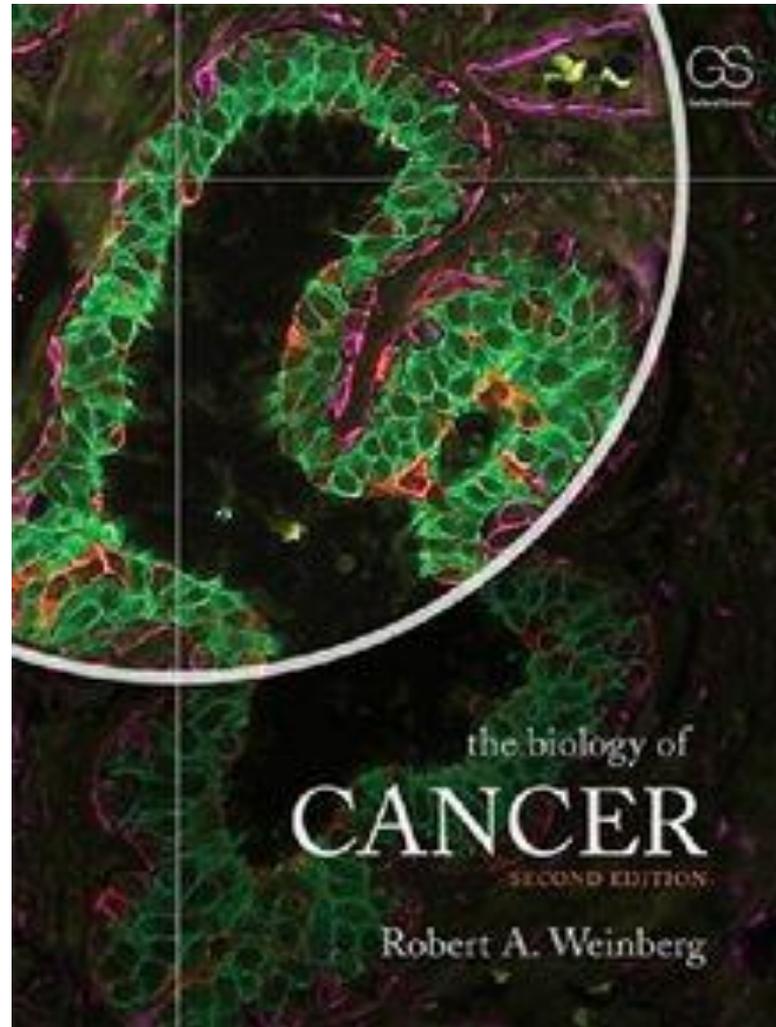
# Apoptose

Dr Olivier DELLIS

Physiopathogénèse et Traitement des Maladies du Foie

UMRS 1193 INSERM

[olivier.dellis@universite-paris-saclay.fr](mailto:olivier.dellis@universite-paris-saclay.fr)

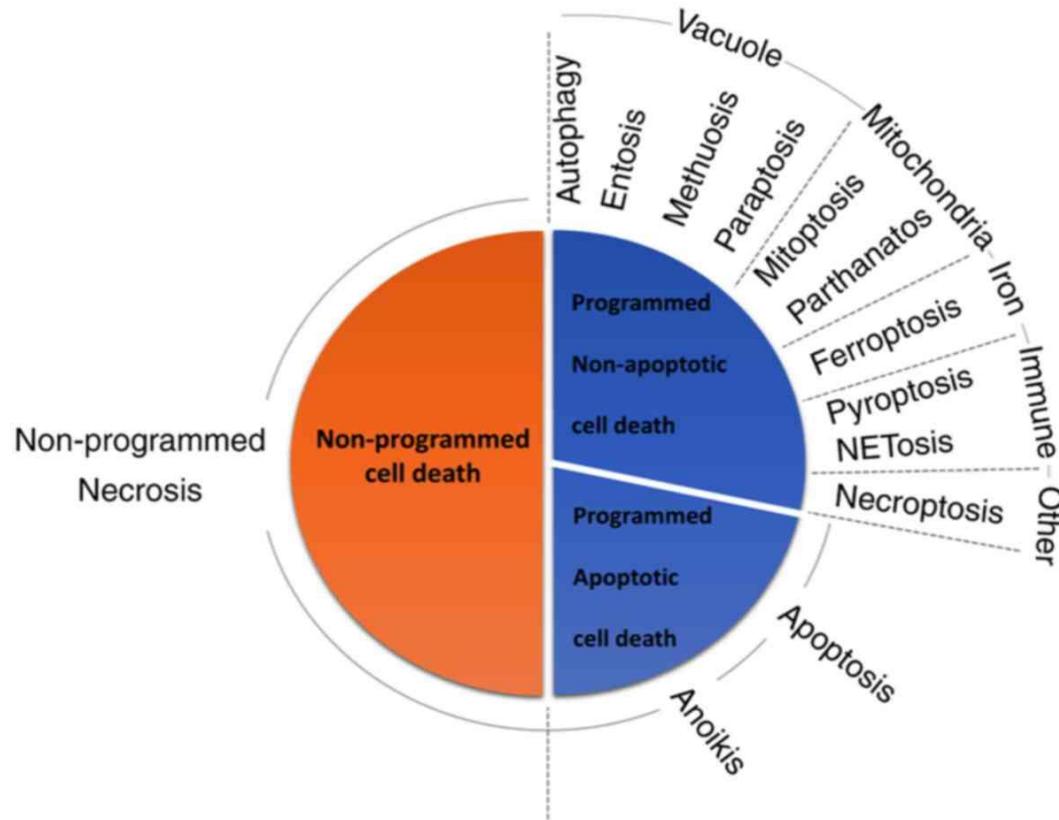


# Sommaire:

1. Différentes morts cellulaires
2. Apoptose
3. Gènes de l'apoptose

# 1. Différentes morts cellulaires

# Les X types de mort cellulaire

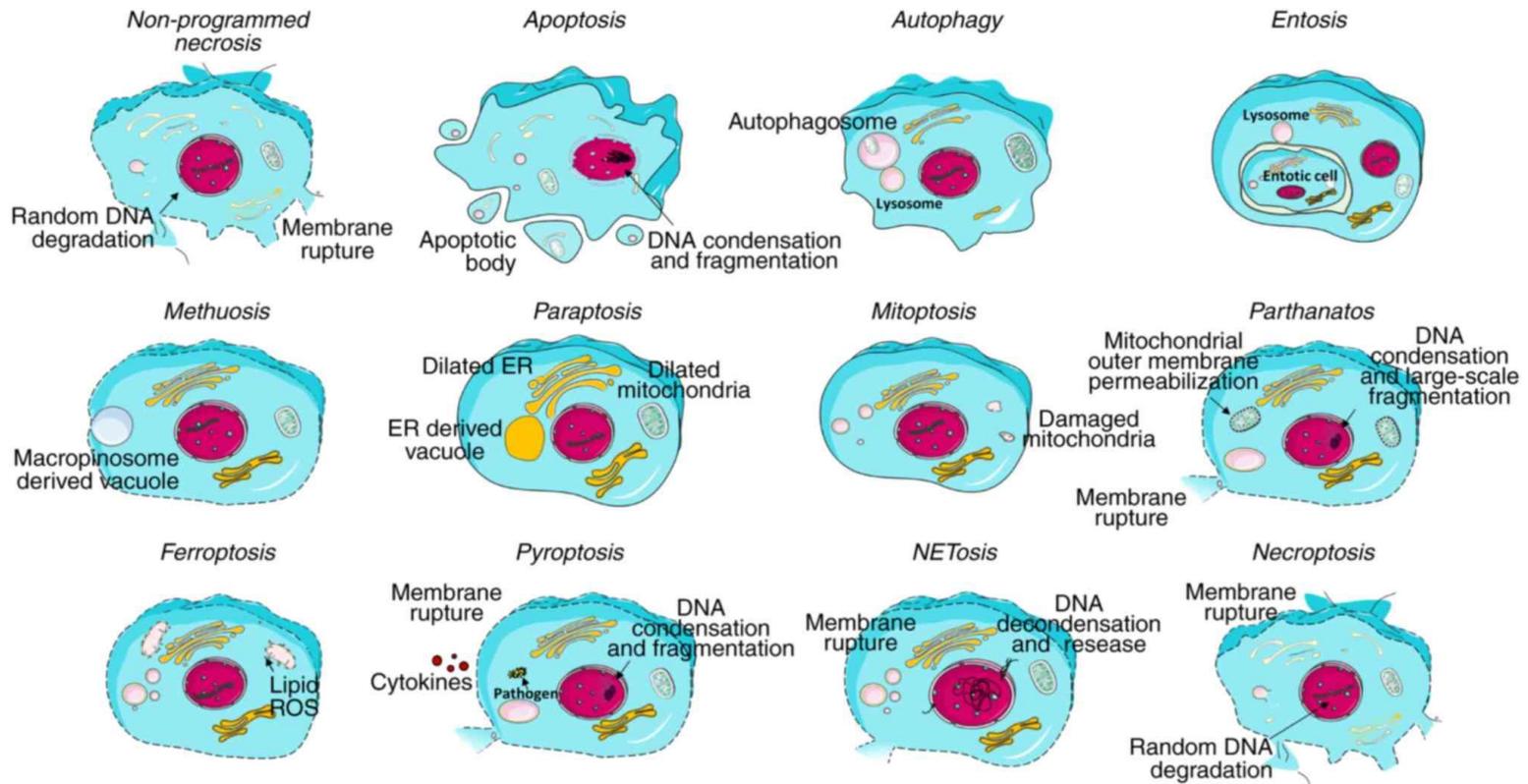


Yan, 2020

Programmé / pas programmé  
→ Perception de signaux extérieurs

# Les X types de mort cellulaire

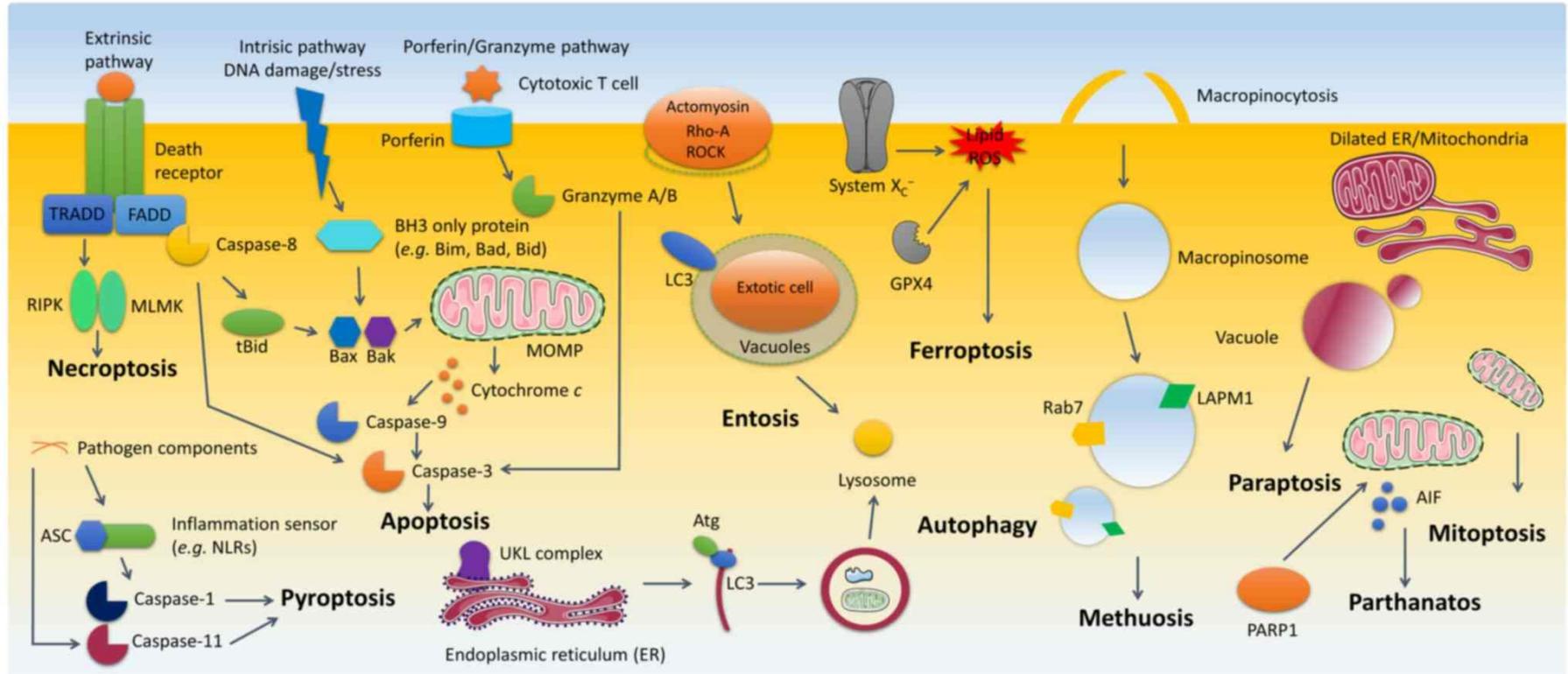
Yan, 2020



Morphologies et évènements cellulaires différents

# Les X types de mort cellulaire

Yan, 2020



Evènements cellulaires différents

# 2. Apoptose

# Apoptose

*Br. J. Cancer* (1972) **26**, 239

## **APOPTOSIS: A BASIC BIOLOGICAL PHENOMENON WITH WIDE-RANGING IMPLICATIONS IN TISSUE KINETICS**

J. F. R. KERR\*, A. H. WYLLIE AND A. R. CURRIE†

*From the Department of Pathology, University of Aberdeen*

Received for publication April 1972

Apo (= au loin / à partir de) + Ptoxis (= chute)

« apoptose en complément de la mitose pour le contrôle cellulaire »

→ **processus actif !**

# Les multiples rôles de l'apoptose

Développement

Différenciation

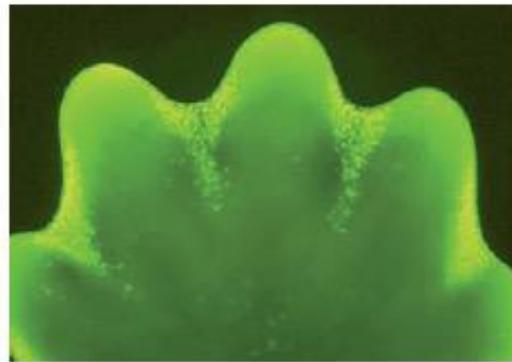
Régulation et fonctionnalité du système immunitaire

Élimination des cellules anormales (et/ou infectées)

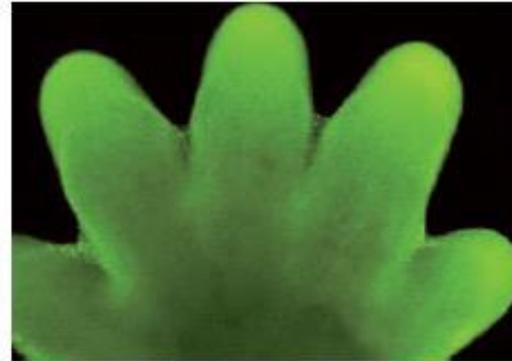
Prolifération et maintien de l'homéostasie

# Apoptose dans le développement

1. « Sculpture » des organes  
→ ex: la digitation



(A)



(B)

1 mm

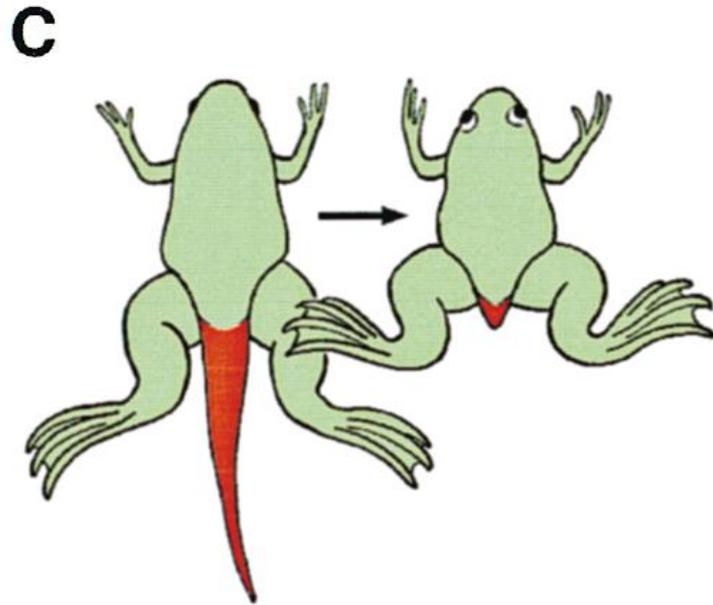
+ 24h

Patte de souris  
(Alberts, Molecular Bio Cell)

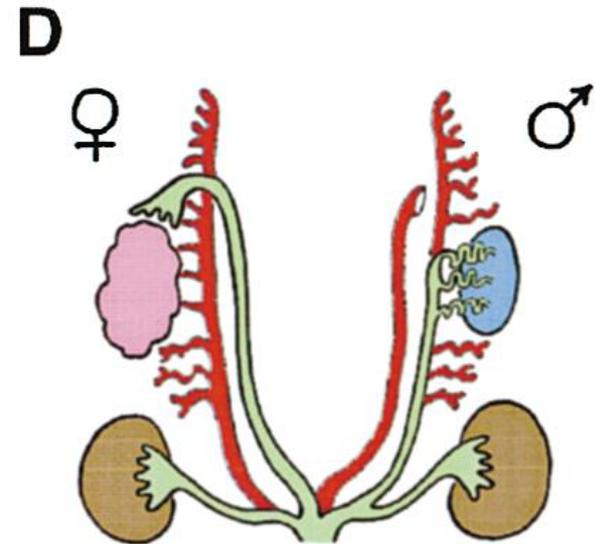
# Apoptose dans le développement

## 2. Elimination de structures vestigiales

Jacobson, 1997



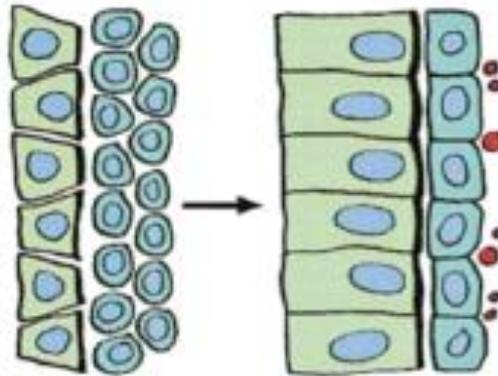
Perte de la queue du têtard



Elimination des canaux de:  
· Wolf chez les femelles  
· Müller chez les mâles

# Apoptose dans le développement

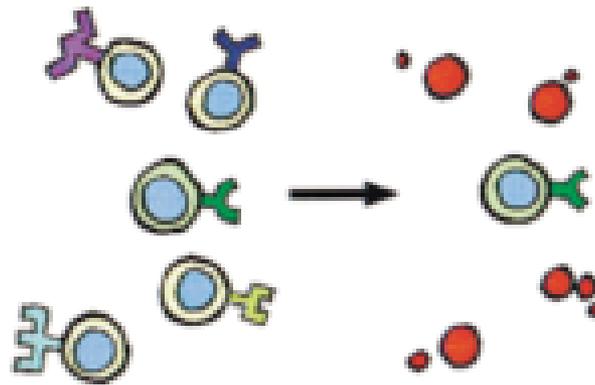
## 3. Ajustement du nombre de cellules



Exemple dans le système nerveux: élimination du nombre d'oligodendrocytes pour coller au nombre neurones (-50%)

# Apoptose dans le développement

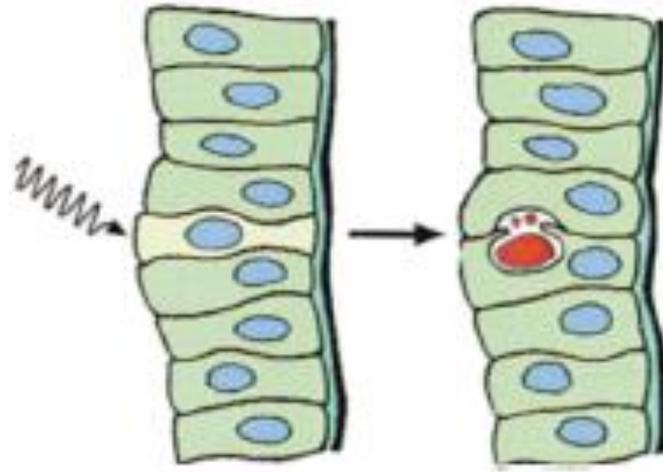
4. Elimination de cellules anormales, non-fonctionnelles, mal localisées ou dangereuses pour l'organisme



Exemple dans le système immunitaire: élimination des cellules autoréactives (-95%)

# Apoptose dans le développement

5. Elimination de cellules endommagées ne pouvant être réparées



# Apoptose et pathologies humaines

## Inhibition

### Cancers

Accumulation de cellules

Résistance aux thérapies

Surveillance défectueuse du système immunitaire

lymphomes, carcinomes, tumeurs hormono-dépendantes

### Maladies auto-immunes

non-élimination des cellules autoréactives

### Infections virales

non-élimination des cellules infectées (herpès...)

# Apoptose et pathologies humaines

## Activation

### **SIDA**

Déplétion des lymphocytes T

### **Maladies neurodégénératives**

Alzheimer (perte neurones cholinergiques)

Parkinson (perte neurones dopaminergiques)

Sclérose amyotrophique latérale

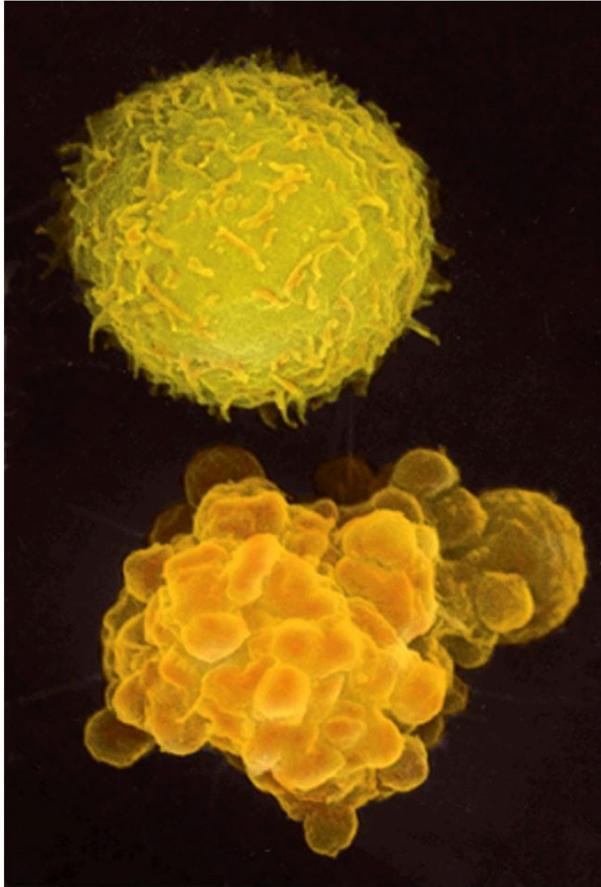
### **Maladies auto-immunes**

Mort excessive dans des organes spécifiques

### **Lésions ischémiques**

Infarctus du myocarde

# Manifestations de l'apoptose



Lymphocyte normal vs. apoptotique  
→ bourgeonnement

Figure 9.18a The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

# Manifestations de l'apoptose

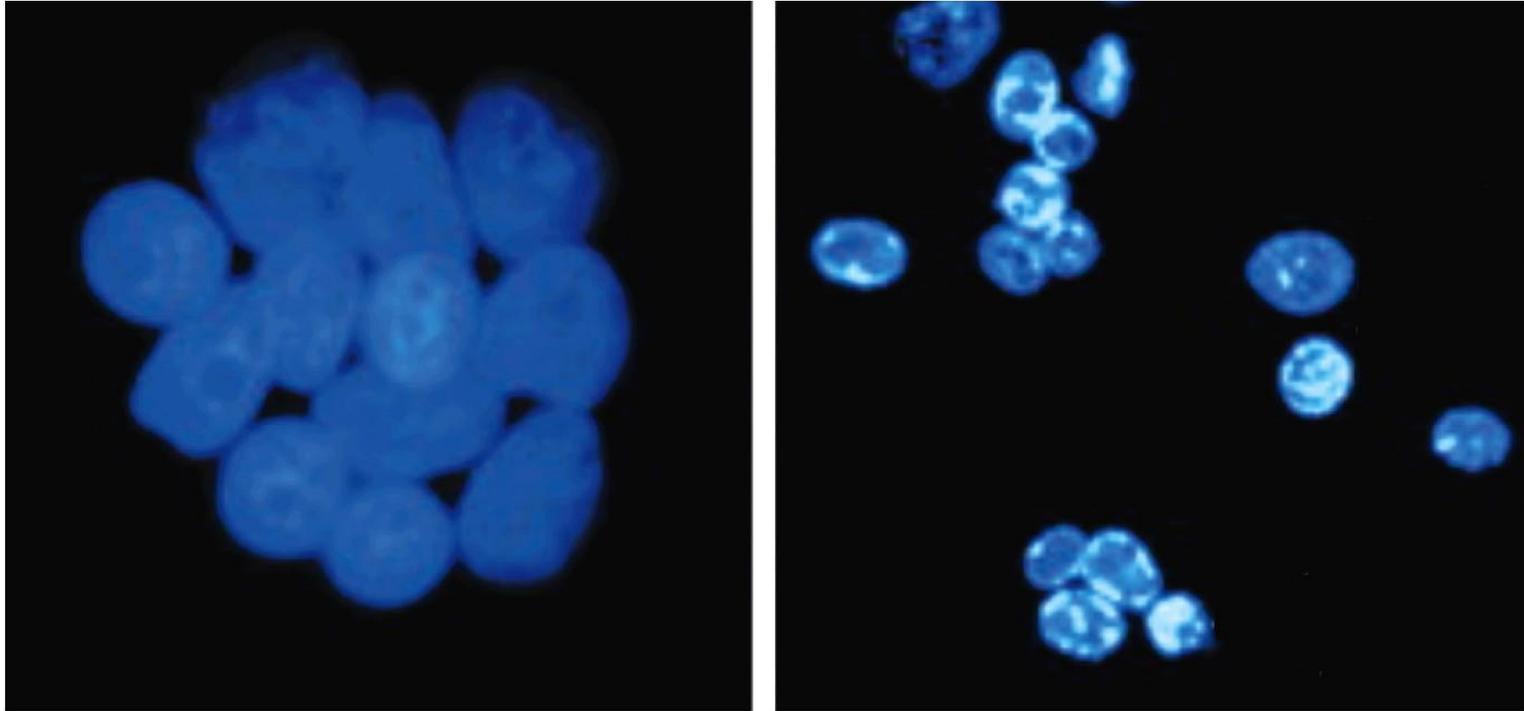


Figure 9.18b The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

Cellules HeLa normales vs. apoptotiques  
→ condensation ADN, déstructuration du noyau

# Manifestations de l'apoptose

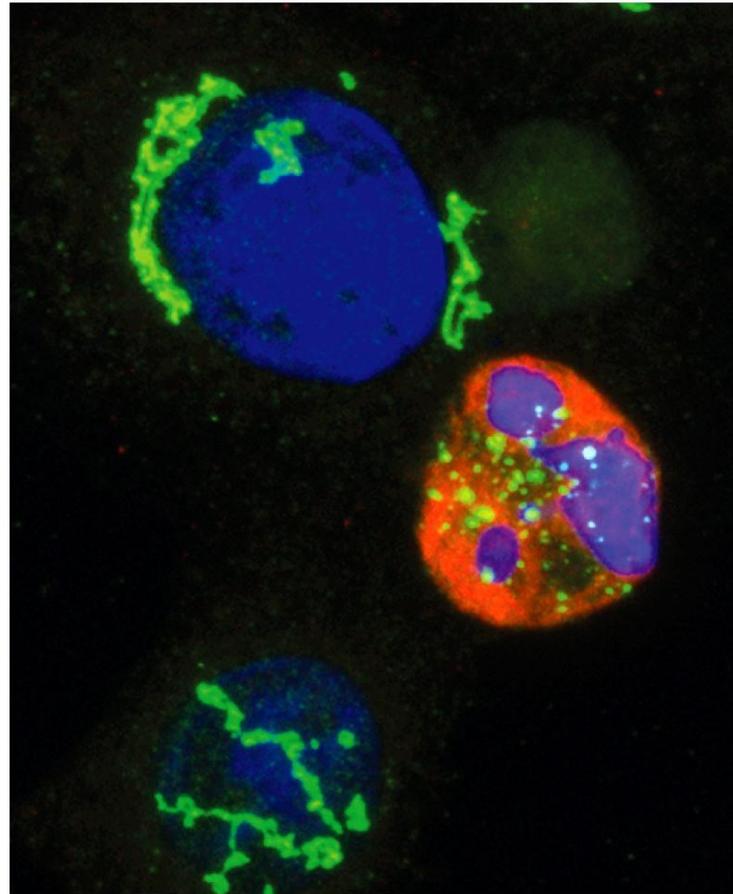
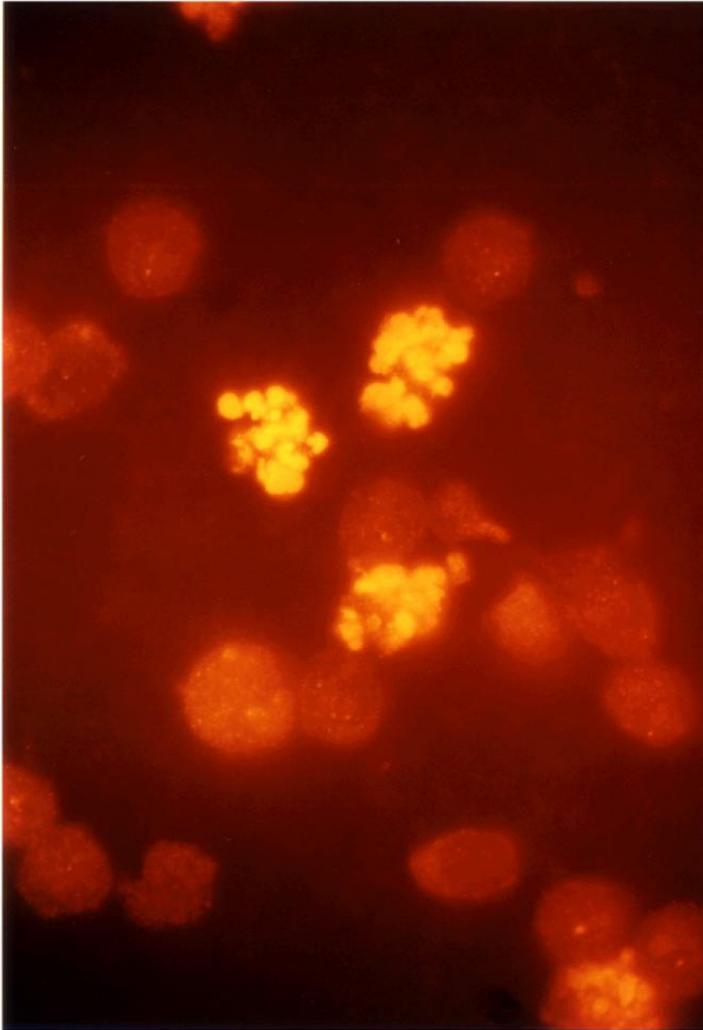


Figure 9.18d The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

Fragmentation et délocalisation de l'appareil de Golgi

# Manifestations de l'apoptose



Détection de l'histone H2B  
phosphoSer 14  
→ condensation ADN

Figure 9.18e The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

# Manifestations de l'apoptose

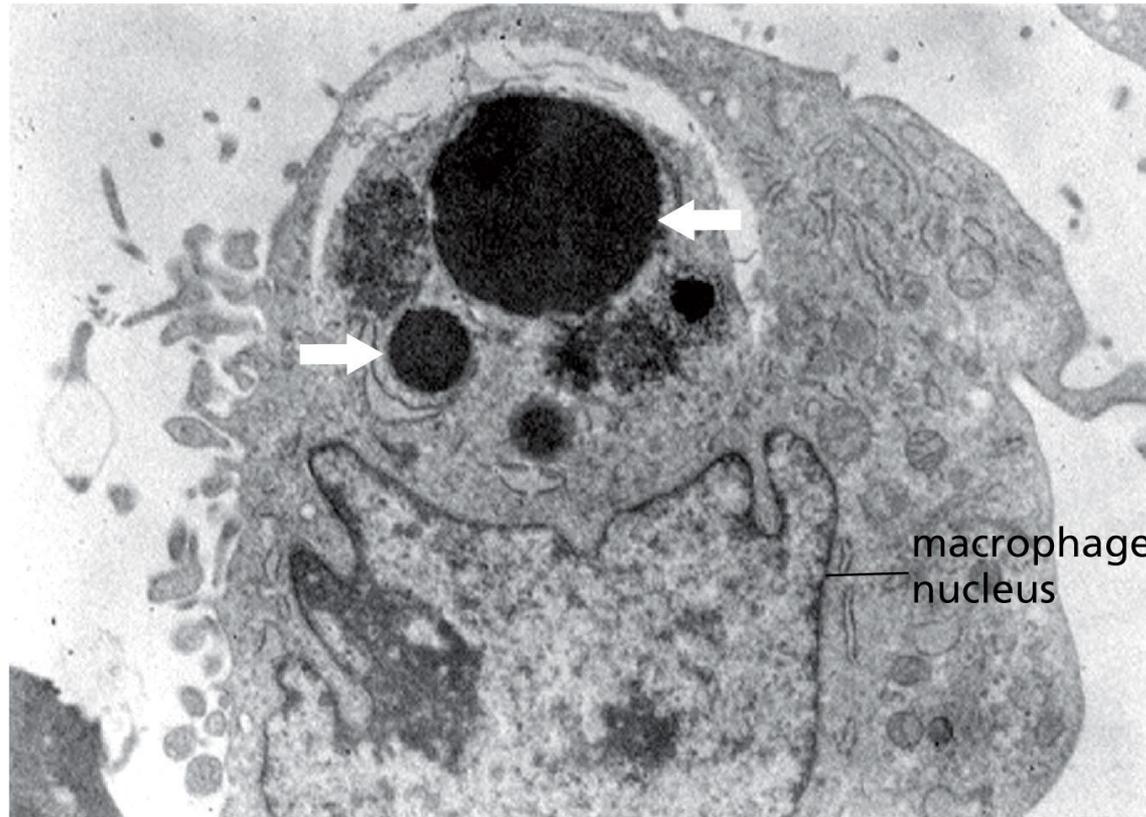
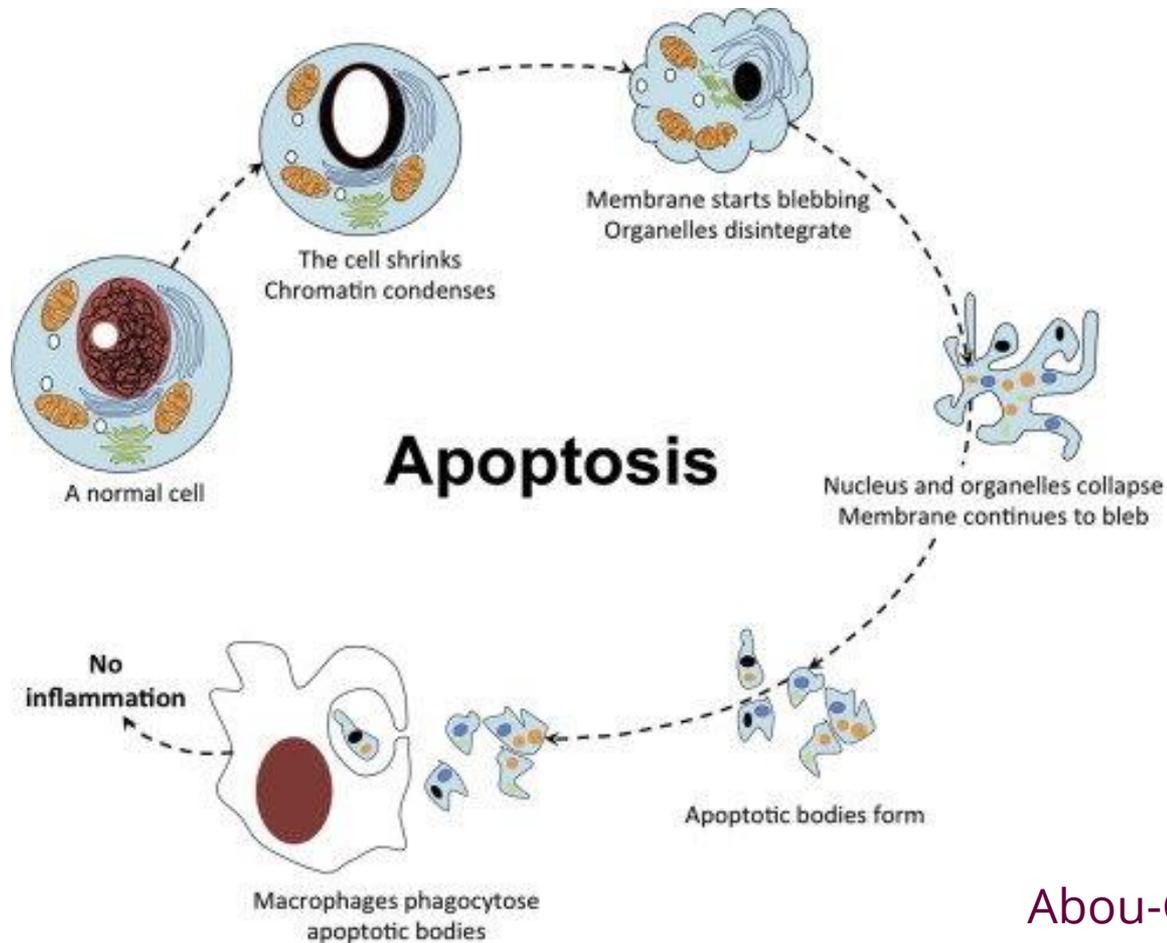


Figure 9.18f The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

Phagocytose des corps apoptotiques

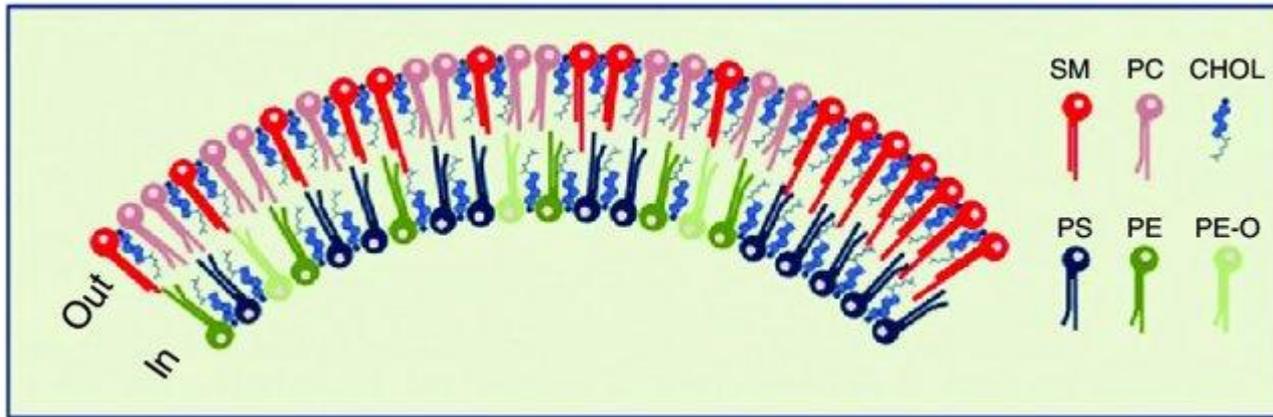
# Aspects cytologiques de l'apoptose



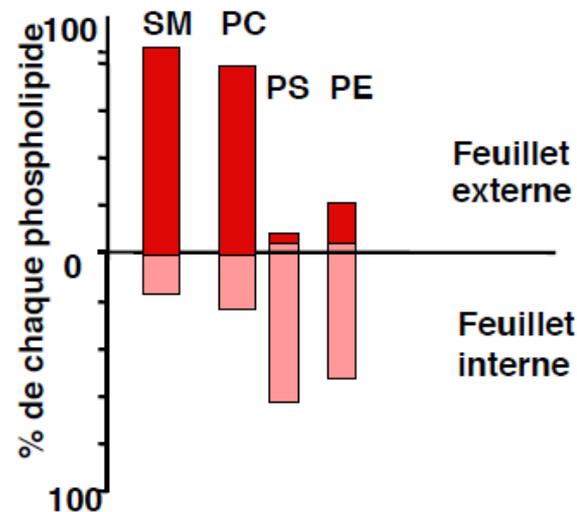
Abou-Ghali 2015

# Comment détecter l'apoptose ?

→ détecter la phosphatidylsérine exposée à l'extérieur

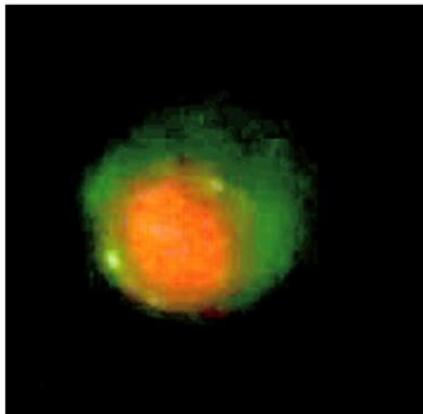


Skotland 2019



# Comment détecter l'apoptose ?

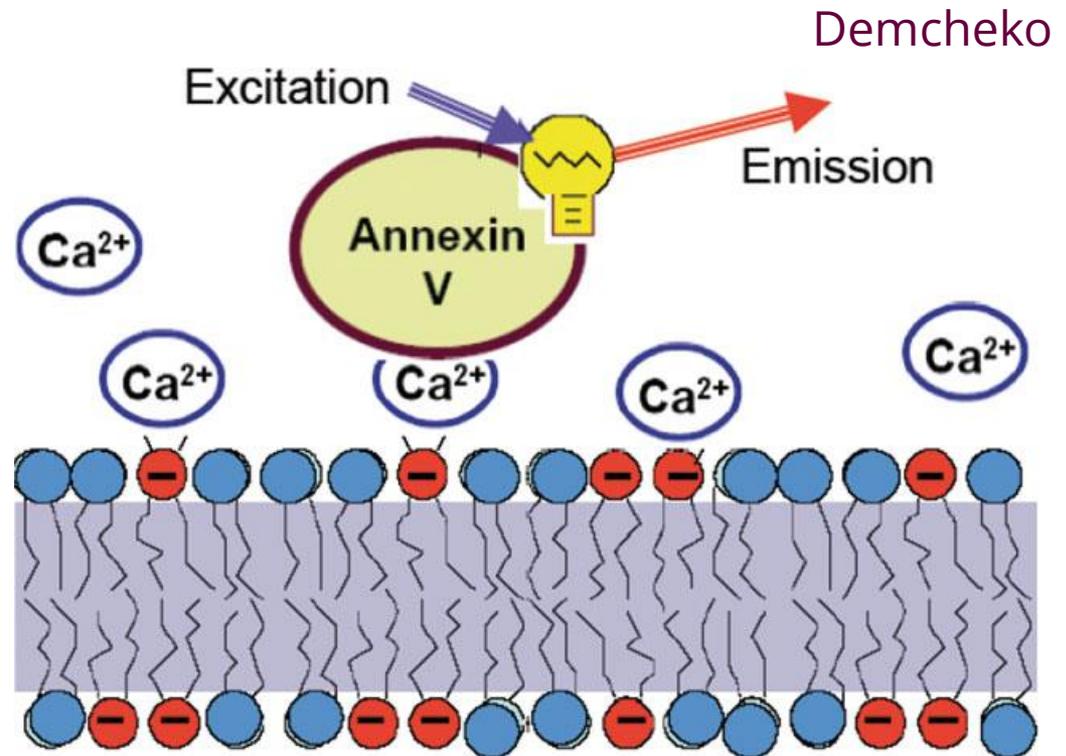
→ détecter la phosphatidylsérine exposée à l'extérieur



(A)

Figure 9.19 The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

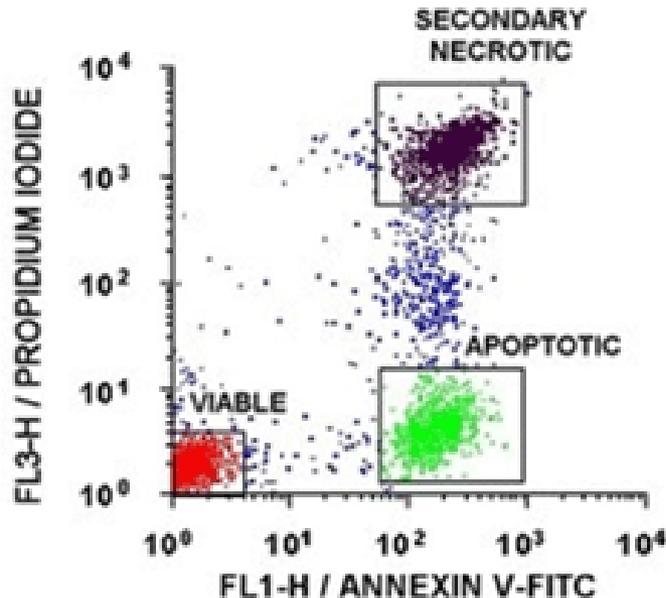
Vert = annexine V  
Orange = iodure de propidium



Annexine V a une très forte affinité pour la PS

# Comment détecter l'apoptose ?

→ détecter la phosphatidylsérine exposée à l'extérieur

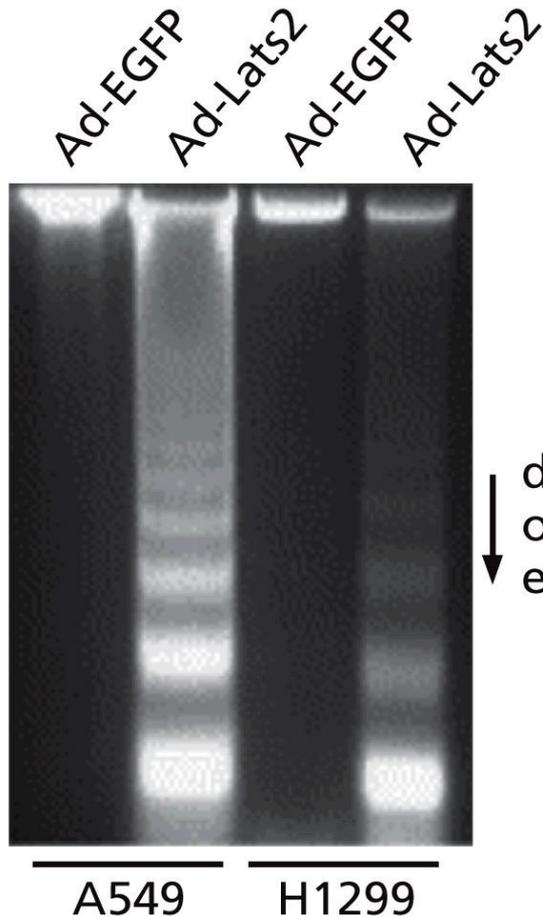


Marquage Annexine V = apoptose  
Marquage PI = membrane disloquée  
(apoptose tardive/ nécrose)

Rq: PS sera détectée par les phagocytes

# Comment détecter l'apoptose ?

→ détecter la fragmentation de l'ADN

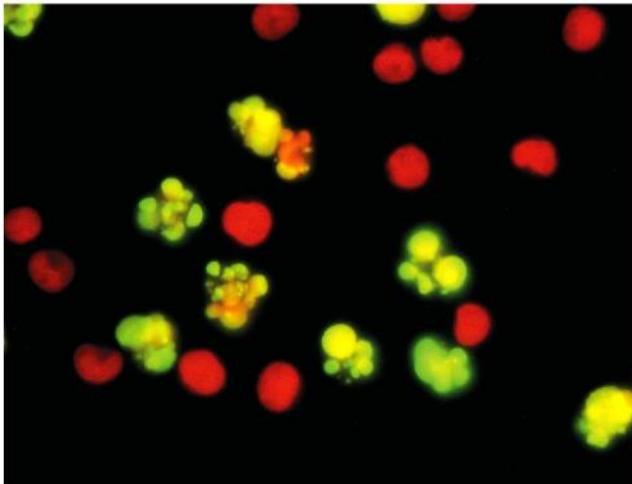
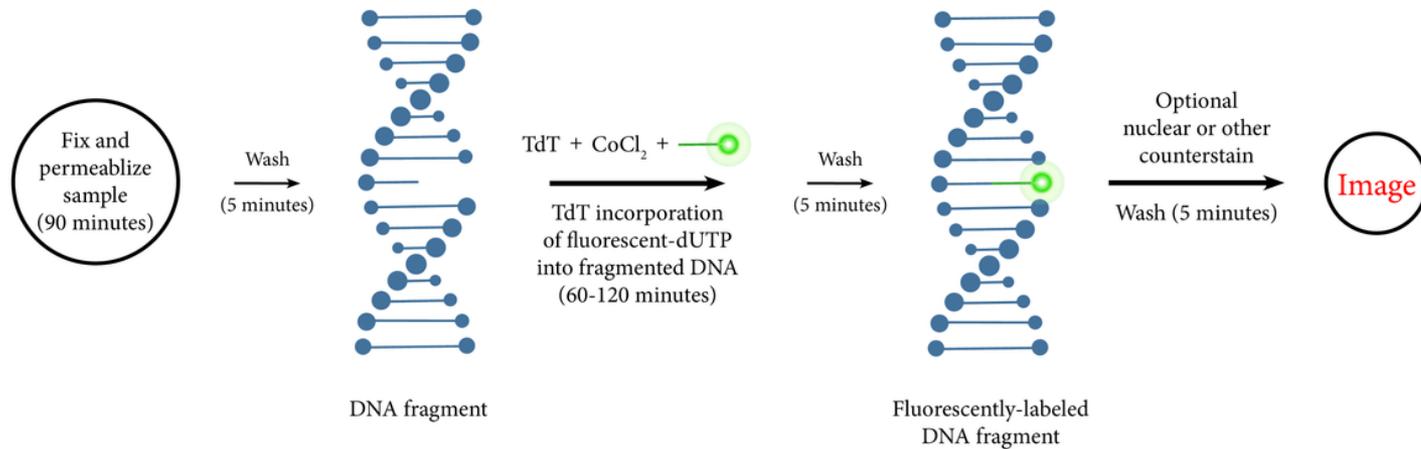


Lats2 = protéine pro-apoptotique  
→ ADN clivé

Figure 9.18c The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

# Comment détecter l'apoptose ?

→ détecter les cassures de l'ADN



(B)

= **T**erminal deoxynucleotidyl transferase mediated **dU**TP **n**ick-**e**nd labelling

# Apoptose vs. nécrose

Table 9.3 Apoptosis versus necrosis

	Apoptosis	Necrosis
<b>Provoking stimuli</b>		
	programmed tissue remodeling	metabolic stresses
	maintenance of cell pool size	absence of nutrients
	genomic damage	changes in pH, temperature
	metabolic derangement	hypoxia, anoxia
	hypoxia	
	imbalances in signaling pathways	
<b>Morphological changes</b>		
Affected cells	individual cells	groups of cells
Cell volume	decreased	increased
Chromatin	condensed	fragmented
Lysosomes	unaffected	abnormal
Mitochondria	morphologically normal initially	morphologically aberrant
Inflammatory response	none	marked
Cell fate	apoptotic bodies consumed by neighboring cells	lysis
<b>Molecular changes</b>		
Gene activity	required for program	not needed
Chromosomal DNA	cleaved at specific sites	random cleavage
Intracellular calcium	increased	unaffected
Ion pumps	continue to function	lost

Adapted from R.J.B. King, Cancer Biology, 2nd ed. Harlow, UK: Pearson Education, 2000.

Table 9.3 The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

# 3. Gènes de l'apoptose

# Découverte



Sydney Brenner  
Prize share: 1/3

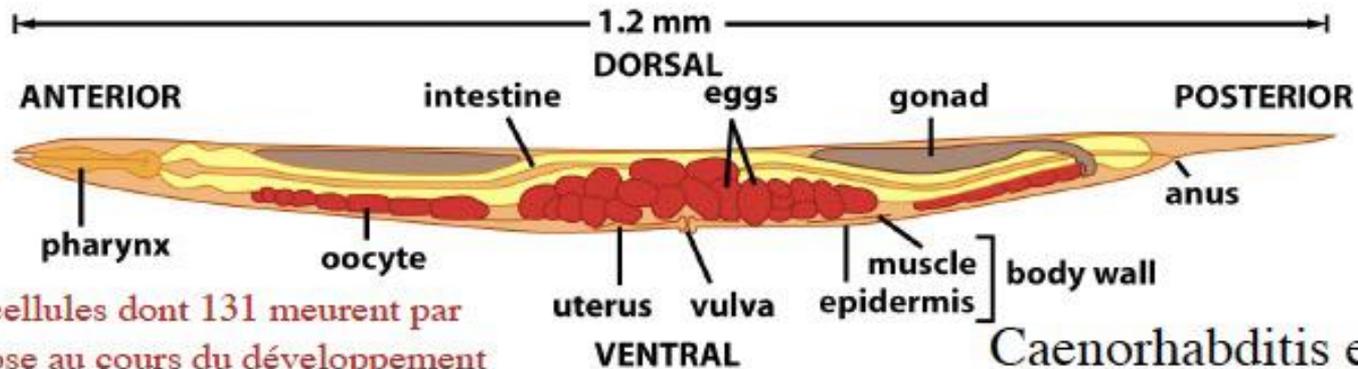
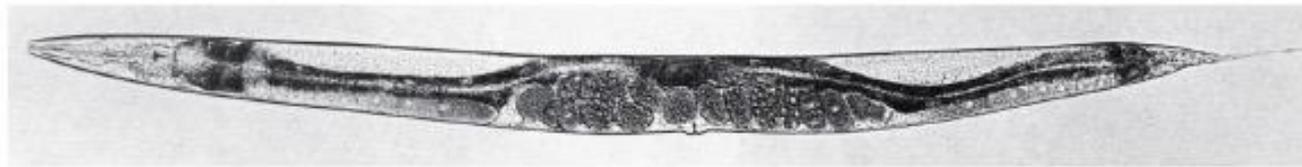


H. Robert Horvitz  
Prize share: 1/3



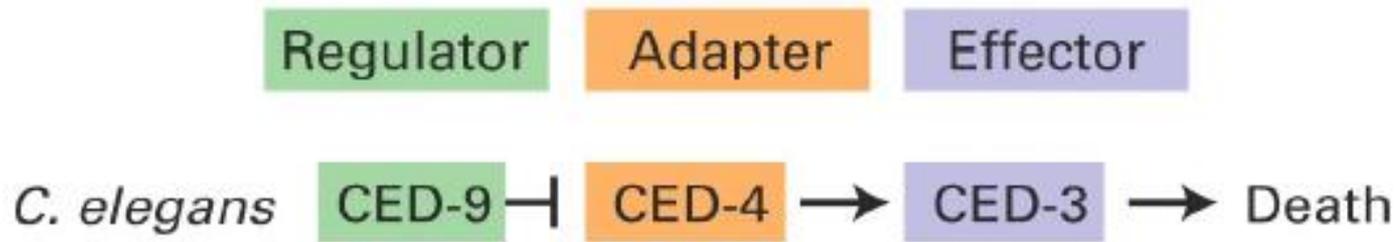
John E. Sulston  
Prize share: 1/3

Prix Nobel 2002



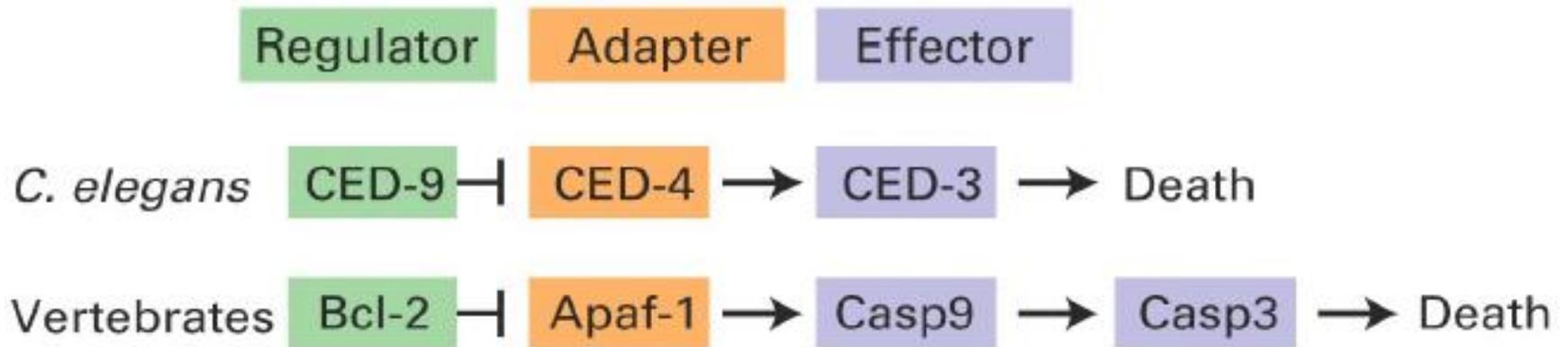
1090 cellules dont 131 meurent par apoptose au cours du développement

# Gènes CED...



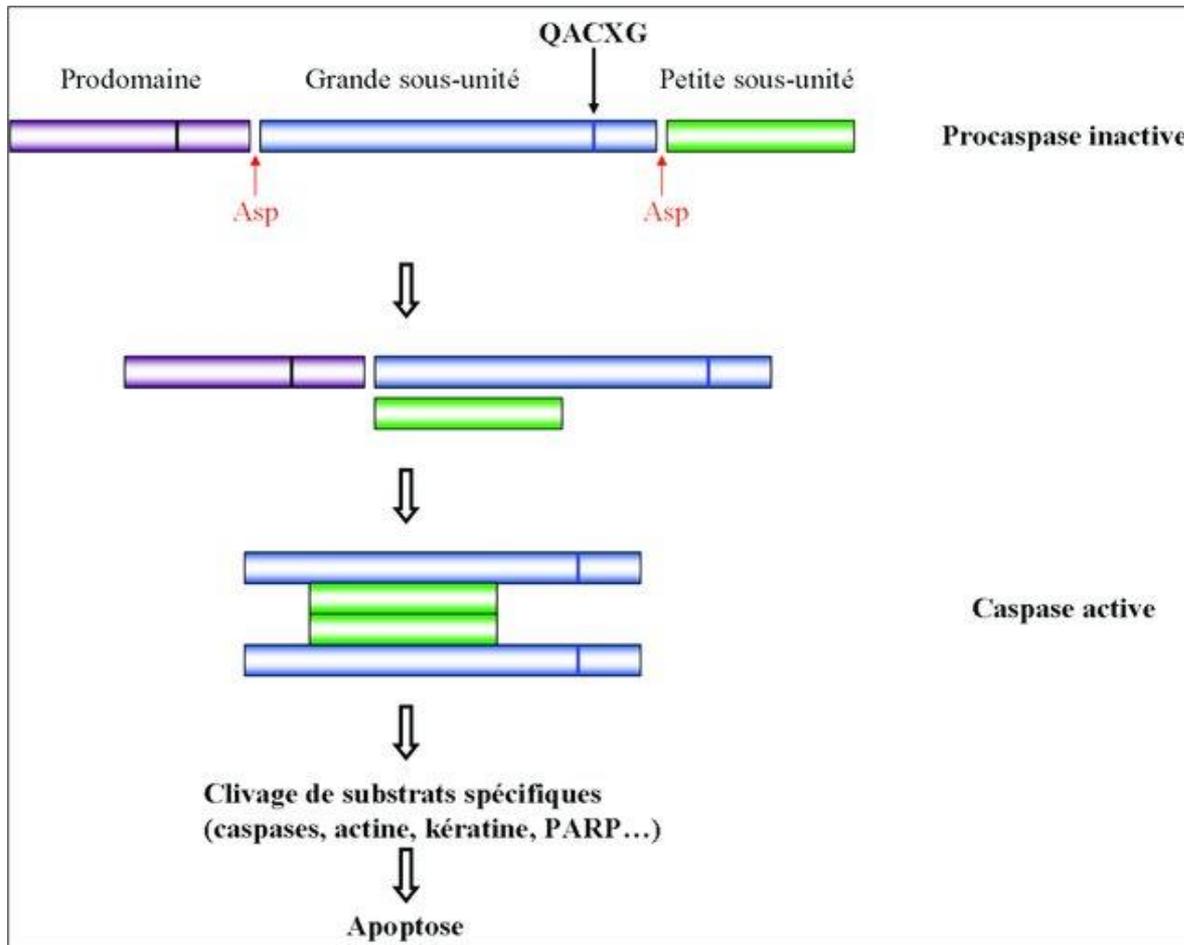
CED4 et CED3 déclenchent l'apoptose  
CED9 les régule

# Gènes très conservés



# Les caspases

= Cystein-dependent **asp**artate-specific protease



Busser 2009

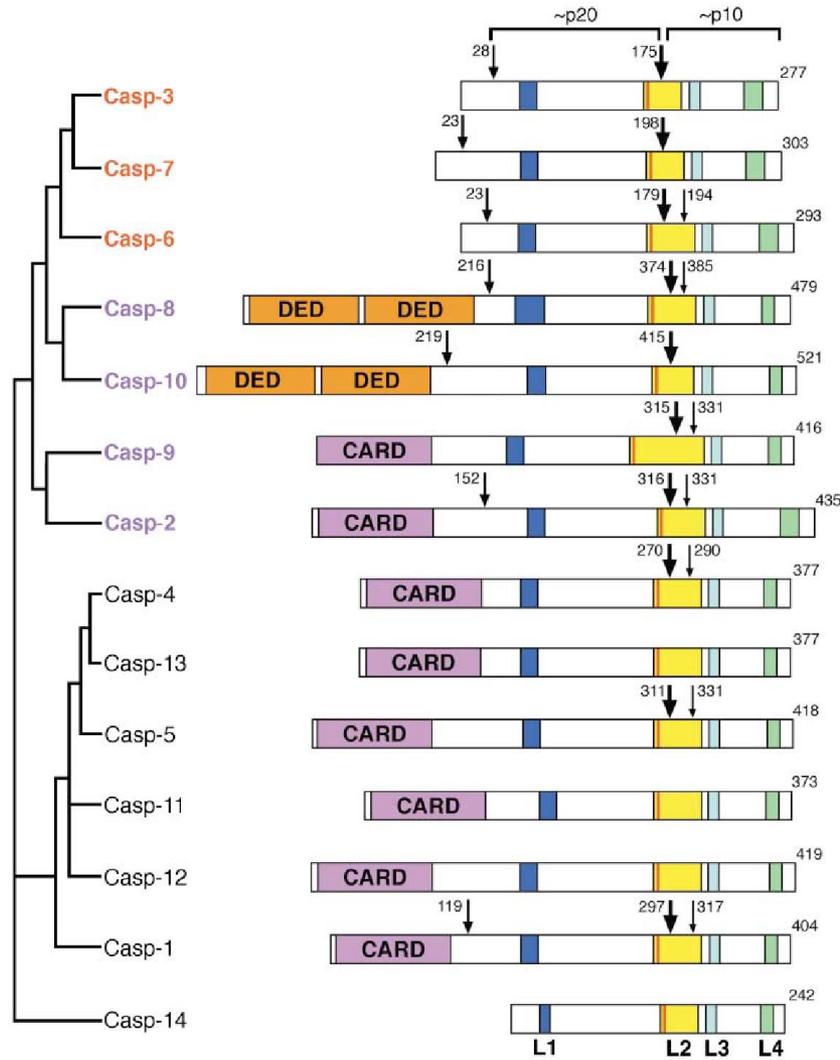
QACxG = site catalytique

# Les 14 caspases

« effectrices »  
3 / 6 / 7

« initiatrices »  
2 / 8 / 9

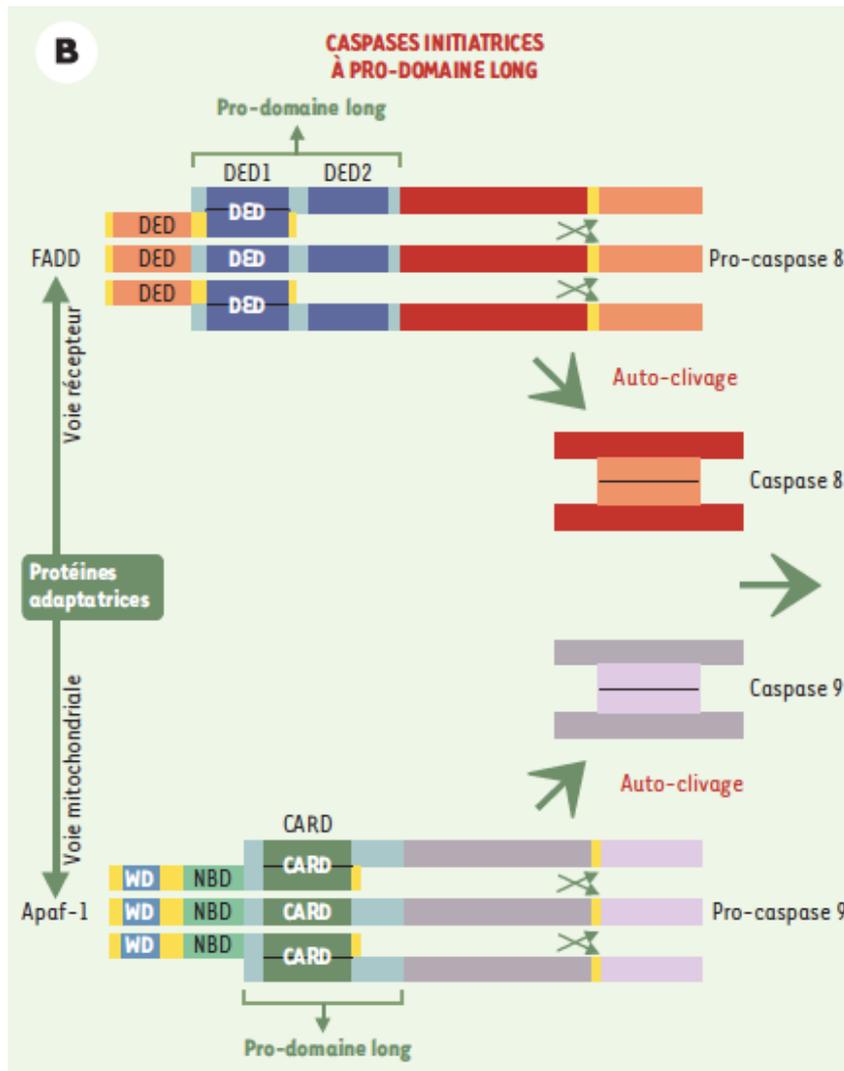
9 = mitochondriale



} inflammation

# Caspases initiatrices

Couzinet 2002



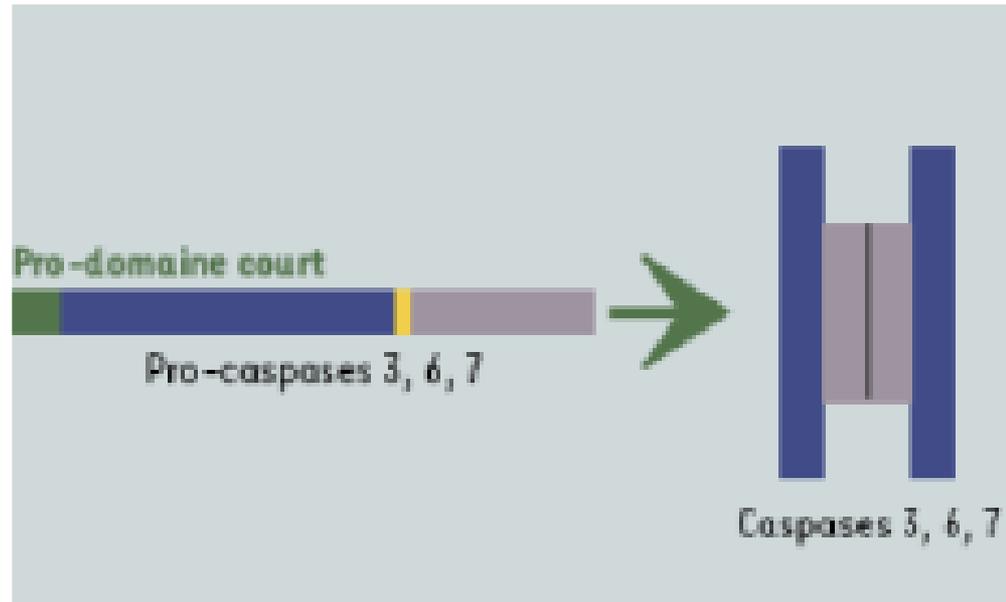
DED = Death Domain Effector

CARD = Caspase Recrutement Domain

→ Domaines d'interactions protéines - protéines

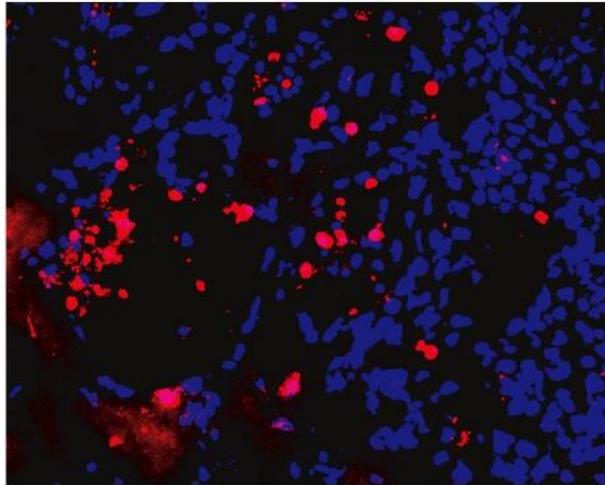
# Caspases effectrices

Couzinet 2002



Clivées par les caspases initiatrices

# Caspases effectrices

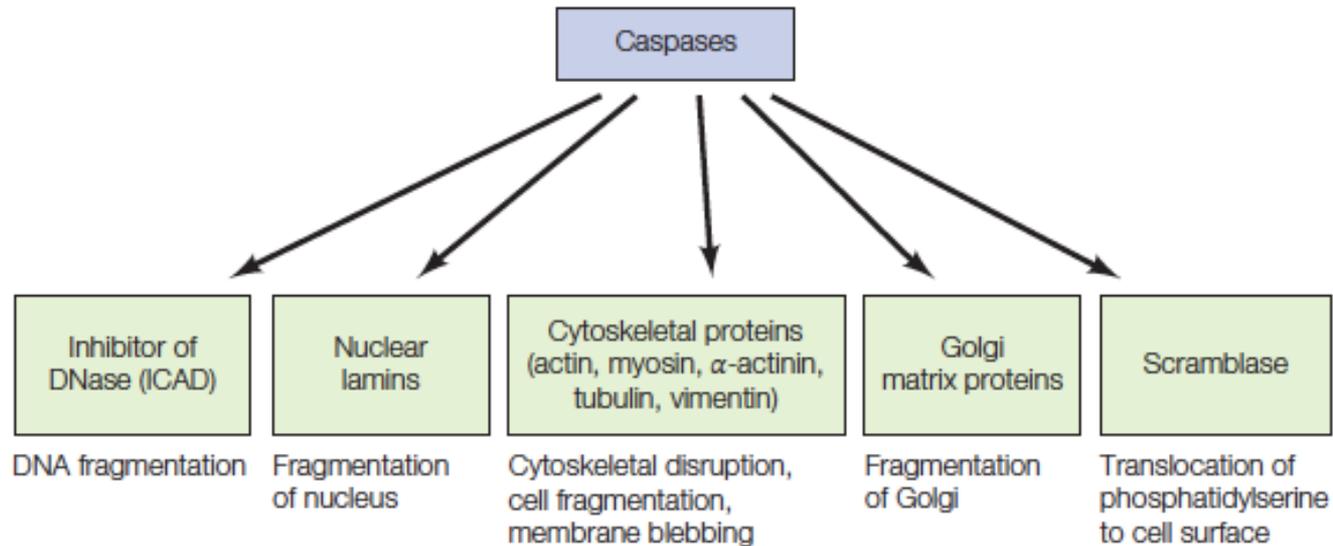


(C)

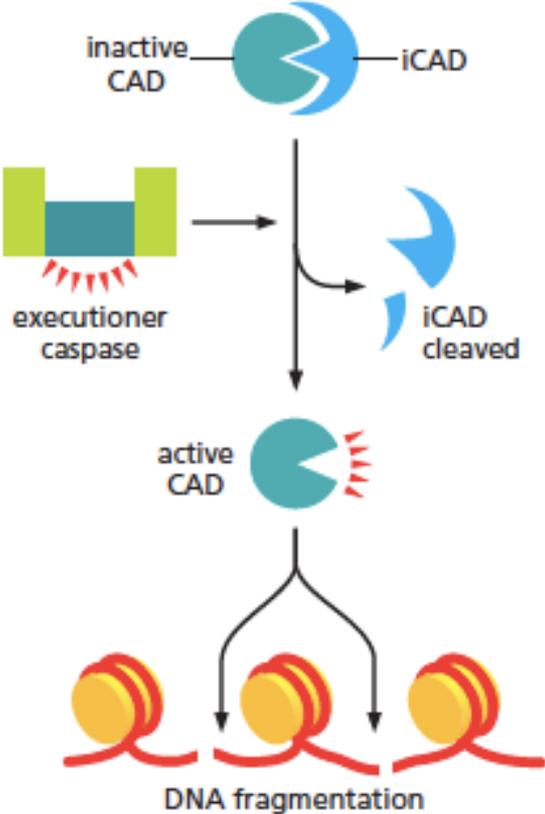
Coupe cancer du sein

Ex de la caspase 3 détectée par un anticorps spécifique de la forme clivée

# A la suite des caspases effectrices



# Ex: Caspase-activated DNase



# Les 2 voies de l'apoptose

Rôle de récepteurs de la membrane plasmique

= voie extrinsèque

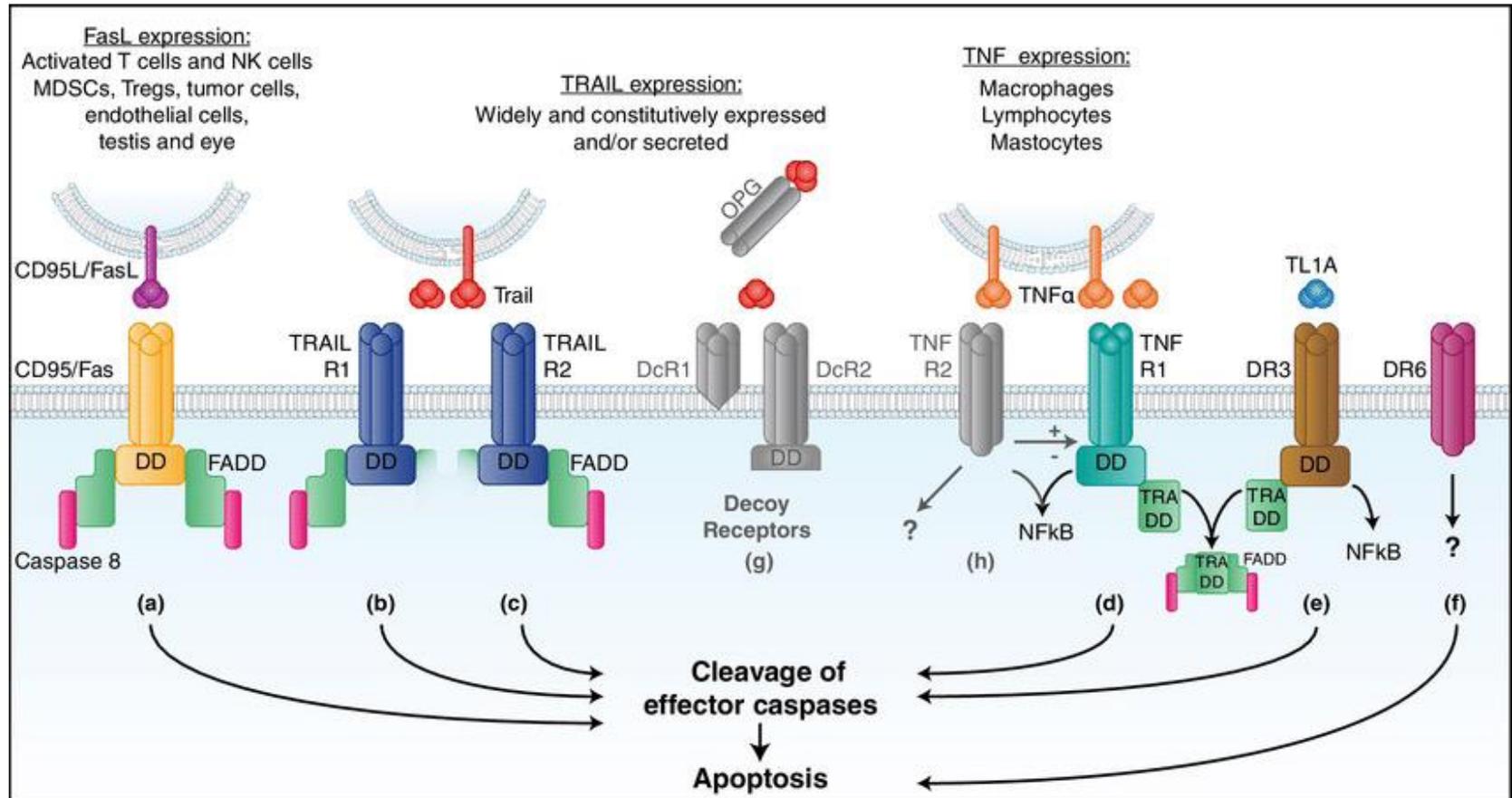
Rôle de la mitochondrie

= voie intrinsèque

# Les récepteurs de mort

= voie extrinsèque de l'apoptose

Jingjing 2019



# Les récepteurs de mort

= voie extrinsèque de l'apoptose

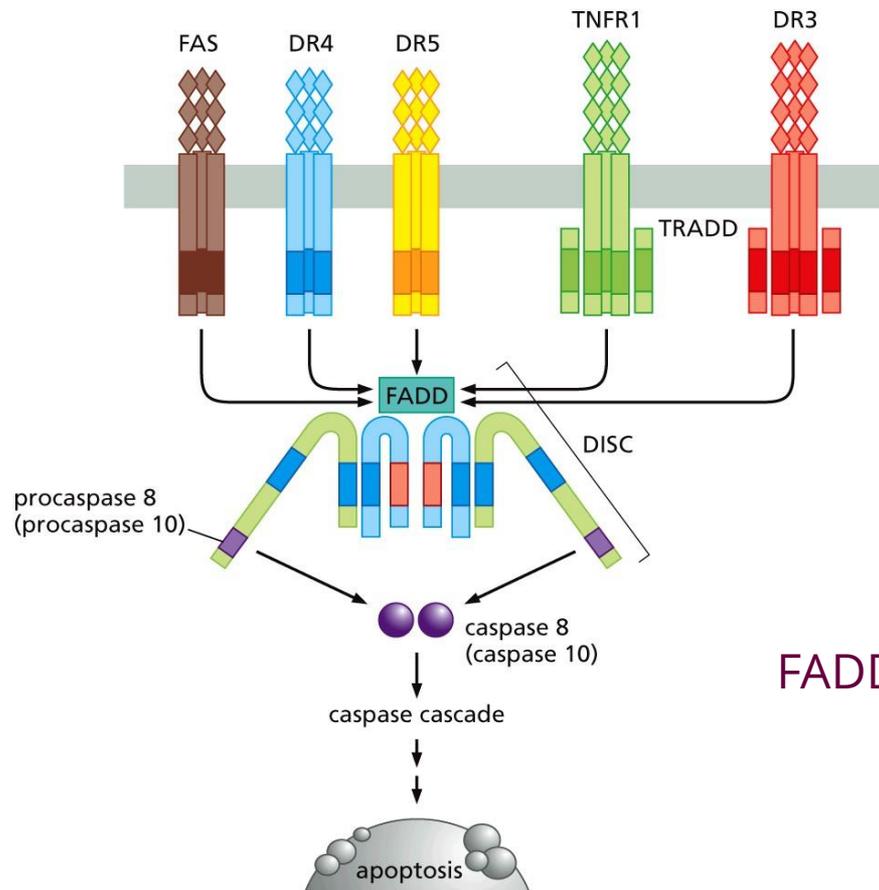


Figure 9.32a The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)



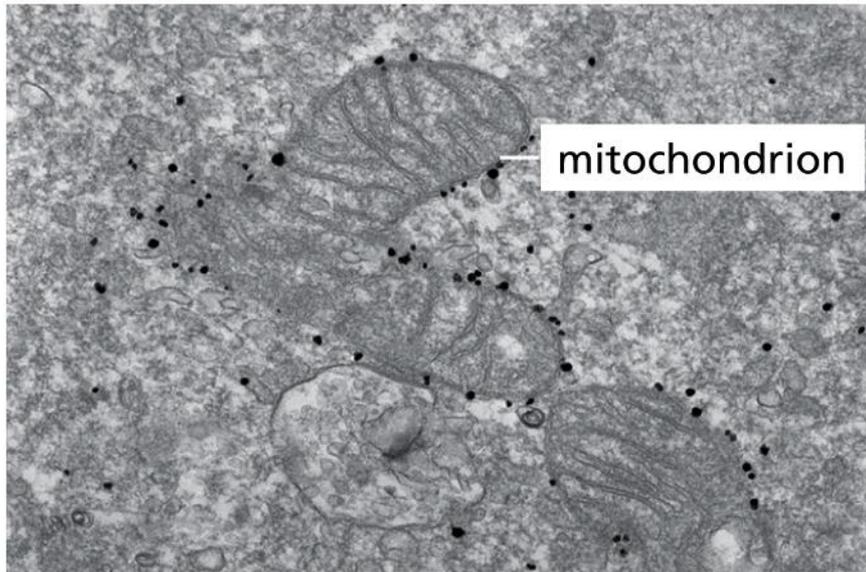
Figure 9.32c The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

FADD = Fas Associated Death Domain

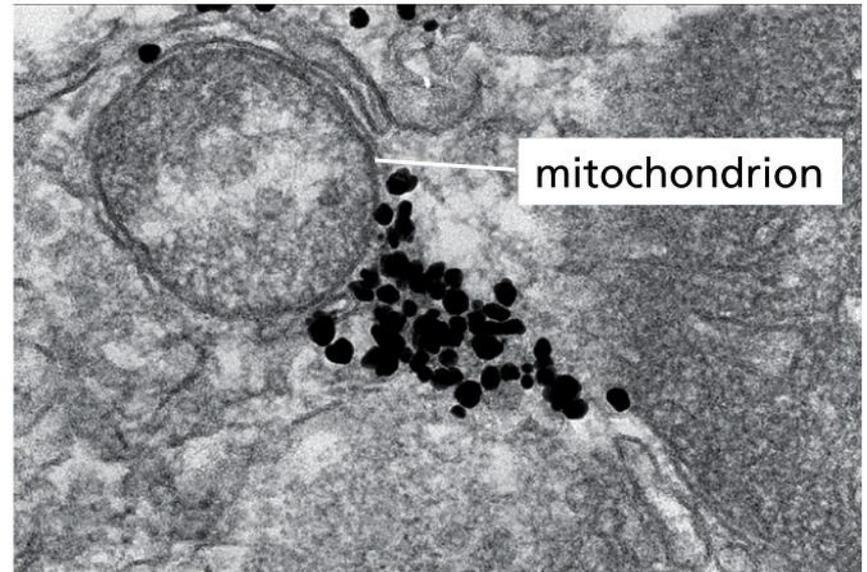
# Rôle de la mitochondrie

= voie intrinsèque de l'apoptose

control



+ staurosporine



immunolectron microscopy

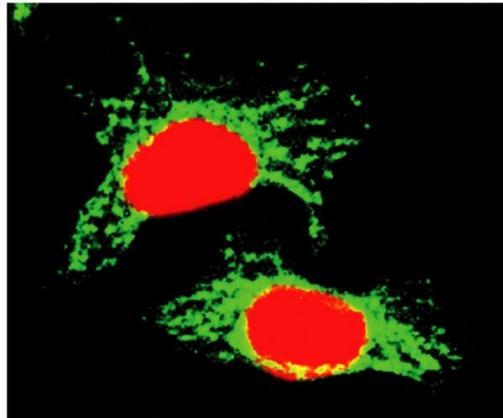
Figure 9.26c The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

Staurosporine = inducteur apoptose

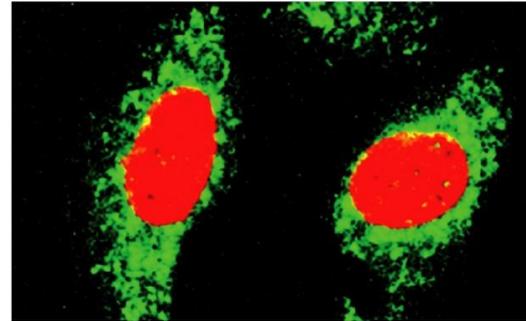
# Rôle de la mitochondrie

= voie intrinsèque de l'apoptose

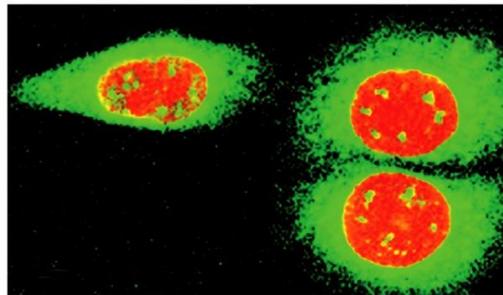
untreated



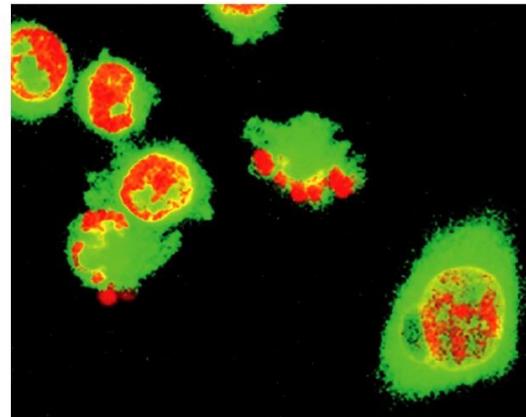
(A)



(B)



(C)



(D)

Figure 9.25 The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

Relargage du cytochrome c (en vert) par les mitochondries

# Rôle de la mitochondrie

= voie intrinsèque de l'apoptose

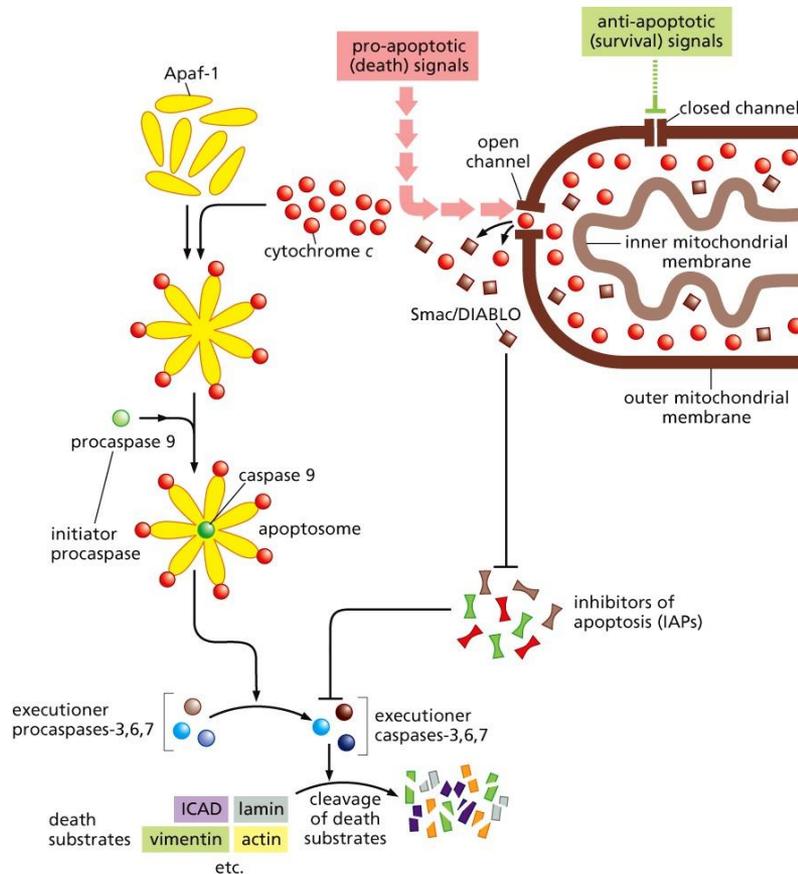


Figure 9.30 The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

- Relargage du cytochrome C dans le cytosol
- Lien avec Apaf1
- Formation apoptosome avec Pro-Casp9
- Activation Casp 3/6/7

# Interactions des 2 voies

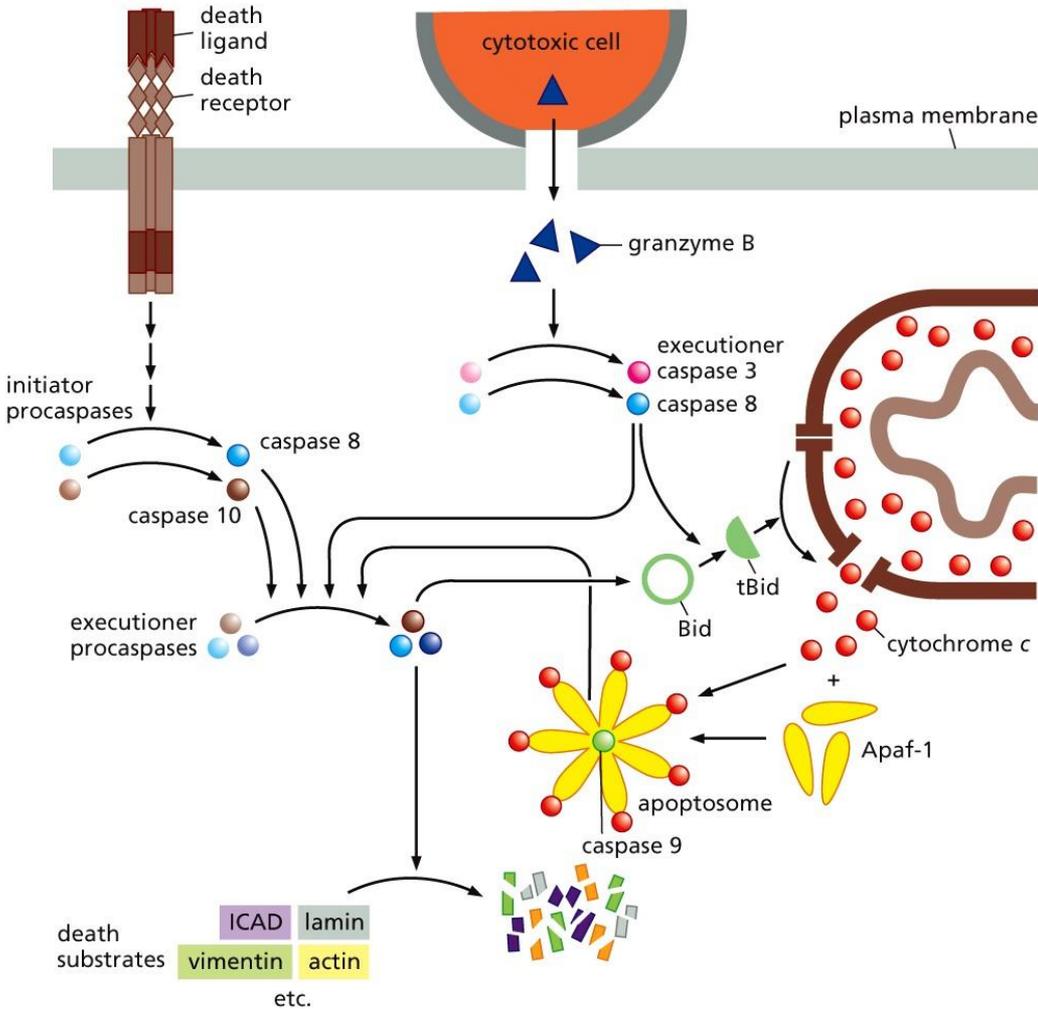
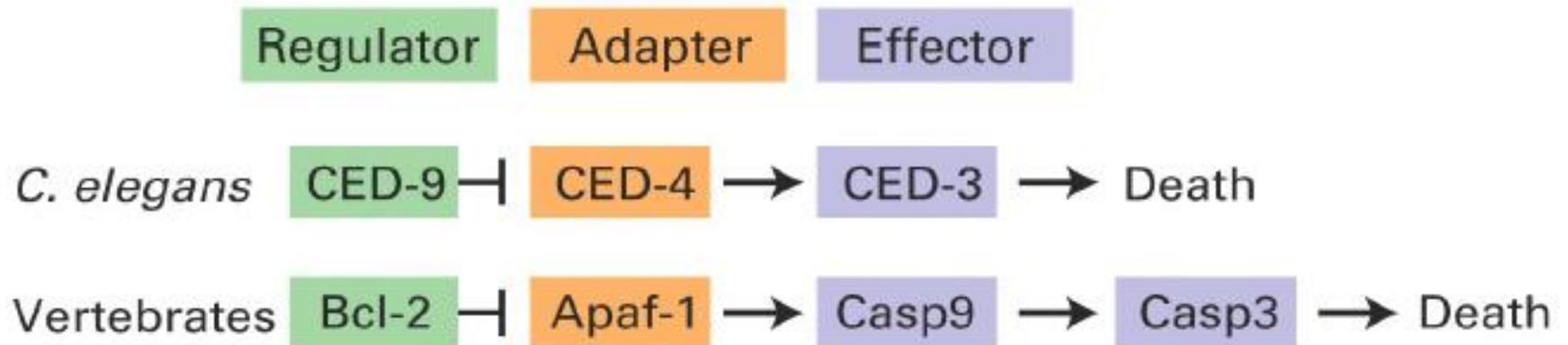


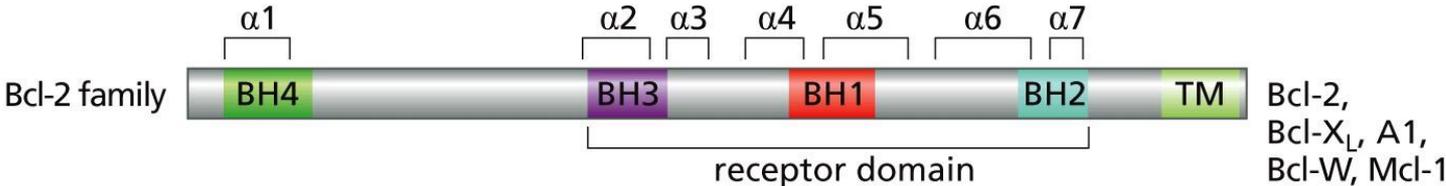
Figure 9.34 The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

# Contrôle de l'apoptose



# Contrôle de l'apoptose

pro-survival



pro-apoptosis

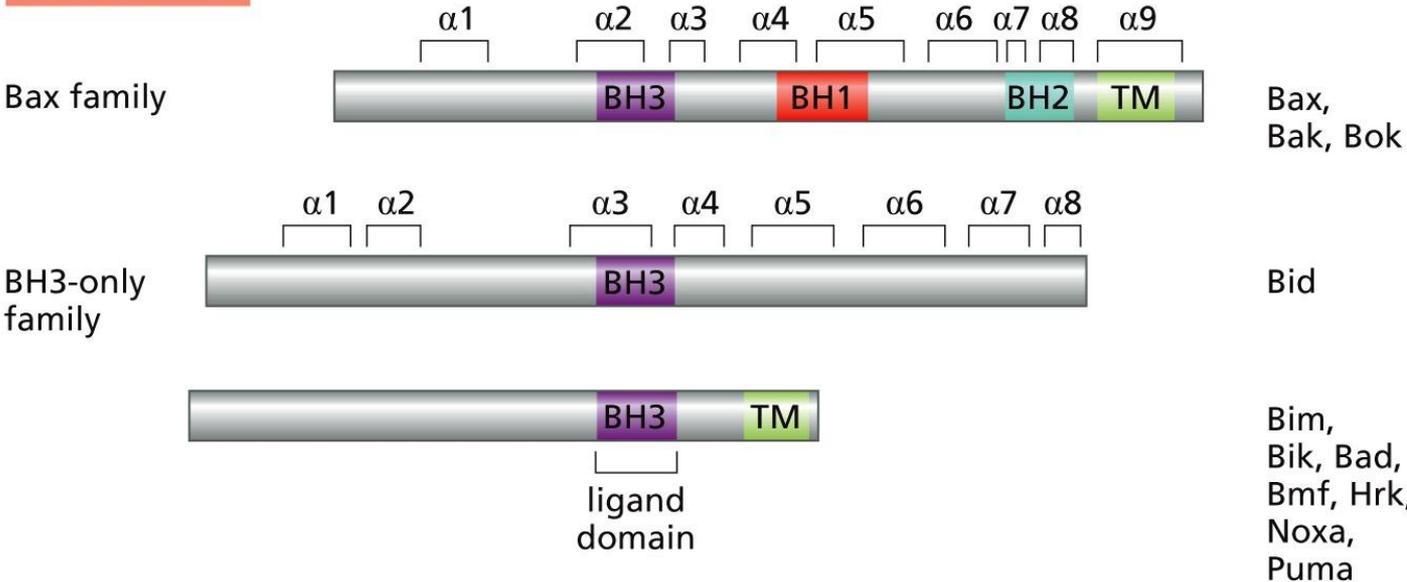
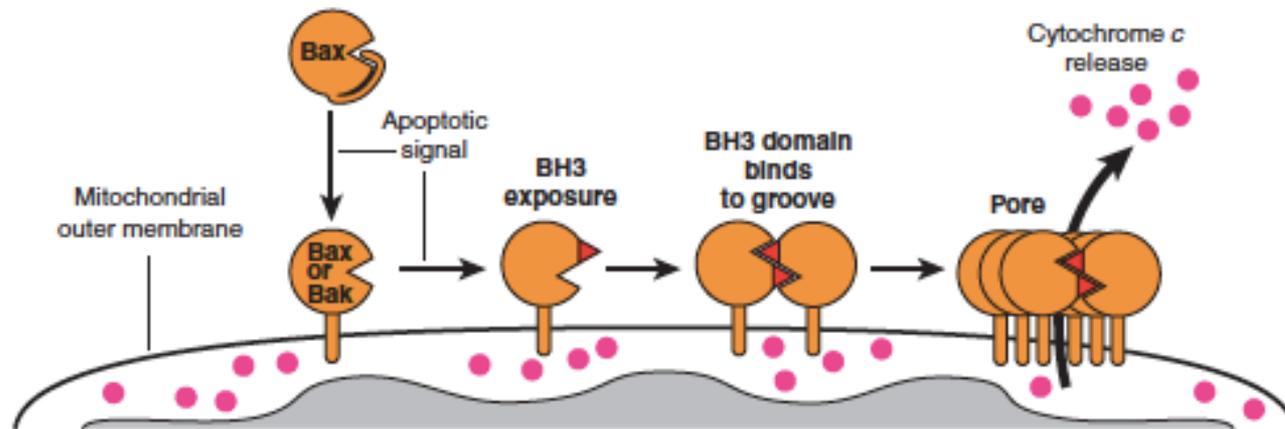


Figure 9.26a The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

# Activation voie intrinsèque apoptose

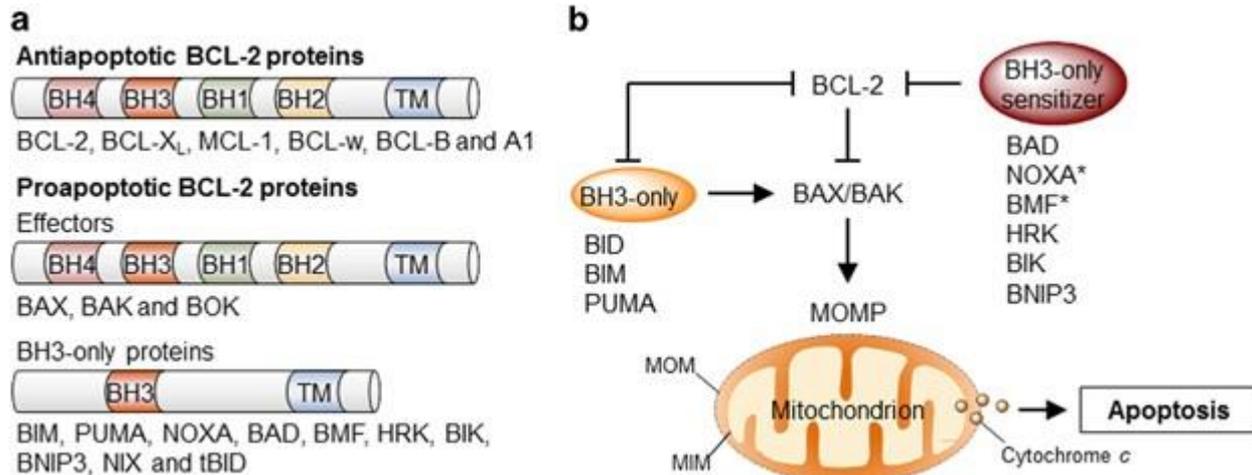
Mitochondrie lésée



Création du Pore Mitochondrial dans la membrane externe (MOMP)  
→ Permet la sortie du cytochrome c

# Activation voie intrinsèque apoptose: Régulation par Bcl2

Pihan 2017



Bcl2 inhibe activation Bax/Bak -> pas d'apoptose  
Bcl2 anti-apoptotique

# Activation voie intrinsèque apoptose: Régulation par Bcl2

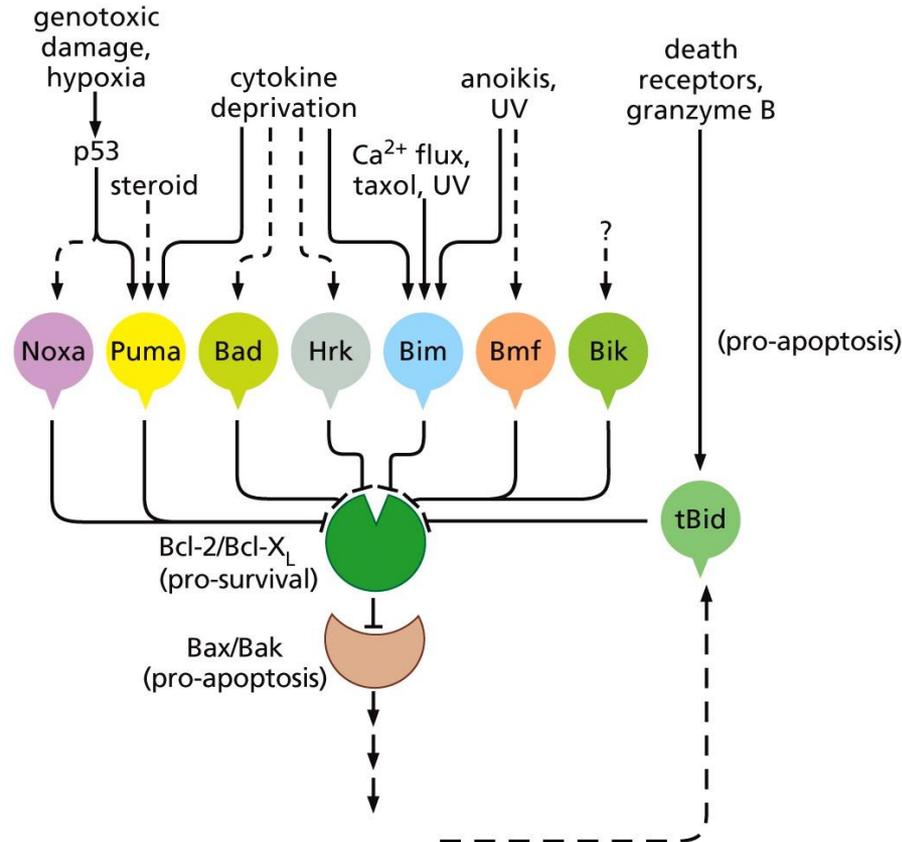
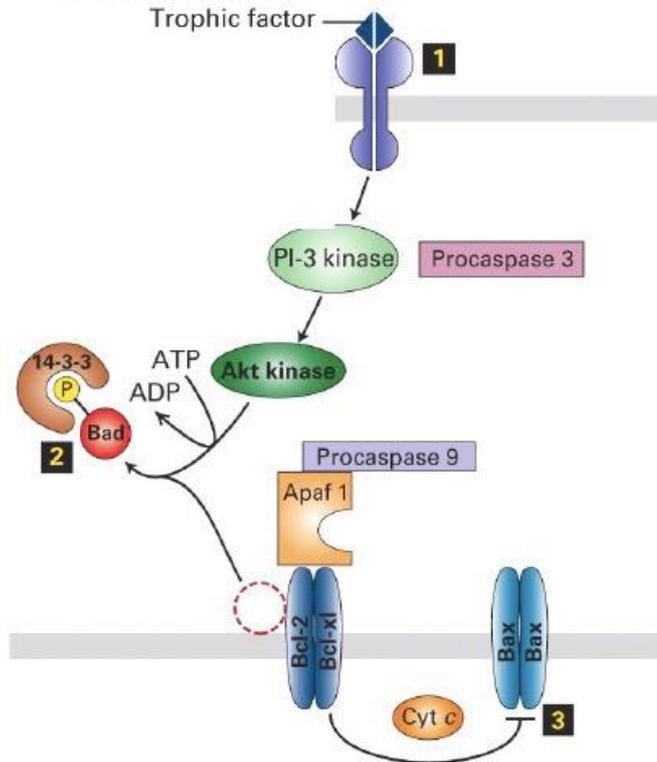


Figure 9.28a The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

Bcl2 est inhibé par des signaux pro-apoptotique !

# Activation voie intrinsèque apoptose: Régulation complexe...

(b) Presence of trophic factor: Inhibition of caspase activation



Présence d'un  
facteur de  
survie

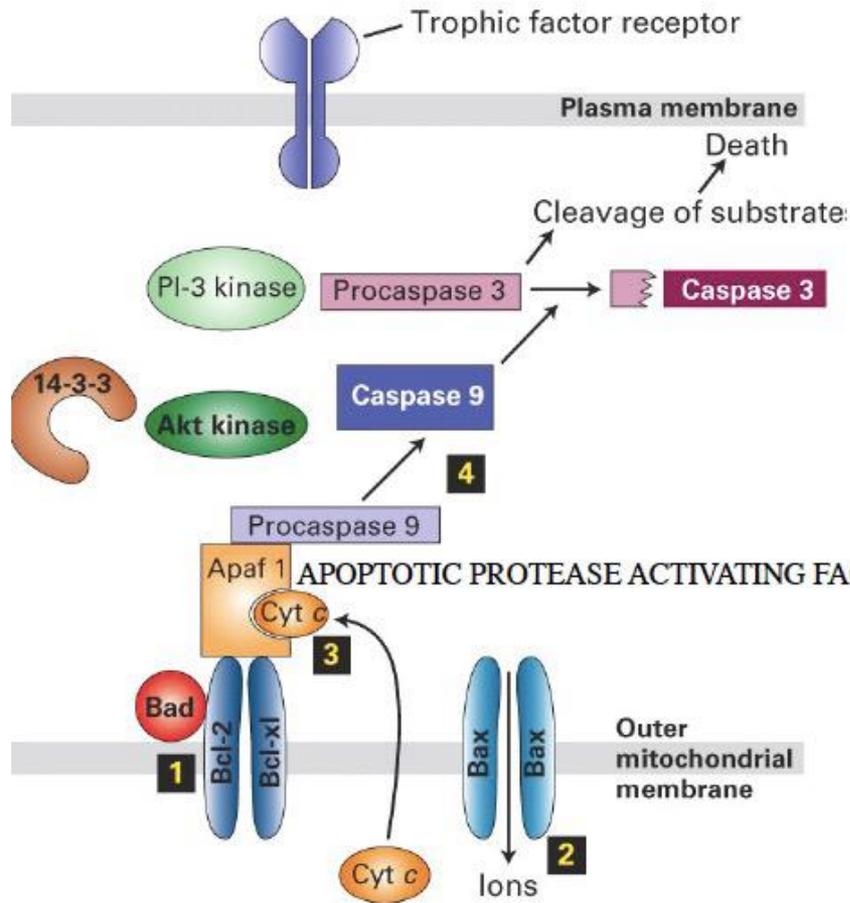
=>

Inhibition de  
l'activation des  
capsases

1.  
Activation récepteur
2.  
Phosphorylation et  
séquestration de Bad
3.  
Inactivation de Bax par  
Bcl-2/Bcl-X

Situation contrôlée...

# Activation voie intrinsèque apoptose: Régulation complexe...



Absence d'un  
facteur de survie  
=>  
Activation des  
capsases

1. Bad inactive Bcl-2/Bcl-xL
2. entrée d'ions, perte de potentiel membranaire
3. Libération cytochrome c et formation complexe avec Apaf-1
4. activation capsases

Activation de la voie apoptotique

# Induction apoptosis par p53

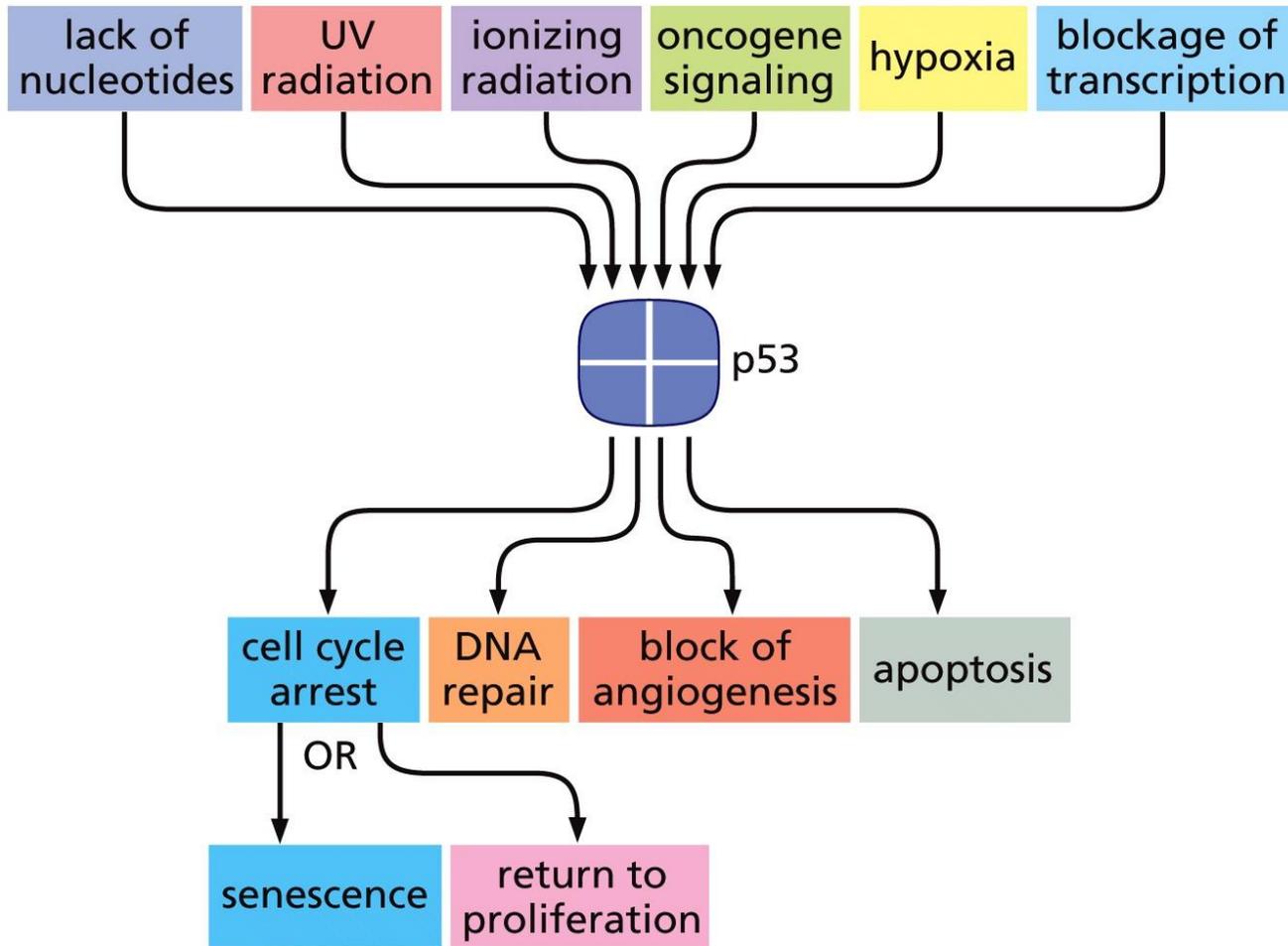


Figure 9.8 The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

# Induction apoptosis par p53

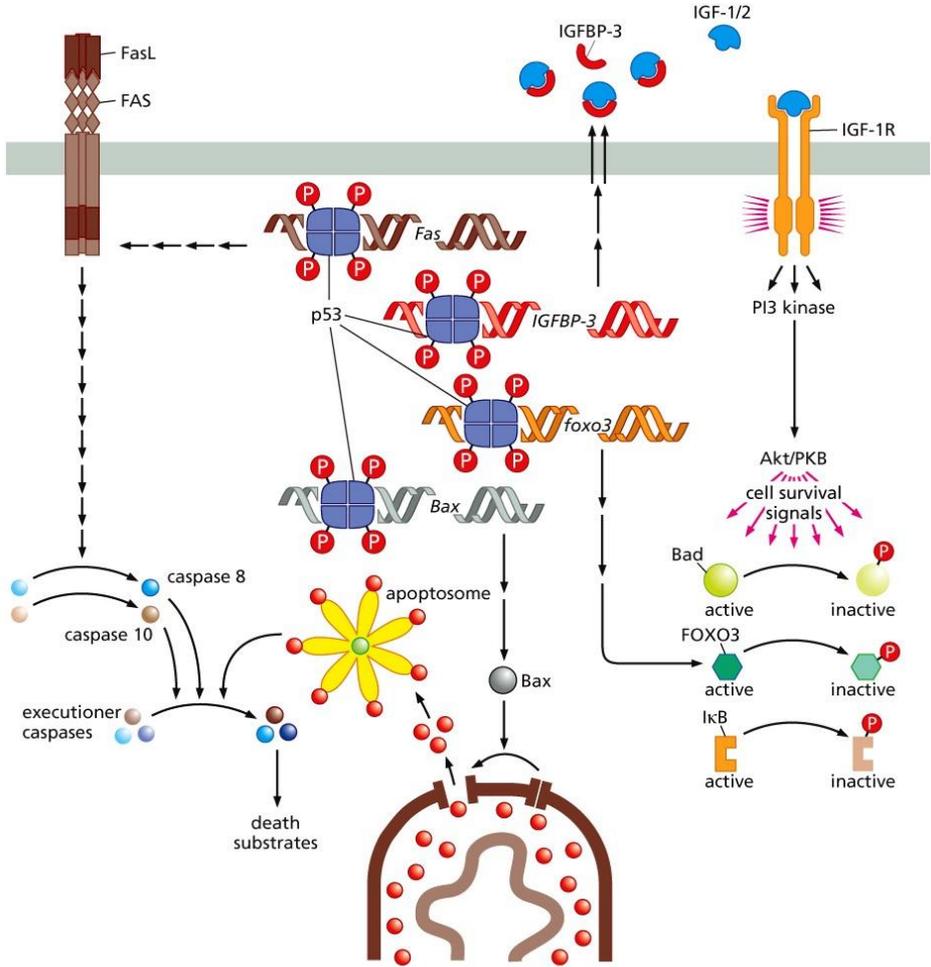
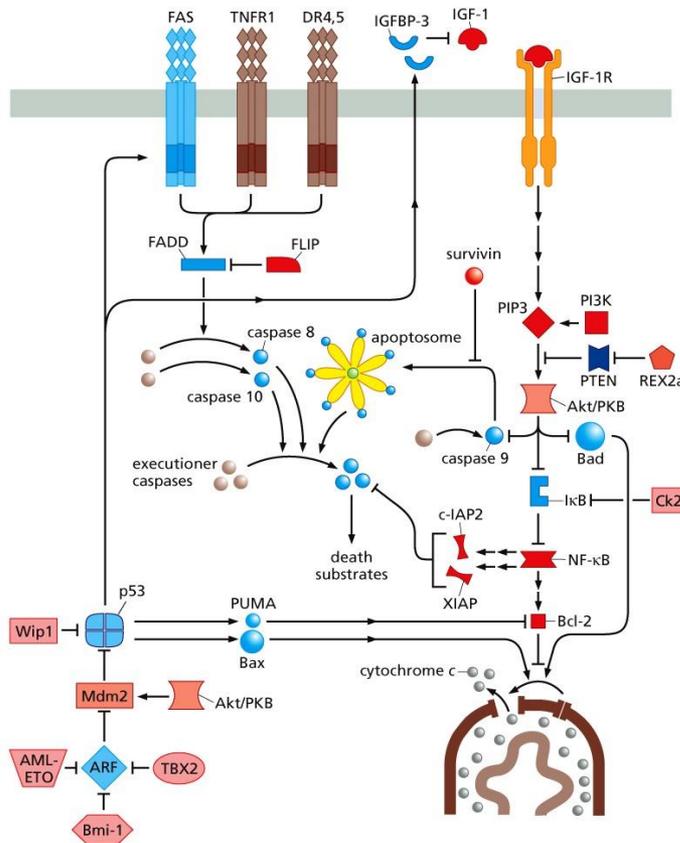


Figure 9.35 The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

# Stratégie anti-apoptotique des cellules cancéreuses



Bleu = pro-apo réduite  
Rouge = anti-apo augmentée

Figure 9.36 The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

# Conclusions

L'apoptose est un processus absolument nécessaire au développement, mais aussi à l'homéostasie de l'organisme avec par exemple l'élimination de cellules T auto-réactives ou de cellules anormales.

L'apoptose est possible grâce à l'activation de protéines très conservées au cours du temps = les caspases.

Les caspases initiatrices (2/8/9) vont être activées par une signalisation externe (voie extrinsèque) ou interne (voie intrinsèque, essentiellement mitochondriale), aboutissant à l'activation des caspases effectrices (3/6/7)

L'apoptose est régulée par la famille Bcl, avec des membres inhibiteurs (Bcl2) et des membres activateurs (Bax, Bak).