

Expression de molécules pro- et anti-apoptotiques dans des cellules leucémiques humaines au cours de l'apoptose induite par l'étoposide

par Anne Wotawa, Éric Solary & Laurent Corcos

INSERM U517 « Mort Cellulaire et Cancer », Facultés de Médecine et de Pharmacie, 7, Bd Jeanne d'Arc, 21000 Dijon

Reçu le 29 octobre 2001

RÉSUMÉ

L'exposition de lignées cellulaires cancéreuses humaines à un agent cytotoxique, peut induire leur mort par apoptose. L'apoptose est la conséquence de l'activation d'un programme de mort cellulaire impliquant schématiquement des protéases, en particulier les caspases, les protéines de la famille Bcl-2 et la molécule APAF-1 autour des organites intracytoplasmiques. L'activation des caspases constitue une cascade protéolytique responsable de la lyse d'un nombre limité de protéines intracellulaires. La nature des caspases effectrices impliquées dans l'apoptose induite par un même agent cytotoxique varie d'une lignée leucémique à une autre et la régulation de leur expression ou de leur activité est encore mal connue. Des travaux du laboratoire ont identifié, dans les cellules leucémiques humaines U937 sensibles à l'apoptose induite par l'étoposide, une augmentation de la transcription et de la synthèse de plusieurs procaspases avant la mort par apoptose (Droin *et al.*, 1998). Les mécanismes par lesquels l'étoposide induit une telle activation transcriptionnelle sont méconnus. Cependant, un facteur de transcription, STAT-1, a été décrit avec une influence sur la transcription des caspases.

Afin d'obtenir une image exhaustive du profil d'expression des gènes pro- et anti-apoptotiques dans les cellules leucémiques traitées par l'étoposide, nous avons utilisé la technique de protection à la RNase. Cette technique permet une analyse simultanée des profils d'expression, d'une part de l'ensemble des gènes de procaspases, d'autre part des gènes codant les protéines de la famille Bcl-2. Dans les deux lignées U937 et HL60, nous avons observé des profils d'expression comparables. Tandis que cette expression diminue de 20 à 60 % pour la plupart des gènes étudiés, les taux d'ARNm de la caspase-2S, des protéines Bcl-W et Mcl-1 sont augmentés. Il est remarquable que l'augmentation du taux d'ARNm de la procaspase-2S s'accompagne d'une diminution de celle de l'isoforme -2L, les deux procaspases étant produites par deux transcrits subissant un épissage alternatif. Notre hypothèse de travail est donc que l'étoposide pourrait contrôler la production des caspases-2S et -2L de façon coordonnée, par la mise en place d'un mécanisme d'épissage alternatif de l'ARN de la procaspase-2.

SUMMARY Expression of pro- and anti-apoptotic molecules in human leukemic cells during etoposide-induced apoptosis

Exposure of human cancer cell lines to a cytotoxic agent can induce their apoptotic cell death. Apoptosis results from the activation of a cell death program that involves proteases, such as caspases, Bcl-2 family proteins and APAF-1. Caspases orchestrate proteolysis of a limited number of intracellular proteins. It is known that for a given cytotoxic agent, the nature of the caspases involved vary between cell lines. However, the regulation of their expression or activity is still unrecognized. Our laboratory observed, in human leukemic cell line U937, which is sensitive to etoposide-induced apoptosis, a rise of transcription and synthesis for some procaspases preceding the apoptotic death (Droin *et al.*, 1998). The mechanisms

by which etoposide induces such a transcriptional activation remain poorly understood. However, the STAT-1 transcriptional factor has been shown to influence transcription of *CASP*-genes.

In an attempt to fully characterize the expression profile of caspase mRNAs as a response to etoposide, we surveyed caspase as well as Bcl-2 family members by the sensitive RNase protection assay. For the two leukemic cell lines U937 and HL60, we observed similar gene expression profiles. Whereas most genes were down regulated by 20 to 60%, caspase-2S (the short isoform of caspase-2), Bcl-W and Mcl-1 were up-regulated. Caspase-2 is known to undergo differential splicing, resulting in production of two mRNAs with dis-

tinct protein encoding capacities. In addition, caspase-2S and -2L exhibit opposite roles during apoptosis, the short isoform being rather anti-apoptotic. Our

results are therefore in agreement with the hypothesis of an alternative splicing event as a result of etoposide treatment of leukemic cells in culture.

BIBLIOGRAPHIE

Droin N., Dubrez L., Eymyn B., Renvoizé C., Bréard J., Dimanche-Boitrel M. T. & Solary E., Upregulation of CASP genes in human tumor cells undergoing etoposide-induced apoptosis. *Oncogene*, 1998, 16(22), 2885-2894.