

La mort cellulaire programmée: histoire et avenir d'un concept

par Richard A. Lockshin

Department of Biological Sciences, St John's University, 8000 Utopia Parkway, Queens, N.Y. 11439 USA
E-mail : lockshin@stjohns.edu

Reçu le 25 novembre 2004

RÉSUMÉ

La mort cellulaire est connue et comprise depuis le 19^{ème} siècle, mais les études expérimentales n'ont commencé qu'au milieu du 20^{ème} siècle. Vers les années 1960, plusieurs laboratoires montraient que la mort cellulaire est programmée de façon biologique et que les manifestations en sont communes à plusieurs types de mort cellulaire mais n'ont pas d'explication évidente, en particulier dans le cas de l'apoptose. En 1990 on connaissait l'origine génétique de la mort programmée et les premiers composants de la machinerie de la mort cellulaire (caspase 3, bcl-2 et Fas) étaient identifiés, séquencés, et reconnus comme hautement conservés. Le développement rapide de la recherche dans ce domaine nous a livré une bonne

compréhension de la façon dont la mort cellulaire s'accomplit. Néanmoins, afin d'exploiter cette compréhension dans des buts thérapeutiques, il nous faut encore beaucoup apprendre sur la manière dont une cellule s'engage sur la voie de la mort. Nous devons également reconnaître que l'apoptose est peut-être le mode le plus habituel et le plus efficace de mort cellulaire, mais qu'il y a des voies alternatives, qui peuvent se terminer par la mort cellulaire même quand la voie apoptotique est bloquée. Il est intéressant de noter que la plupart des arguments et erreurs sur ce sujet ont été anticipés par Claude Bernard, dont les mises en garde et les recommandations restent valables à ce jour.

SUMMARY Programmed cell death: history and future of a concept

Cell death was observed and understood since the 19th century, but there was no experimental examination until the mid-20th century. Beginning in the 1960's, several laboratories demonstrated that cell death was biologically controlled (programmed) and that the morphology was common and not readily explained (apoptosis). By 1990 the genetic basis of programmed cell death had been established and the first components of the cell death machinery (caspase 3, bcl-2 and Fas) had been identified, sequenced, and recognized as highly conserved in evolution. The rapid development of the field has given us substantial

understanding of how cell death is achieved. However, capitalizing on our knowledge for therapeutic purposes requires us to learn much more about how a cell commits to death, as well as recognizing that apoptosis may be the most common and efficient means of death, but that there are alternative pathways that can result in cell death even when the conventional pathway is blocked. Interestingly enough, many of the arguments and missteps in the history of the field were anticipated by Claude Bernard, and his warnings and recommendations remain valid today.

« Mais quelle utilité pourrions-nous retirer de l'exhumation de théories vermoulues ou d'observations faites en l'absence de moyens d'investigation convenables ? Sans doute cela peut être intéressant pour connaître les erreurs par lesquelles passe l'esprit humain dans son évolution, mais cela est du temps perdu pour la science proprement dite. »

La science du présent est donc nécessairement au-dessus de celle du passé, et il n'a aucune espèce de raison d'aller chercher un accroissement de la science moderne dans les connaissances des anciens. »

Bien que Claude Bernard ait ainsi nié la valeur de l'histoire des sciences, il est toujours intéressant d'explorer l'origine d'un domaine de recherche. Il y a aussi le dicton de Santayana : « Ceux qui n'apprennent rien de l'histoire sont condamnés à la répéter. » Par ailleurs, C. Bernard a noté également que « les bibliothèques pourraient être considérées comme faisant partie du laboratoire du savant et du médecin expérimentateur. »

Il est peu étonnant que la mort cellulaire ait été reconstruite peu de temps après la découverte de l'aspect normal d'une cellule vivante, c'est-à-dire au milieu du 19^{ème}

siècle. Si un être vivant peut mourir, il est logique qu'une cellule meure. C'est ainsi que les premiers histologistes ont observé et reconnu comme telles des cellules en train de mourir. Ils ont même identifié la morphologie particulière de cellules mourantes qu'on nomme aujourd'hui apoptose. Cette histoire est bien racontée par Clarke et par d'autres (Clarke & Clarke, 1995, 1996; Hacker & Vaux, 1997; Lockshin & Zakeri, 2001). Le plus intéressant c'est de voir quand on a commencé à apprécier que la mort n'était pas un hasard. A un moment donné, à la phrase « les cellules qui meurent sont remplacées par des mitoses », fut substituée la suivante : « les cellules meurent, puis elles sont remplacées par mitose. » (L'accentuation change ; il ne s'agit plus d'un accident réparé par un événement organisé, la mitose ; l'événement organisé est un suicide suivi d'une réparation).

Il va sans dire que la mort cellulaire pendant la métamorphose ne pouvait être considérée comme anormale. Cependant l'idée qu'elle soit sous un contrôle quelconque est venue beaucoup plus tard. Un grand physiologiste des insectes, V. B. Wigglesworth, avait bien compris que la croissance et la disparition des muscles chez un insecte suceur de sang dépendait de la mue et donc des hormones de mue. Mais l'importance et le caractère général de cette idée ne date que du milieu du 20^{ème} siècle. A partir des années 1950, A. Glücksmann dressait une longue liste d'exemples de mort cellulaire, qu'il classifiait selon leur fonction (élimination de membres vestigiaux, base de construction d'un organe secondaire, etc.) (Glücksmann, 1951, 1965). Il avait certainement compris que l'embryogenèse avait besoin de la mort cellulaire. Mais c'est avec John Saunders que la phase expérimentale a vraiment commencé. Ses expériences étaient très simples mais cruciales. A la base de l'aile d'un embryon de poulet, quelques cellules meurent séparant l'aile du corps. Saunders a d'abord excisé ces cellules alors qu'elles étaient encore vivantes et les a placées en boîte de Pétri dans un milieu et à une température convenables. Ces cellules mourraient à l'heure prévue. Cependant on aurait pu conclure que ces cellules, viables en apparence, étaient en fait moribondes au moment du prélèvement. Faux : Saunders a transplanté des cellules identiques, non en boîte de Pétri, mais sur le dos d'un autre embryon. Ces cellules se soudèrent sur place et se transformèrent en cellules du dos de l'hôte. Donc, concluait Saunders, au moment du prélèvement ces cellules n'étaient ni mortes ni moribondes ; « l'horloge de mort était en marche » (Saunders, 1966).

A la même époque, dans le laboratoire de Carroll M. Williams, je m'intéressais à la disparition des muscles chez les grands papillons à soie américains juste après l'éclosion de l'imago (ce modèle a l'avantage qu'on peut garder les cocons toute l'année). J'ai ainsi observé l'activation des lysosomes, qui avaient été récemment découverts, juste avant la mort des muscles. Mais cette activation dépendait de l'action des hormones, initiée jusqu'à trois semaines auparavant, d'une altération du système nerveux deux jours avant l'éclosion, et d'un changement d'activité nerveuse juste après cet événement (Lockshin & Williams, 1964, 1965 a-d). Plus tard,

à la suite des expériences de Jamshid Tata (1966), qui étudiait des fragments de queue de têtard en culture, j'ai noté qu'une synthèse de protéines étaient nécessaires au déroulement de la mort, et Jacques Beaulaton et moi-même décrivions la morphologie des cellules mourantes et des cellules protégées de la mort (Lockshin & Beaulaton, 1974a,b; Beaulaton & Lockshin, 1977, 1978, 1979).

Dans la mesure où le hasard juxtapose des choses insolites, il contribue à l'imagination ou au développement des idées. Il était évident que la mort des muscles suivait un plan biologique et, nous référant aux collègues qui construisaient les premiers ordinateurs, nous décrivions ce mécanisme comme une programmation. C'était donc une mort programmée. La locution sonnait bien et elle fut acceptée par les quelques biologistes qui travaillaient sur ce processus.

Ce serait une grande illusion du médecin de croire qu'il connaît les maladies pour leur avoir donné un nom...

Quelques années plus tard. John Kerr, un anatomopathologiste australien travaillant en Ecosse avec A. R. Currie et un post-doc nommé Andrew Willie remarquaient que les cellules moribondes de la queue de têtard, de l'épiderme, du thymus, ainsi que d'autres types de cellules en train de mourir se ressemblaient toutes : elles étaient arrondies, denses, boursoufflées, avaient des noyaux ronds ou fragmentés, où la chromatine était très condensée et repoussée contre la membrane nucléaire. Ces aspects partagés étaient difficiles à interpréter (Kerr, 1971; Kerr *et al.*, 1972; Kerr & Harmon, 1991). La nécrose d'une cellule peut s'expliquer : en l'absence d'oxygène ou d'énergie, la cellule adopte le mode métabolique de la fermentation. L'acide lactique s'accumule dans la cellule, attire l'eau par osmose et rapidement la cellule éclate. Il est bien plus difficile d'expliquer qu'une cellule se compacte sur elle-même. La compaction suppose soit une perte d'osmolarité, soit une expulsion d'eau sous une pression hydrostatique (Lockshin & Beaulaton, 1981). (Nous avons calculé plus tard que la force exercée par le cytosquelette n'était pas suffisante pour expulser l'eau et, récemment, John Cidlowski (Bortner & Cidlowski, 2002) a observé la perte d'osmolarité). Kerr, Willie et Currie ont choisi le nom d'« apoptose » pour cette forme de mort, indiquant trois propriétés : 1) que cette mort est généralisée ; 2) qu'elle cache une physiologie intéressante ; 3) que la mort de la cellule suit un rituel aussi discipliné que sa naissance, c'est-à-dire la mitose. Trente-deux ans plus tard on accepte volontiers que, pour maintenir l'homéostasie, il faille que la naissance et la mort des cellules soient régulées.

Quand on crée un mot pour désigner un phénomène, on s'accorde en général à ce moment précis sur l'idée qu'on veut lui faire exprimer et sur la signification exacte qu'on lui donne. Toutefois, plus tard, à la suite de nouvelles acquisitions de la science, le sens du mot change pour les uns, tandis que pour les autres il garde sa signification première. La discordance qui en résulte est sou-

vent telle que différentes personnes, employant le même mot, expriment des idées très différentes. Notre langage est en effet approximatif et il est si peu précis, même dans les sciences exactes, que, si l'on perd les phénomènes de vue pour s'attacher aux mots, on perd rapidement la réalité de vue. On ne peut alors que nuire à la science en discutant pour conserver un mot qui n'est plus qu'une cause d'erreur, puisqu'il n'exprime plus la même idée pour tous.

Il n'est pas utile de trop insister sur la distinction entre «mort programmée» et «apoptose». Au début le premier terme désignait un processus, tandis que le second décrivait une morphologie. On employait de préférence «mort programmée» en biologie du développement, tandis que l'apoptose s'appliquait souvent à des cellules pathologiques. La nécessité d'une synthèse de protéines ou d'ARN messager pour la mort programmée a été beaucoup discutée dans le cas de l'apoptose. Aujourd'hui les deux termes sont quasiment interchangeables et insister sur la pureté académique des mots n'a plus de sens. Il est également vrai que décrire un phénomène en disant «la perte des cellules se fait par apoptose» n'explique rien.

En résumé nous devons être conscients que les mots que nous employons pour décrire les phénomènes, quand nous ignorons leurs causes, ne sont rien par eux-mêmes et que, dès que nous leur accordons une valeur dans la critique ou les discussions, nous sortons du domaine expérimental pour tomber dans la scolastique. Dans les discussions ou dans les explications de phénomènes, il faut toujours se garder de sortir de l'observation et de substituer un mot au fait.

Le point de vue anatomique est donc tout à fait insuffisant et les altérations constatées sur les cadavres après la mort identifient des caractères pour reconnaître et classer les maladies plutôt que des lésions capables d'expliquer la mort.

Il s'agit plutôt d'expliquer comment l'apoptose se déroule et quel est le facteur qui la déclenche. Nous devons cette partie de l'histoire à Robert Horvitz et à ses petits vers.

Le premier grand pas a été franchi lorsque Brenner, Sulston, et d'autres ont déterminé la descendance de chaque cellule chez le ver nématode *Caenorhabditis elegans*. Horvitz et ses collègues, parmi d'autres, ont montré que toutes les morts cellulaires chez l'embryon du ver (13 % des cellules sur 131 cellules en tout) étaient sous le contrôle d'une poignée de gènes, qu'ils appelèrent *ced* (cell death defective, d'après le phénotype mutant). L'activité des gènes *ced* était réglée par les gènes *ces* (cell death selection). Ces résultats étaient très intéressants, mais c'est la découverte, peu après, qu'un de ces gènes codait une protéase de restriction particulière (cysteinyl protéase clivant à l'extrémité C-terminale d'un acide aspartique) qui a constitué un bouleversement. C'était d'abord l'accès au premier mécanisme de mort cellulaire. La conservation de ce gène jusque chez les mammifères suggérait une fonction importante (Horvitz, 2003).

En effet la découverte de ces gènes chez le nématode a été rapidement suivie de l'identification de gènes homologues chez les mammifères et de la réalisation que les mutations de ces gènes causaient des cancers. D'où la fièvre qui a mené à plus de 150 000 publications. Mais cette explosion est due aussi à la réalisation, en grande partie grâce à des chercheurs français, que la mort cellulaire intervenait largement dans des maladies telles que le SIDA (Ameisen & Capron, 1991 ; Gougeon *et al.*, 1993 ; Gougeon & Montagnier, 1993), les cancers (Yonish-Rouach *et al.*, 1993) et les maladies immunologiques (Nagata & Golstein, 1995 ; Golstein *et al.*, 1995a, 1995b, 1997).

Les conditions de la vie ne résident ni dans l'organisme ni dans le milieu extérieur, mais dans les deux à la fois... L'électricité est, par exemple, le résultat de l'interaction du cuivre et du zinc dans certaines conditions chimiques, mais si l'on supprime la relation entre ces éléments, l'électricité étant une abstraction et n'existant pas par elle-même, cesse de se manifester. De même la vie est le résultat du contact de l'organisme et du milieu ; nous ne pouvons la comprendre ni par l'organisme seul, ni par le milieu seul.

On connaît aujourd'hui le processus de l'apoptose, c'est-à-dire la séquence d'activation enzymatique impliquée ainsi que les partenaires qui l'encouragent ou la freinent. C'est une histoire (ou des histoires) digne de votre attention, qui va être décrite pendant cette journée Claude Bernard. C'est beaucoup et c'est peu, puisque la décision de se suicider est toujours très délicate. Le lymphome à cellules B peut être engendré par la transposition et l'activation du gène anti-apoptotique *bcl2* ; cependant les caspases y sont toujours exprimées. De même les cancers *p53* ne résultent pas d'une défaillance de l'apoptose, mais de ce que l'apoptose ne se déroule qu'à partir d'un seuil très élevé. Nous avons beaucoup à apprendre sur le contrôle de ce seuil. D'ailleurs, même en culture, face à une atteinte modeste, le destin des cellules sœurs est toujours imprévisible et varie en fonction du temps d'exposition et du dosage. L'engagement vers la mort est une sorte de «feedback» positif, dont le seuil d'ouverture est rigoureusement contrôlé mais qui, une fois commencé, se déroule sans appel. Ce seuil d'ouverture est peut-être marqué par l'activation des caspases ou de la caspase 3. Grâce aux chercheurs français, nous connaissons les partenaires de l'apoptose et la concurrence qui détermine leur assemblage et leur activation ; mais que ne connaît-on pas encore ? Quels sont les rôles de l'ATP, du GTP, du céramide, de NO, de la prostaglandine, des autres acteurs du métabolisme ? Comment les cellules très sensibles diffèrent-elles de cellules moins sensibles ?

J'ai conduit ces recherches selon les principes de la méthode expérimentale que j'ai de finis plus haut : en présence d'un fait nouveau dûment constaté mais en contradiction avec une théorie, j'ai admis le fait, je l'ai étudié et je me suis hâté d'abandonner la théorie, me conformant au précepte que j'ai indiqué dans le deuxième

chapitre : quand le fait observé est en opposition avec une théorie régnante, il faut accepter le fait et abandonner la théorie, lors même que celle-ci, soutenue par de grands noms, est généralement admise.

Nous autres, êtres humains, aimons les catégories et les noms. Un enfant qui demande cinq fois par minute « qu'est-ce que c'est ? » est satisfait d'une réponse qui donne le nom de l'objet, et nous classifions rapidement les choses : « c'est un garçon ou une fille ? Animal ou végétal ? Il est de gauche ou de droite ? ». Nous tolérons peu l'ambiguïté. Nous distinguons donc l'apoptose et la nécrose. Mais il y a des intermédiaires et des morts cellulaires plus complexes. Selon une erreur très commune il n'y a qu'une ou deux formes de mort. Cependant un mode d'emploi n'est pas nécessaire pour la mort cellulaire. Une expérience où l'on expose des cellules à une toxine très puissante, en présence d'inhibiteurs des caspases, ne démontre ni l'existence d'une deuxième voie de mort ni la non-intervention de la voie caspase. Si une toxine par exemple bloque les sources d'énergie ou la synthèse des protéines, la cellule va mourir. Ainsi on a souvent remarqué qu'un embryon, avant le moment où il commence à synthétiser son propre ARN messager, résiste à l'apoptose (Hensey & Gautier, 1997, 1998 ; Negron & Lockshin, 2004). Un tel embryon, exposé au cycloheximide, ne manifeste en effet aucun signe morphologique d'apoptose. Néanmoins il active la caspase 3 au même moment qu'un embryon plus âgé dont les cellules, elles, deviennent apoptotiques. Les cellules de l'embryon plus jeune éclatent par nécrose immédiatement après l'activation de la caspase 3, tandis que les cellules de l'embryon plus âgé survivent encore 90 minutes et ont ainsi le temps de se transformer en cellules apoptotiques. C'est donc une faiblesse (d'origine encore incertaine) des cellules plus jeunes, de ne pouvoir utiliser l'apoptose plutôt qu'une autre façon de mourir (Negron & Lockshin, sous presse).

Il est possible qu'une voie soit plus efficace qu'une autre et soit ainsi la voie préférée d'une cellule menacée. Certaines cellules consomment la plus grande partie de leur cytoplasme avant de mourir, ce que l'on désigne comme la « mort par autophagie », mais nous ne savons pas si l'autophagie dans ce cas diffère vraiment de l'autophagie manifestée par une cellule privée de nourriture (autophagie protectrice, non nécessairement mortelle). Nous ne savons pas non plus si la mort par autophagie n'est pas simplement une autophagie qui ne s'interrompt pas et se termine par une mort apoptotique. Dans le cas de la métamorphose des insectes, il est bien possible que la mort autophagique se termine par une apoptose. Par exemple la mort métamorphique des glandes labiales et salivaires des papillons et des mouches est connue comme une mort autophagique. Au début de la métamorphose on constate une activation des lysosomes et une expansion du compartiment autophagique. La plus grande partie du cytoplasme est éliminée sans intervention de la phagocytose, et sans aucun signe d'apoptose : ni fragmentation de l'ADN, ni coalescence, ni marginalisation de la chromatine, ni extériorisation de phosphatidylsérine, ni activation de caspases (bien que ces cel-

lules possèdent des gènes pour des caspases). C'est donc une mort presque purement autophagique comme, d'ailleurs, la mort d'une cellule d'épiderme mammaire. Mais à la fin de ce processus (au 4^{ème} jour sur 5 pour la disparition de la glande labiale de *Manduca sexta* ; à 12 heures sur 13 heures 30 pour la disparition de la glande salivaire de *Drosophila*) on observe le clivage de l'ADN, la coalescence et la marginalisation de la chromatine, l'extériorisation de phosphatidylsérine, et le clivage des substrats des caspases. Il semble que, dans le cas des cellules riches en cytoplasme, hors du cycle mitotique, l'élimination du cytoplasme, prioritaire, se fasse par autophagie. Pour l'instant nous ne savons pas si cette autophagie diffère d'une autophagie provoquée par le manque de substances nutritives dans le milieu. Dans ce dernier cas, la mort autophagique serait l'autophagie simple, suivie de la mort apoptotique, cette dernière étape ne survenant que lorsque le dernier seuil de survie est franchi (Lockshin & Zakeri, 2002, 2004a et b ; Facey & Lockshin, en préparation ; Khan & Lockshin, en préparation).

Cette discussion amène aux conclusions suivantes : en premier lieu l'apoptose ou mort cellulaire programmée est un phénomène crucial régulé de manière précise ; ce n'est pas l'événement naguère considéré comme passif. Dans une situation aiguë une protection temporaire contre la mort cellulaire ou, lorsqu'on vise à tuer certaines cellules ciblées, une interférence avec l'apoptose laissent présager un bon résultat. En revanche dans des situations chroniques, neurodégénérescences, SIDA, ou maladies auto-immunes, bloquer l'apoptose ne fait que permettre la manifestation d'autres moyens de mourir, si bien qu'en fin de compte la cellule mourra. Ce qui menace la cellule, et jusqu'à quelle limite elle peut aller, sans que la séquence de mort ne soit induite, telles sont les questions qu'il faut encore résoudre.

L'esprit scientifique devrait nous rendre modestes et ouverts. Nous savons bien peu de choses en réalité et nous sommes tous faillibles en face des difficultés immenses que présente l'investigation des phénomènes naturels.

La première condition que doit remplir un scientifique qui se livre à cette activité, c'est de conserver une entière liberté d'esprit assise sur le doute philosophique. Il ne faut pourtant pas être sceptique ; il faut croire à la science, c'est-à-dire au déterminisme, au rapport absolu et nécessaire des choses, autant à propos des phénomènes propres aux êtres vivants qu'à propos de tous les autres ; mais il faut en même temps être convaincu que nous n'établissons ce rapport que d'une manière plus ou moins approximative, et que les théories que nous élaborons sont loin de représenter des vérités immuables.

Les citations de Claude Bernard (en italiques) proviennent de l'« Introduction à la Médecine Expérimentale » (Flammarion, Paris, 1984) dont l'édition française m'a été donnée par Stéphane PICOT, Université Claude Bernard de Lyon. Je remercie aussi Stéphane BOISSINOT, Queens College of the City University of New York, pour l'aide qu'il m'a apportée en corrigeant mon français.

BIBLIOGRAPHIE

- Ameisen J. C. & Capron A., Cell dysfunction and depletion in AIDS: the programmed cell death hypothesis. *Immunol. Today*, 1991, 12, 102-105.
- Beaulaton J. & Lockshin R. A., Ultrastructural study of the normal degeneration of the intersegmental muscles of *Antheraea polyphemus* and *Manduca sexta* (Insecta, Lepidoptera) with particular reference to cellular autophagy. *J. Morphol.*, 1977, 154, 39-58.
- Beaulaton J. & Lockshin R. A., Ultrastructural study of neuromuscular relations during degeneration of the intersegmental muscles. *Biol. Cellulaire*, 1978, 33, 169-174.
- Bortner C. D. & Cidlowski J. A., Apoptotic volume decrease and the incredible shrinking cell. *Cell Death Differ.*, 2002, 9, 1307-1310.
- Clarke P. G. H. & Clarke S., Historic apoptosis. *Nature*, 1995, 378, 230.
- Clarke P. G. H. & Clarke S., Nineteenth century research on naturally occurring cell death and related phenomena. *Anatomy and Embryology*, 1996, 193, 81-99.
- Glücksman A., Cell deaths in normal vertebrate ontogeny. *Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc.*, 1951, 26, 59-86.
- Glücksman A., Cell death in normal development. *Arch. Biol. (Liege)*, 1965, 76, 419-437.
- Golstein P., Controlling cell death [comment]. *Science*, 1997, 275, 1081-1082.
- Golstein P., Marguet D. & Depraetere V., Fas bridging cell death and cytotoxicity: the reaper connection. *Immunol. Rev.*, 1995a, 146, 45-56.
- Golstein P., Marguet D. & Depraetere V., Homology between reaper and the cdl death domains of Fas and TNFR1. *Cell*, 1995b, 81, 185-186.
- Gougeon M. L. & Montagnier L., Programmed cell death and AIDS. Response. *Science*, 1993, 262, 1356-1357.
- Gougeon M. L., Garcia S., Heeney J., Tschopp R., Lecœur H., Guetard D., Rame V., Dauguet C. & Montagnier L., Programmed cell death in AIDS-related HIV and SIV infections. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 1993, 9, 553-563.
- Häcker G. & Vaux D. L., A chronology of cell death. *Apoptosis*, 1997, 2, 247-256.
- Hensey C. & Gautier J., A developmental timer that regulates apoptosis at the onset of gastrulation. *Mech. Dev.*, 1997, 69, 183-195.
- Hensey C. & Gautier J., Developmental regulation of induced and programmed cell death in *Xenopus* embryos. Zakeri Z., Lockshin R. A. and Benitez-Bribiesca L., Mechanisms of Cell Death, 1999, 105-119. New York City, New York Academy of Sciences. Annals of the New York Academy of Sciences.
- Horvitz H. R., Nobel lecture. Worms, life and death. *Biosci. Rep.*, 2003, 23, 239-303.
- Kerr J. F. R., Shrinkage necrosis: a distinct mode of cellular death. *J. Pathol.*, 1971, 105, 13-20.
- Kerr J. F. R. & Harmon B. V., Definition and incidence of apoptosis: an historical perspective. Tomei L. David and Cope F. O., Apoptosis: the molecular biology of cell death, 1991, 5-30. Cold Spring Harbor, N. Y., Cold Spring Harbor Press.
- Kerr J. F. R., Wyllie A. H. & Curie A. R., Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer*, 1972, 26, 239-257.
- Lockshin R. A. & Beaulaton J., Programmed cell death. Cytochemical evidence for lysosomes during the normal breakdown of the intersegmental muscles. *J. Ultrastruct. Res.*, 1974a, 46, 43-62.
- Lockshin R. A. & Beaulaton J., Programmed cell death. Cytochemical appearance of lysosomes when the death of the intersegmental muscles is prevented. *J. Ultrastruct. Res.*, 1974b, 46, 63-78.
- Lockshin R. A. & Beaulaton J., Cytological studies of dying muscle fibers of known physiological parameters. *Tissue Cell*, 1979, 11, 803-819.
- Lockshin R. A. & Beaulaton J., Cell death: questions for histochemists concerning the causes of the various cytological changes. *Histochem. J.*, 1981, 13, 659-666.
- Lockshin R. A. & Williams C. M., Programmed cell death. II. Endocrine potentiation of the breakdown of the intersegmental muscles of silkmoths. *J. Insect. Physiol.*, 1964, 10, 643-649.
- Lockshin R. A. & Williams C. M., Programmed cell death. I. Cytology of the degeneration of the intersegmental muscles of the Pernyi silkmoth. *J. Insect. Physiol.*, 1965a, 11, 123-133.
- Lockshin R. A. & Williams C. M., Programmed cell death. III. Neural control of the breakdown of the intersegmental muscles. *J. Insect. Physiol.*, 1965b, 11, 605-610.
- Lockshin R. A. & Williams C. M., Programmed cell death. IV. The influence of drugs on the breakdown of the intersegmental muscles of silkmoths. *J. Insect. Physiol.*, 1965c, 11, 803-809.
- Lockshin R. A. & Williams C. M., Programmed cell death. V. Cytolytic enzymes in relation to the breakdown of the intersegmental muscles of silkmoths. *J. Insect. Physiol.*, 1965d, 11, 831-844.
- Lockshin R. A. & Zakeri Z., Programmed cell death and apoptosis: origins of the theory. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2001, 2, 545-550.
- Lockshin R. A. & Zakeri Z., Caspase-independent cell deaths. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2002, 14, 727-733.
- Lockshin R. A. & Zakeri Z., Apoptosis, autophagy, and more. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2004a, 36, 2405-2419.
- Lockshin R. A. & Zakeri Z., Caspase-independent cell death? *Oncogene*, 2004b, 23, 2766-2773.
- Nagata S. & Golstein P., The Fas death factor. *Science*, 1995, 267, 1449-1456.
- Negrón J. F. & Lockshin R. A., Activation of apoptosis and caspase-3 in zebrafish early gastrulae. *Dev. Dyn.*, 2004, 231, 161-170.
- Saunders J. W. Jr., Death in embryonic systems. *Science*, 1966, 154, 604-612.
- Tata J. R., Requirement for RNA and protein synthesis for induced regression of tadpole tail in organ culture. *Dev. Biol.*, 1966, 13, 77-94.
- Yonish-Rouach E., Grunwald D., Wilder S., Kimchi A., May E., Lawrence J.-J., May P. & Oren M., p53-mediated cell death: relationship to cell cycle control. *Molecular and Cellular Biology*, 1993, 13, 1415-1423.