

LE CONTRÔLE DE L'APOPTOSE. QUEL AVENIR THÉRAPEUTIQUE ?

par

A. KAHN*, F. TERZI** et A. MIGNON***

La mort cellulaire programmée correspond à un ensemble de phénomènes aboutissant à la mort cellulaire par mise en œuvre de systèmes endogènes. Historiquement, l'apoptose désigne une forme de mort cellulaire programmée observée dans des tissus animaux [1, 2]. Aujourd'hui, la tendance est d'utiliser le terme d'apoptose pour désigner tous ces phénomènes, ou bien d'employer indifféremment les deux termes. L'apoptose est, dans l'évolution, un phénomène ancien qui s'est établi sous une forme proche de ce qui est connu aujourd'hui dès l'apparition des métazoaires [3]. C'est que « la sculpture des formes » des organismes unicellulaires met en œuvre aussi bien la croissance différentielle que l'apoptose sélective. L'apoptose est donc l'un des mécanismes fondamentaux de la morphogenèse, dans le monde animal aussi bien que végétal [4, 5].

Par ailleurs, ce même mécanisme a été sélectionné comme un moyen efficace de provoquer le suicide de cellules sans cela menaçantes. Des cellules infectées par des agents pathogènes peuvent déclencher un programme d'apoptose, qui sera d'ailleurs souvent contrecarré par des fonctions propres de l'agent pathogène [6]. Dans ce cas, chez les vertébrés, le système immunitaire pourra néanmoins éliminer les cellules infectées, évitant ainsi la perpétuation et la dissémination de l'infection. Plus généralement, des cellules endommagées de manière irréversible par des mécanismes divers, par exemple la production de radicaux actifs de l'oxygène en cas d'ischémie-reperfusion [7], ou bien des dommages irréversibles de l'ADN [8], seront le siège d'une apoptose. Celle-ci permettra la phagocytose des cellules mortes par des macrophages sans libération de son contenu intra-cellulaire, et donc, en principe, sans réaction inflammatoire [9]. Des anomalies asynchrones des méca-

* Département de Génétique, Développement et Pathologie Moléculaire, Institut Cochin de Génétique Moléculaire, 75014 Paris.

** Inserm U 426, Faculté de Médecine Xavier Bichat, 75870 Paris Cedex 18.

*** Hôpital Xavier Bichat, Département Anesthésie-Réanimation, 75018 Paris.

nismes contrôlant la division cellulaire aboutissent fréquemment au déclenchement d'une apoptose, qui est alors un moyen de protection contre la transformation cellulaire maligne [10]. En dehors de ces situations, une apoptose incontrôlée est à la base de dégâts tissulaires définitifs provoqués par différents types de dysfonctionnements cellulaires ou de maladies auto-immunes. L'apoptose est finement réglée au sein de chaque cellule par l'équilibre qui règne entre une machinerie pro-apoptotique puissante, principalement constituée de récepteurs à domaine de mort activant des protéases à cystéine, les caspases, et des molécules anti-apoptotiques, constitutives ou inductibles, comme la famille des protéines Bcl-2, des IAP (*Inhibitors of Apoptosis*), ou des gènes contrôlés par NF- κ B. Ces différents acteurs constituent autant de cibles thérapeutiques pour le contrôle de l'apoptose, via l'utilisation de stratégies anti-sens, de protéines recombinantes activant les récepteurs à domaine de mort, ou encore d'inhibiteurs synthétiques des caspases. L'ampleur des situations pathologiques impliquant une dérégulation des phénomènes d'apoptose, ou bien qui pourraient bénéficier de la maîtrise de ceux-ci, explique l'importance des recherches menées partout dans le monde sur les approches thérapeutiques impliquant l'inhibition ou l'activation des phénomènes d'apoptose [11]. Cependant, l'ubiquité de ceux-ci et leur fréquente absence de spécificité constituent autant de difficultés à surmonter pour parvenir à des succès significatifs.

INDUCTION DE L'APOPTOSE À VISÉE THÉRAPEUTIQUE

Il existe plusieurs situations pathologiques où la destruction par apoptose de populations cellulaires menaçantes constitue une stratégie thérapeutique logique.

Ainsi, discuterons nous ici de l'induction de l'apoptose au sein de tissus tumoraux, ou de la restauration de leur sensibilité à la chimiothérapie (elle-même inductrice d'apoptose). Sera également évoquée l'induction de l'apoptose des cellules immunitaires, principalement des lymphocytes cytotoxiques activés contre les greffes allogéniques, pour conférer à ces dernières un privilège immun les protégeant du rejet.

Les cancers

La conception moderne de la maladie cancéreuse est celle de l'envahissement tissulaire par des cellules caractérisées par une grande instabilité génétique et une prolifération incontrôlée. La labilité génétique facilite l'apparition et la sélection d'anomalies qui, associées, concourent à l'avantage sélectif de la cellule maligne. Outre une activation de mécanismes oncogéniques et une inhibition de signaux freinateurs de prolifération, on retrouve presque constamment dans les cellules cancéreuses une diminution de la sensibilité à l'apoptose [10]. Celle-ci peut résulter à la fois, et éventuellement en même temps, de l'exacerbation des fonctions anti-apoptotiques et de l'inactivation des effecteurs de l'apoptose. L'induction de l'apoptose de cellules cancéreuses constitue donc une stratégie thérapeutique parfaitement logique. Celle-ci est cependant rendue de mise en œuvre difficile par la nécessité d'induire une destruction sélective des cellules cancéreuses, c'est-à-dire

d'épargner les nombreuses cellules normales qui sont elles aussi sensibles à l'apoptose. Deux stratégies ont fait l'objet d'études particulièrement poussées.

Puisque les cellules cancéreuses possèdent très fréquemment une hyper-activité des protéines à fonction anti-apoptotique, l'inhibition de celles-ci, par exemple par une stratégie d'oligonucléotides anti-sens, apparaît prometteuse. L'activation de plusieurs oncogènes, par exemple c-Myc et E2F1, aboutit, à elle seule, à l'apoptose [12, 13], mais ce processus est inhibé par la mise en jeu des molécules anti-apoptotiques. Par exemple, la protéine Bcl-2, ainsi que d'autres membres de cette famille tels que Bcl-X_L, sont accumulées dans divers cancers. L'inhibition de leurs fonctions pourrait aboutir à l'apoptose de la cellule cancéreuse [14, 15], ou restaurer sa sensibilité aux agents de chimiothérapie. Une autre protéine anti-apoptotique, la survivine, qui appartient à la famille des protéines IAP (*inhibitor of apoptosis*), joue un rôle important dans le couplage entre division cellulaire et apoptose [16]. La quantité de survivine est très habituellement augmentée dans nombre de cancers [17]. Des oligonucléotides anti-sens modifiés, d'affinité augmentée pour leurs cibles, ont été testés quant à leur potentiel d'induction de l'apoptose de cellules cancéreuses dans des essais pré-cliniques. Des résultats particulièrement significatifs ont été obtenus sur le mélanome avec les anti-sens anti-Bcl-2 [18, 19], et font actuellement l'objet d'essais cliniques de phase I-II, y compris dans d'autres types de cancers (lymphomes, cancers à petites cellules du poumon, cancers de la prostate et du sein) [11].

La deuxième stratégie consiste à activer à la membrane cellulaire des signaux d'apoptose. Ceux-ci transitent par des récepteurs membranaires caractérisés par un *death-domain* dans leur partie carboxy-terminale intra-cytoplasmique [20, 21]. La transduction du signal apoptotique est physiologiquement contrôlée de façon négative par des inhibiteurs de type c-FLIP [22]. Parmi les nombreux récepteurs possédant un *death-domain* et dont l'activation aboutit au déclenchement de l'apoptose, les récepteurs TRAIL semblent présenter un intérêt particulier. TRAIL est une molécule soluble appartenant à la super-famille du TNF (*tumor necrosis factor*). Les récepteurs TRAIL de type DR4 et DR5 sont les relais d'un signal apoptotique alors que les récepteurs de type DcR1 fixent le ligand mais sont incapables de déclencher l'apoptose. Or, ces récepteurs DcR1 sont souvent abondamment synthétisés par des cellules normales et beaucoup moins par des cellules cancéreuses qui, de ce fait, apparaissent parfois être électivement exposées à l'apoptose déclenchée par le ligand TRAIL [23, 24]. Ces résultats ont entraîné un grand espoir, malheureusement tempéré par une double observation. D'une part, de nombreuses cellules cancéreuses ne sont pas très sensibles à l'apoptose induite par TRAIL, notamment car la première protéase à cystéine activée par TRAIL, la caspase 8, responsable de l'activation en cascade des autres caspases exécutrices de l'apoptose, est souvent réprimée ou mutée [25]. D'autre part, des cellules normales, et notamment les hépatocytes et les neurones humains, semblent quant à eux fort sensibles à l'induction de l'apoptose par TRAIL [26, 27].

Enfin, différentes stratégies de transfert de gènes pro-apoptotiques dans les cellules cancéreuses à l'aide de vecteurs de thérapie génique ont été mises en œuvre dans des cancers expérimentaux chez l'animal [28, 29]. Leur principale limitation est qu'il s'agit là d'une forme particulière de traitement tumoricide local qui ne prend pas en compte le caractère disséminé, métastatique de la maladie cancéreuse, et dont l'effet peut être limité par l'efficacité du transfert de gène. Par ailleurs, l'effet « *bystander* » de l'expression d'un transgène apoptotique, c'est-à-dire la

diffusion de son action aux cellules environnantes dépourvues du transgène, est pour le moins incertaine. On peut évidemment rapprocher de la thérapie génique à effet pro-apoptotique le transfert du gène p53 à l'aide de vecteurs rétroviraux ou adénoviraux [30, 31] qui ont fait ou font encore l'objet d'essais cliniques de phases II-III. Enfin, l'utilisation d'un vecteur adénoviral répliquatif puis lytique (par apoptose) dans les cellules tumorales déficientes en p53, combinée à la chimiothérapie, fait elle aussi l'objet d'un essai clinique de phase III dans les tumeurs de la tête et du cou. Les résultats globaux n'ont pas encore été dépouillés, mais des régressions locales ont été rapportées cette année [32].

Privilège immun, maladies auto-immunes et rejet de greffes

Les lymphocytes T cytotoxiques sont capables d'induire l'apoptose de leurs cellules cibles [33, 34]. Pour ce faire, ils activent, entre autres, la molécule Fas (CD95/Apo-1) à l'aide du ligand membranaire FasL. Fas est un récepteur à *death domain* présent à la surface de la cible et dont l'activation entraîne l'apoptose. Cependant, les lymphocytes T cytotoxiques activés synthétisent eux-aussi le récepteur Fas, et sont donc eux-mêmes sensibles à l'apoptose relayée par Fas. Celle-ci peut résulter d'une autoactivation de Fas par FasL à la surface des lymphocytes T, contribuant ainsi à limiter le phénomène de cytotoxicité. Alternativement, un lymphocyte T activé peut être détruit par une cible qui synthétise également la molécule FasL. Plusieurs articles proposèrent à partir de 1995 que le privilège immun de certaines cellules ou de certains sites de l'organisme était lié à la synthèse de la molécule FasL par des cellules cibles potentielles, qui déclenchaient alors l'apoptose des lymphocytes T cytotoxiques venus pour les détruire. Les cellules de Sertoli du testicule, qui synthétisent constitutivement FasL, ne sont pas rejetées lorsqu'elles sont greffées à des receveurs allogéniques [35]. Le privilège immun des greffes de cornées allogéniques, parfaitement tolérées sans avoir recours aux immunosuppresseurs, serait expliqué par le même phénomène [36]. Enfin, la transplantation allogénique de cellules endocrines du pancréas associées à des myoblastes synthétisant FasL semble bien tolérée [37] et, dans une expérience, a permis la correction d'un diabète induit par la streptozotocine. Cependant, ces résultats semblent n'avoir pas été reproduits par d'autres auteurs. Par la suite, ce phénomène de protection contre la réponse immune a été étendu à des mélanomes semblant exprimer le ligand FasL [38]. L'idée a alors germé d'augmenter la tolérance à des greffons allogéniques en commandant la synthèse par ceux-ci de FasL. Des souris transgéniques ont ainsi été créées dont les cellules insulino-sécrétrices des îlots de Langerhans synthétisaient FasL [39]. L'expression du transgène par les cellules β -langerhansienne provoquait une infiltration du pancréas par des polynucléaires et ne conférait aucune tolérance améliorée en cas de greffe. Au contraire, les îlots de Langerhans transgéniques étaient en réalité rejetés plus rapidement que des greffons normaux. Ces résultats négatifs et l'effet pro-inflammatoire de FasL devaient par la suite être retrouvés dans plusieurs modèles [40]. Cet effet pourrait être rapporté à l'activation des caspases dans les lymphocytes en apoptose, en particulier de la caspase-1. Cette caspase activée serait alors responsable de la maturation de l'interleukine 1β , une cytokine pro-inflammatoire bien connue.

La stratégie consistant à conférer à des tissus greffés un privilège immunitaire par induction de la synthèse de FasL n'a donc pas confirmé les espoirs initiaux. De plus, des études complémentaires portant sur les cellules cancéreuses ont contredit

la vision d'une dérégulation généralisée de la synthèse de la molécule FasL par les tissus malins rendant compte de leur résistance au rejet par le système immunitaire [40]. Cependant, les tissus cibles d'une réaction immune, maladies auto-immunes ou rejets de greffes, pourraient néanmoins bénéficier d'une approche thérapeutique de contrôle de l'apoptose. Il s'agirait alors plutôt de protéger les tissus cibles de l'apoptose en renforçant leur tonus anti-apoptotique, et non plus de détruire les cellules cytotoxiques. Cette approche doit donc être rangée dans les perspectives thérapeutiques d'inhibition de l'apoptose présentées au chapitre suivant.

INHIBITION DE L' APOPTOSE

Qu'il s'agisse de l'exacerbation d'un phénomène physiologique de défense antivirale, ou d'un processus pathologique d'activation incontrôlée des mécanismes apoptotiques, nombreuses sont les maladies dont la gravité est liée aux dommages tissulaires secondaires à l'apoptose. Nous envisagerons particulièrement ici les cytolyses hépatiques, la nécrose myocardique secondaire aux phénomènes d'ischémie/reperfusion, les affections neuro-dégénératives et les maladies rénales.

Maladies hépatiques

Les hépatocytes semblent être électivement sensibles à l'apoptose. L'injection à la souris d'un anticorps agoniste du récepteur Fas provoque la mort rapide dans un tableau mimant celui des hépatites fulminantes alors que les autres organes semblent préservés [41, 42]. Les hépatites fulminantes d'origine virale ou immuno-allergique semblent directement liées à une induction massive de l'apoptose hépatique sous l'action des lymphocytes T cytotoxiques, via (entre autres) l'activation de la voie Fas. Certaines hépatites toxiques médicamenteuses, comme celle secondaire à l'intoxication par le paracétamol (acétaminophène) [43], et la maladie de Wilson [44], pourraient également impliquer une activation pathologique de l'apoptose relayée par Fas.

Au cours du choc septique, la libération de TNF et l'activation des récepteurs du TNF entraînent une réponse inflammatoire et, selon les cas, des lésions de cytolysse hépatique d'origine apoptotique. Expérimentalement, cependant, le TNF n'induit l'apoptose hépatique que lorsqu'il est associé à des produits inhibant la transcription des gènes dans le foie [45]. En effet, la voie de signalisation du TNF aboutit, entre autres, à l'activation du système NF- κ b qui induit la transcription d'une série de gènes à effet anti-apoptotique [46]. Au cours du développement ou lors des processus de régénération hépatique, l'inhibition du système NF- κ b par différents moyens (inactivation ou transfert génique) aboutit à une apoptose hépatique massive. Les inhibiteurs transcriptionnels sensibilisent donc le foie à l'effet pro-apoptotique de TNF en inhibant la réponse de type NF- κ b [47]. L'apoptose relayée par TNF semble jouer également un rôle important dans les hépatites alcooliques, les dégâts hépatiques liés au rejet de greffe, et dans les phénomènes d'ischémie/reperfusion affectant les greffons [48].

Une des raisons de la grande sensibilité des hépatocytes à l'apoptose pourrait être la richesse de ces cellules en récepteurs Fas et TNF, associée à une synthèse

extrêmement faible des protéines anti-apoptotiques Bcl-2 et Bcl-X_L. [41, 42, 47] Différentes stratégies expérimentales anti-apoptotiques ont été testées sur des modèles divers de maladies hépatiques. Ainsi, l'injection de formes solubles du récepteur Fas, qui détournent FasL du récepteur Fas membranaire, permet de prévenir l'hépatite aiguë provoquée par l'injection de lymphocytes T cytotoxiques anti-HBs à des souris transgéniques synthétisant cet antigène du virus de l'hépatite B [49]. Un oligonucléotide anti-sens, dirigé contre le messager de Fas, protège des souris de l'hépatite fulminante provoquée par l'anticorps agoniste anti-Fas, mais aussi par le paracétamol [50]. L'expression dans le foie d'un transgène Bcl-2 permet de protéger complètement les souris transgéniques contre l'hépatite fulminante provoquée par l'anticorps agoniste dirigé contre Fas, mais est inefficace contre les lésions hépatiques provoquées par le TNF ou des modèles de chocs infectieux [42, 47]. En revanche, l'hyper-expression d'un transgène Bcl-X_L protège à la fois contre l'apoptose relayée par Fas et contre celle provoquée par la mise en jeu du système TNF (modèle de choc septique) [47]. Les animaux transgéniques synthétisant Bcl-2 ou Bcl-X_L dans le foie ont également été soumis dans le laboratoire à l'induction d'une hépatite virale expérimentale provoquée par l'injection d'un haut titre d'adénovirus recombinant codant le gène *lacZ*. (Mignon *et al*, résultats non publiés). Par rapport aux souris témoins, les souris transgéniques sont moins sensibles à la cytolysse précoce, mais présentent un tableau d'hépatite prolongée avec persistance d'hépatocytes exprimant le génome viral. (fig. 1 page 305). Ces résultats rappellent évidemment la sensibilité des malades immunodéprimés aux hépatites prolongées et chroniques actives de type B ou C, qui éliminent mal les hépatocytes infectés.

Comme nous l'avons vu plus haut, des protéases de la famille des caspases jouent un rôle essentiel dans l'induction et dans l'exécution de l'apoptose [51, 52]. Les caspases peuvent être inhibées par des peptides de synthèse attachés à des groupements fluorométhylkétone ou chlorométhylkétone [11]. Ces produits se sont montrés remarquablement efficaces contre la cytolysse hépatique provoquée par la stimulation de la voie Fas (fig. 2 page 306) ou dans des modèles de choc septique [45, 53]. Mieux, même, ils conservent une efficacité incontestable lorsqu'ils sont administrés jusqu'à deux heures après l'injection des agents responsables du déclenchement de l'apoptose et de la mort observée en 6 à 8 heures. Au cours de l'ischémie reperfusion hépatique, une situation fréquemment rencontrée en chirurgie ou transplantation hépatique, les inhibiteurs de caspases ont aussi démontré des effets très spectaculaires et prometteurs [54].

Enfin, un des mécanismes fréquemment invoqué en tant que responsable ou impliqué dans l'apoptose est la production de radicaux actifs de l'oxygène [55]. L'importance de ce mécanisme est attestée par l'activité anti-apoptotique d'un mimétique non peptidique de la superoxyde dismutase sur l'apoptose hépatocytaire déclenchée par l'activation de la voie Fas ou l'intoxication par le paracétamol. [Batteux F et al, *sous presse*].

Maladies neurologiques

La survie des différentes populations neuronales dépend de la présence de facteurs neurotrophiques divers. Ceux-ci semblent notamment agir en inhibant l'apoptose observée en leur absence [56]. L'apoptose neuronale peut d'ailleurs être inhibée par hyper-expression de Bcl-2 ou d'autres membres de cette famille

[57, 58]. À l'opposé, l'inactivation par recombinaison homologue des gènes de caspases 3 et 9 entraîne de profonds désordres du développement cérébral par défaut d'apoptose [59, 60]. Une apoptose anormale est très probablement impliquée dans de nombreuses maladies du système nerveux central [56]. Citons, sans que cette liste soit exhaustive, l'ischémie et le syndrome d'ischémie/reperfusion [61] ; les phénomènes d'excito-toxicité [62] ; la sclérose latérale amyotrophique [63] ; l'amyotrophie spinale et les autres formes de dégénérescence motoneuronale, les maladies neurodégénératives caractérisées par l'accumulation de protéines avec expansion d'une séquence polyglutamine [64] et la maladie d'Alzheimer [65] ; Au cours de cette dernière, l'accumulation du peptide β -amyloïde semble jouer un rôle essentiel [63]. Or, des neurones déficients en caspases 2 et 12 sont moins vulnérables à la toxicité de ce composé [56, 66]. De même, des caspases semblent impliquées dans la mort neuronale en cas d'accumulation de protéines avec expansion de polyglutamine [67, 68]. Enfin, l'inhibition de la caspase 1 à l'aide d'un mutant dominant négatif de cette protéase ou d'inhibiteurs chimiques, ralentit la progression d'un modèle murin de maladie de Huntington [68].

Certaines formes de scléroses latérales amyotrophiques sont liées à des mutations de la superoxyde dismutase à Cu/Zn, ce qui attire évidemment l'attention sur le rôle de radicaux libres de l'oxygène [69, 70]. L'expression d'un transgène Bcl-2 ralentit l'évolution d'un modèle murin de ces formes de la maladie [71]. Les caspases 1 et 3 sont activées dans des modèles murins de sclérose latérale amyotrophique, ainsi que dans la moelle de malades [72, 73]. Dans un modèle murin, l'administration continue d'un inhibiteur des caspases 1 et 3 par voie intra-cérébro-ventriculaire ralentit l'évolution de la maladie [74].

Ischémie myocardique

Les lésions entraînées par une ischémie myocardique résultent de deux phénomènes surajoutés. L'ischémie elle-même, conséquence d'une obstruction coronarienne, provoque une nécrose ischémique irréversible. Cette zone lésionnelle est entourée d'une population de cardiomyocytes fonctionnellement altérés, accumulant notamment du calcium, mais encore vivants. L'afflux d'oxygène après repermeabilisation coronarienne va engendrer la production de radicaux libres de l'oxygène susceptibles d'induire l'apoptose de ces cardiomyocytes périlésionnels [75, 76]. La conséquence en est une aggravation de la zone nécrotique, et donc des conséquences fonctionnelles de l'infarctus.

Les lésions secondaires à l'ischémie/reperfusion myocardique peuvent être expérimentalement atténuées par administration d'inhibiteurs de caspase [77, 78] et par hyper-expression dans le cœur d'un transgène Bcl-2 [79] (fig. 3 page 307).

Maladies rénales

La mort cellulaire par apoptose a été décrite dans plusieurs affections rénales, des glomérulonéphrites aiguës aux néphropathies chroniques tubulo-interstitielles. Dans le rein, l'apoptose peut concerner aussi bien les cellules résidentes (glomérulaires, tubulaires, fibroblastiques, endothéliales), que les leucocytes infiltrants. Le rôle de l'apoptose dans toutes ces situations reste très controversé [80]. D'une part, l'apoptose pourrait avoir un effet bénéfique, en éliminant l'excès de cellules

au cours des processus prolifératifs et/ou infiltrants. D'autre part, elle participerait à la perte du parenchyme rénal au cours de phénomènes de détérioration rénale. Les deux altérations peuvent d'ailleurs se succéder au cours d'un même processus pathologique. Dans le modèle expérimental de la glomérulonéphrite provoquée par injection d'un anticorps anti-Thy 1.1, par exemple, l'apoptose est responsable de la résolution de la maladie en normalisant le nombre de cellules mésangiales. Cependant, si le phénomène persiste, le nombre des cellules mésangiales diminue, ce qui entraîne une sclérose glomérulaire [81]. Le même mécanisme serait à l'origine de la sclérose glomérulaire dans les glomérulonéphrites mésangio-prolifératives chez l'homme, telle que la néphropathie à IgA ou le lupus érythémateux disséminé [81]. Un rôle bivalent de l'apoptose est aussi observé dans les pathologies tubulo-interstitielles. Elle aurait un effet bénéfique dans la phase de guérison des néphropathies toxiques en favorisant la clairance des cellules tubulaires proximales riches en cadmium, cisplatine, acide folique ou chlorure de mercure [82]. De la même façon, après une ischémie rénale modérée, l'apoptose favoriserait l'élimination des cellules hypoxiques. Si l'ischémie rénale est plus sévère, la nécrose est le phénomène prépondérant et l'apoptose devient alors un des mécanismes de contrôle de la prolifération cellulaire lors de la phase de régénération tubulaire. Cependant, le maintien de l'apoptose au-delà de cette phase participe à la destruction des structures tubulaires et au développement des lésions tubulo-interstitielles [82]. L'apoptose des cellules tubulaires et interstitielles serait également à l'origine de l'atrophie tubulo-interstitielle secondaire à une uropathie obstructive [83], à une réduction des 5/6^e de la masse rénale [84], ou à l'administration de cyclosporine [85]. Le rôle de l'apoptose dans la polykystose humaine et expérimentale est encore plus complexe. En effet, elle semble ici favoriser à la fois l'atrophie tubulaire et le développement des kystes [86].

L'expression, lors d'une atteinte rénale, des molécules impliquées dans le contrôle de l'apoptose est extrêmement variable [87], ce qui complique la compréhension de son rôle. Premièrement, les réponses varient selon la partie du néphron analysée : les glomérules sont très sensibles à l'apoptose induite par le ligand du récepteur Fas, alors que les tubules proximaux sont résistants [88]. De plus, la sensibilité peut varier en fonction de l'environnement cellulaire : cytokines et facteurs de croissance modifient sensiblement la réponse cellulaire aux stimulus pro-apoptotiques : en présence de cytokines, par exemple, les cellules tubulaires deviennent sensibles à l'apoptose induite par Fas [88, 89]. L'équilibre entre les différentes molécules régulatrices de l'apoptose est ainsi déterminant. Cela peut expliquer le fait que des modifications opposées du même facteur soient parfois associées à des phénotypes voisins. L'exemple le plus caractéristique concerne Bcl-2. En effet, alors que l'inactivation de ce gène par recombinaison homologue entraîne le développement d'une polykystose rénale sévère, l'expression de Bcl-2 est augmentée dans les kystes de polykystoses expérimentales et de la maladie humaine [86].

Afin d'élucider le rôle joué par Bcl-2 dans le développement des lésions rénales, nous avons évalué l'impact d'une agression rénale chez des souris transgéniques qui surexpriment Bcl-2 dans le tubule proximal du rein. [Terzi F et al, *résultats non publiés*]. Ces souris se développent et se reproduisent sans phénotype apparent [42]. Un mois après une ischémie rénale prolongée ou après une injection de cisplatine, la surexpression de Bcl-2 aggrave la sévérité et la distribution des lésions tubulo-interstitielles. Ces modifications sont associées à une réduction de l'apop-

tose et à une augmentation de la prolifération des cellules tubulaires proximales. L'effet favorisant la prolifération de Bcl-2 a été confirmé : (i) *in vivo*, au cours de la néphropathie induite par l'acide folique, un modèle expérimental caractérisé par une prolifération cellulaire accrue ; (ii) *in vitro*, dans des cultures primaires de cellules tubulaires proximales provenant de souris transgéniques et des souris normales. Cet effet prolifératif de Bcl-2 au niveau des cellules tubulaires rénales contraste avec les études antérieures qui lui assignent plutôt un effet anti-prolifératif dans d'autres modèles cellulaires [89]. Par ailleurs, l'effet prolifératif ou anti-prolifératif de Bcl2 pourrait dépendre de la phase du cycle cellulaire [89]. En cas d'inhibition de la prolifération, il est difficile de déterminer s'il s'agit là d'une action primaire, ou bien des conséquences de l'action anti-apoptotique, et donc d'une diminution de la régénération cellulaire.

En conclusion, l'ensemble des études publiées ne permet pas, à ce jour, de définir si l'apoptose favorise, ou, au contraire, protège de la détérioration rénale. Cette incertitude sur le rôle exact de l'apoptose dans l'étiologie et l'évolution des maladies rénales rend difficile l'utilisation thérapeutique de ses modulateurs. Cependant des stratégies capables de modifier à la fois l'apoptose et le processus lésionnel rénaux ont été déjà développées. Comme dans d'autres études sur la greffe d'organe [36, 37, 39, 40], FasL augmente la survie du greffon au cours de la greffe rénale [90]. Par ailleurs, les inhibiteurs de l'HMG-CoA réductase stimulent l'apoptose des cellules tubulaires et réduisent la progression des lésions rénales au cours de la réduction néphronique [91].

Apoptose ménagée et repopulation hépatique

La sensibilité extrême des hépatocytes aux inducteurs d'apoptose a été utilisée dans notre laboratoire dans des expériences de repopulation du foie par des hépatocytes génétiquement modifiés. La stratégie consiste à induire la résistance à l'apoptose d'une petite quantité d'hépatocytes, et de provoquer alors leur expansion élective par des cycles répétés d'apoptose ménagée induite à l'aide d'un agoniste de Fas. La résistance est aisément obtenue par hyper-expression d'un transgène Bcl-2, soit dans des hépatocytes transplantés [92], soit dans des cellules natives du foie en utilisant un vecteur rétroviral [93].

Suivant les conditions, cette procédure permet d'obtenir une repopulation de 30 à 70 p. 100 du foie par les hépatocytes génétiquement modifiés. Lorsque des hépatocytes normaux résistants à l'apoptose sont ainsi transplantés chez une souris déficiente en apolipoprotéine E, la repopulation de son foie permet d'induire la synthèse et la sécrétion de cette protéine. Chez ces animaux, un tel traitement permet de corriger l'hypercholestérolémie et d'éviter le développement d'une athérosclérose [94]. L'utilisation d'un vecteur rétroviral peut permettre de transférer une construction polycistronique, l'un des cistrons codant Bcl-2 et l'autre une protéine d'intérêt [93].

Quoique spectaculaire, ces résultats restent encore expérimentaux car l'induction de l'apoptose par activation de la voie Fas est potentiellement trop brutale et difficile à contrôler pour pouvoir être utilisée en pratique clinique.

Cependant, d'autres inducteurs plus progressifs de l'apoptose peuvent probablement être mis au point à l'occasion de l'intense activité de recherches sur l'éventuel effet anti-cancéreux de tels produits. L'utilisation d'une stratégie de ce type recèle d'importantes possibilités. En effet, on pourrait repeupler au niveau requis un foie

à l'aide d'hépatocytes corrigés ou modifiés pour coder une substance d'intérêt thérapeutique. Une telle approche serait en principe adaptée à de nombreuses maladies hépatiques ou à toute affection pouvant bénéficier de la sécrétion dans le sang d'une protéine biologiquement active.

CONCLUSION

À la multiplicité et à la diversité des situations pathologiques impliquant une activité augmentée ou inhibée des voies apoptotiques correspond l'ampleur des perspectives thérapeutiques. Alors que de nombreux essais expérimentaux chez l'animal témoignent de la réalité de ces espoirs, des obstacles sérieux demeurent pour qu'ils deviennent réalité.

Compte tenu des rôles multiples joués par l'apoptose et de la complexité de leur régulation, les agents modulateurs de l'apoptose, produits pro-apoptotiques à visée anti-proliférative ou anti-apoptotique à visée protectrice, devraient impérativement témoigner d'une bonne spécificité pour les cellules cibles de la maladie. Par ailleurs, dans certains cas, l'observation d'une apoptose associée à des phénomènes pathologiques ne permet pas de conclure qu'il s'agit là d'un phénomène causal : l'apoptose peut être un mode de mort cellulaire qui, si elle est bloquée, serait remplacée par des phénomènes de nécrose dont l'une des caractéristiques est, contrairement à l'apoptose, d'induire une réaction inflammatoire. Ainsi, sur des modèles cellulaires, les inhibiteurs de caspases peuvent favoriser la nécrose cellulaire [95, 96]. L'effort international consenti pour surmonter ces difficultés est cependant considérable, notamment dans les plus grands groupes pharmaceutiques. Ceux-ci étant rarement mus par l'unique désir d'accéder au savoir, un optimisme raisonnable est donc de rigueur.

BIBLIOGRAPHIE

1. KERR JF, WYLLIE AH, CURRIE AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J cancer*, 1972; **26**: 239-257.
2. WYLLIE AH, KERR J. F, CURRIE AR. Cell death: the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol*, 1980; **68**: 251-306.
3. CIKALA M, WILM B, HOBMEYER E ET AL. Identification of caspases and apoptosis in the simple metazoan Hydra. *Curr Biol*, 1999; **9**: 959-962.
4. VAUX DL, KORSMEYER SJ. Cell death in development. *Cell*, 1999; **96**: 245-254.
5. PENNEL RL, LAMB C. Programmed cell death implant. *Plant Cell*, 1997; **9**: 1157-1168.
6. TSCHOPP J, THOME M, HOFMANN K *et al*. The fight of viruses against apoptosis. *Curr Opin Genet Dev*, 1998; **8**: 82-87.
7. WEBSTER KA, DISCHER DJ, KAISER S ET AL. Hypoxia-activated apoptosis of cardiac myocytes requires reoxygenation or a pH shift and is independent of p53. *J Clin Invest*, 1999; **104**: 239-252.
8. RICH T, ALLEN RL, WYLLIE AH. Defying death after DNA damage. *Nature*, 2000; **407**: 77-783.
9. SAVILL J, FADOK V. Corpus clearance defines the meaning of cell death. *Nature*, 2000; **407**: 784 - 788.
10. EVAN G, LITTLEWOOD T. A matter of life and cell death. *Science*, 1998; **281**: 1317-1322.
11. NICHOLSON DW. From bench to clinic. *Nature*, 2000; **407**: 810-816.

12. WANG JL, LIU D, ZHANG ZJ ET AL. Structure-based discovery of an organic compound that binds bcl-2 protein and induces apoptosis of tumor cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000; **97**: 7124-7129.
13. ADAMS J. M, CORY S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science*, 1998; **281**: 1322-1326.
14. PRENDERGAST GC. Mechanisms of apoptosis by c-Myc. *Oncogene*, 1999; **18**: 2967-2987.
15. PHILIPS A, BATES S, RYAN K ET AL. Induction of DNA synthesis and apoptosis are separable function of E2F1. *Genes Dev*, 1997; **11**: 1853 -1863.
16. FENGZHI L, ACKERMANN EJ, BENNETT F ET AL. Pleiotropic cell-division defects and apoptosis induced by interference with survivin function. *Nat New Biol*, 1999; **1**: 461-466.
17. AMBROSINI G, ADIDA C, ALTIERI DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med*, 1997; **3**: 917-921.
18. JANSEN B, SCHLAGBAUER-WADL H, BROWN BD ET AL. Bcl-2 antisense therapy chemosensitizes human melanoma in SCID mice. *Nat Med*, 1998; **4**: 232-234.
19. JANSEN B, WACHECK V, HEERE-RESS E ET AL. Chemosensitisation of malignant melanoma by Bcl-2 antisense therapy. *Lancet*, 2000; **356**: 1728.
20. ASHKENAZI A, DIXIT VM. Death receptors: signalling and modulation. *Science*, 1998; **281**: 1305-1308.
21. SCHNEIDER P, TSCHOPP J. Apoptosis induced by death receptors. *Pharm. Acta Helv*, 2000; **74**: 281-286.
22. THOME M, SCHNEIDER P, HOFMANN K ET AL. Viral FLICE-inhibitory protein (FLIPs) prevent apoptosis induced by death receptors. *Nature*, 1997; **386**: 517-521.
23. PAN G, NI J, WEI Y-F ET AL. An antagonist decoy receptor and a death domain-containing receptor for TRAIL. *Science*, 1997; **277**: 815-818.
24. SHERIDAN JP, MARSTERS SA, PITTIR M. Control of TRAIL-induced apoptosis by a family of signaling and decoy receptors. *Science*, 1997; **277**: 818-821.
25. GROTZER MA, EGGERT A, ZUGAK TJ ET AL. Resistance to TRAIL-induced apoptosis in primitive neuroectodermal brain tumor cells correlates with a loss of caspase-8 expression. *Oncogene*, 2000; **19**: 4604-4610.
26. JO M, KIM TH, SCOL DW ET AL. Apoptosis-induced in normal human hepatocytes by tumor necrosis factor-related apoptosis - inducing ligand. *Nat Med*, 2000; **6**: 564-567.
27. NITSCH R, BECHMANN I, DEISZ RA ET AL. Human brain-cell death induced by tumour-necrosis-factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL). *Lancet*, 2000; **356**: 827-828.
28. CLARCKE MF, APEL IJ, BENEDICT MA ET AL. A recombinant Bcl-Xs adenovirus selectively induces apoptosis in cancer cells but not in normal bone marrow cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995; **92**: 11024-11028.
29. ARAI H, GORDON D, NABEL E ET AL. Gene transfer of Fas ligand induces tumor regression *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997; **94**: 13826-13867.
30. FUJIWARA TD, CAI RN, GEORGES T ET AL. Therapeutic effect of a retroviral wild-type p53 expression vector in an orthotopic lung cancer model. *J Natl Cancer Sci*, 1994; **86**: 1458-1462.
31. CLAYMAN GL, EL-NAGGAR JA, ROTH WW ET AL. *In vivo* molecular therapy with p53 adenovirus for microscopic residual head and neck squamous carcinoma. *Cancer Res*, 1995; **55**: 1-6.
32. KHURI FR, NEMUNAITIS J, GANLY I ET AL. A controlled trial of intratumoral ONYX-015, a selectively-replicating adenovirus, in combination with cisplatin and 5-fluorouracil in patients with recurrent head and neck cancer. *Nat Med*, 2000; **6**: 879-885.
33. GOLDSTEIN P. Controlling cell death. *Science*, 1997; **275**: 1081-1082.
34. KRAMMER PH. CD95's deadly mission in the immune system. *Nature*, 2000; **407**: 789-795.
35. BELLGRAU D, GOLD D, SELAWRY H ET AL. A role for CD95 ligand in preventing graft rejection. *Nature*, 1995; **377**: 630-632.
36. GRIFFITH TS, BRUNNER T, FLETCHER SM ET AL. Fas ligand-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. *Science*, 1995; **270**: 1189-1192.
37. LAU HT, FONTANA Y, STOECKERT JJ . Prevention of islet allograft rejection with engineered myoblasts expressing FasL in mice. *Science*, 1996; **273**: 109-112.

38. HAHNE M, RIMOLDI D, SCHROTER M ET AL. Melanoma cell expression of Fas (Apo1/CD95) ligand: implications for tumor immune escape. *Science*, 1996; **274**: 1363-1366.
39. ALLISON J, GEROGIOU HM, STRASSER A ET AL. Transgenic expression of CD95 ligand on islet beta cells induces a granulocytic infiltration but does not confer immune privilege upon islet allografts. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997; **94**: 3943-3947.
40. RESTIFO NP. Not so Fas: Re-evaluating the mechanisms of immune privilege and tumor escape. *Nat Med*, 2000; **6**: 493-495.
41. OGASAWARA J, WATANABE-FUKUNAGA R, ADACHI M ET AL. Lethal effect of the anti-Fas antibody in mice. *Nature*, 1993; **364**: 806-809 (erratum : 1993 ; 365-568).
42. LACRONIQUE V, MIGNON A, FABRE M ET AL. Bcl-2 protects from lethal hepatic apoptosis induced by an anti-Fas antibody in mice. *Nat Med*, 1996; **2**: 80-86.
43. ZHANG H, COOK J, NICKEL J ET AL. Reduction of liver Fas expression by an antisense oligonucleotide protects mice from fulminant hepatitis. *Nat Biotech*, 2000; **18**: 862-867.
44. STRAND S, HOFMANN WJ, GRAMBIHLER A ET AL. Hepatic failure and liver cell damage in acute Wilson's disease involve CD95 (APO-1/Fas) mediated apoptosis. *Nat Med*, 1998; **4**: 588-593.
45. MIGNON A, ROUQUET N, FABRE M ET AL. LPS challenge in D-galactosamine-sensitized mice accounts for caspase-dependent fulminant hepatitis, not for septic shock. *Am J Respir Crit Care Med*, 1999; **159**: 1308-1315.
46. GALANOS C, FREUNDENBERG MA, REUTTER W. Galactosamine induced sensitization to the lethal effects of endotoxin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979; **76**: 5939-5943.
47. DE LA COSTE A, FABRE M, MC DONELL N ET AL. Differential protective effects of Bcl-X_L and Bcl-2 on apoptotic injury in transgenic mice. *Am J Physiol*, 1999; **277**: 6702-6708.
48. PATEL T, GORES GJ. Apoptosis and hepatobiliary disease. *Hepatology*, 1995; **21**: 1725-1741.
49. KONDO T, SUDA T, FUKUYAMA H ET AL. Essential roles of the Fas ligand in the development of hepatitis. *Nat Med*, 1997; **3**: 409-413.
50. ZHANG H, COOK J, NICKEL J ET AL. Reduction of liver Fas expression by an antisense oligonucleotide protects mice from fulminant hepatitis. *Nat Biotech*, 2000; **18**: 862-867.
51. BUDIARDJO I, OLIVER H, LUTTER M ET AL. The biochemistry of apoptosis. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1999; **15**: 269-290.
52. HENGARTNER MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature*, 2000; **407**: 770-776.
53. ROUQUET N, PAGES JC, MOLINA T ET AL. ICE inhibitor YVAD-cmR is potent against liver apoptosis *in vivo*. *Curr Biol*, 1996; **6**: 1192-1195.
54. CURSIO R, GUGENHEIM J, EHRLAND RICCI J ET AL. A caspase inhibitor fully protects rats against lethal normothermic liver ischemia by inhibition of liver apoptosis. *Faseb J*, 1999; **13**: 253.
55. JACOBSON MD. Reactive oxygen species and programmed cell death. *Trends Biochem Sci*, 1996; **21**: 83-86.
56. YUAN J, YANKNER BA. Apoptosis in the nervous system. *Nature*, 2000; **407**: 802-809.
57. MARTINOU JC, DUBOIS-DAUPHIN M, STAPLE JK ET AL. Overexpression of Bcl-2 in transgenic mice protects neurons from naturally occurring cell death and experimental ischemia. *Neuron*, 1994; **13**: 1017-1030.
58. MERRY DE, KORSMEYER SJ. Bcl-2 gene family in the nervous system. *Annu Rev Neurosci*, 1997; **20**: 245-267.
59. KUIDA K, HAYDAR TF, KUAN CY ET AL. Decreased apoptosis in the brain and premature lethality in CPP32-deficient mice. *Nature*, 1996; **384**: 368-372.
60. KUIDA K, ZHANG TS, NA S ET AL. Reduced apoptosis and cytochrome *c*-mediated caspase activation in mice lacking caspase9. *Cell*, 1998; **94**: 325-337.
61. NAMURA S, ZHUA J, FINK K ET AL. Activation and cleavage of caspase-3 in apoptosis induced by experimental cerebral ischemia. *J Neurosci*, 1998; **18**: 3659-3668.
62. MARTIN LJ, AL-ABDULLA NA, BRAMBRINK AM ET AL. Neurodegeneration in excitotoxicity, global cerebral ischemia, and target deprivation : a perspective on the contributions of apoptosis and necrosis. *Brain Res Bull*, 1998; **46**: 281-309.
63. RABIZADEH S, GRALLA EB, BORCHELT DR ET AL. Mutations associated with amyotrophic lateral sclerosis convert superoxide dismutase from an antiapoptotic gene to a proapoptotic gene: studies in yeast and neural *cells*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995; **92**: 3024-3028.

64. SAUDOU F, FINKBEINER S, DEVYS D ET AL. Huntingtin acts in the nucleus to induce apoptosis but death does not correlate with the formation of intranuclear inclusions. *Cell*, 1998; **95**: 55-66.
65. SU JH, ANDERSON AJ, CUMMINGS BJ ET AL. Immunohistochemical evidence for apoptosis in Alzheimer's disease. *Neuroreport*, 1994; **5**: 2529-2533.
66. NAKAGAWA T, ZHU H, MORISHIMA N ET AL. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid- β . *Nature*, 2000; **403**: 98-103.
67. SANCHEZ L, XU Cj, KATIZAKA A ET AL. Caspase-8 is required for cell death induced by expanded polyglutamine repeats. *Neuron*, 1999; **22**: 623-633.
68. ONA VO, LI M, VONSATTEL JP ET AL. Inhibition of caspase-1 slows disease progression in a mouse model of Huntington's disease. *Nature*, 1999; **399**: 204-205,207.
69. ROSEN DR, SIDDIQUE T, PATTERSON D ET AL. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature*, 1993; **362**: 59-62.
70. CLEVELAND DW. From Charcot to SOD1: mechanisms of selective motor neuron death in ALS. *Neuron*, 1999; **24**: 514-520.
71. KOSTIC V, JACKSON-LEWIS V, DE BILBAO F ET AL. Bcl-2 : prolonging life in a transgenic mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science*, 1997; **277**: 559-562.
72. PASINELLI P, BORCHELT DR, HOUSEWEART MK ET AL. Caspase-1 in activated in neuron cells and tissue with amyotrophic lateral sclerosis-associated mutations in copper-zinc superoxide dismutase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998; **95**: 15763-15768.
73. FRIEDLANDER RM, BROWN RH, GAGLIARDINI V ET AL. Inhibition of ICE slows ALS in mice. *Nature*, 1997; **388**: 31.
74. LI M, ONA V, GUEGAN C, CHEN M. Functional role of caspase-1 and caspase-3 in an ALS transgenic mouse model. *Science*, 2000; **288**: 335-339.
75. FLISS H, GATTINGER D. Apoptosis in ischemic and reperfused rat myocardium. *Cir Res*, 1996; **79**: 949-956.
76. WEBSTER KA, DISCHER DJ, KAISER S ET AL. Hypoxia-activated apoptosis of cardiac myocytes requires reoxygenation or a pH shift and is independent of p53. *J Clin Invest*, 1999; **104**: 239-252.
77. YAOITA H, OGAWA K, MACHARA K ET AL. Attenuation of ischemia/reperfusion injury in rats by a caspase inhibitor. *Circulation*, 1998; **97**: 276-281.
78. MOCANU MM, BAXTER GF, YELLON DM. Caspase inhibition and limitation of myocardial infarct size: protection against lethal reperfusion injury. *Br J Pharmacol*, 2000; **130**: 196-200.
79. BROCHERIOU V, HAGÈGE AA, OUBENAÏSSA A ET AL. Cardiac functional improvement by a human Bcl-2 transgene in a mouse model of ischemia/reperfusion injury. *J Gene Med*, 2000; **2**: 326-333.
80. SAVIL J, MOONEY A, HUGHES J. What role does apoptosis play in progression of renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypert*, 1996; **5**: 369-374.
81. SAVIL J. Regulation of glomerular cell number by apoptosis. *Kidney Int*, 1999; **56**: 1216-1222.
82. LIEBERTHAL W, KOH JS, LEVINE JS. Necrosis and apoptosis in acute renal failure. *Semin Nephrol*, 1998; **18**: 505-518.
83. CHEVALIER RL. Growth factors and apoptosis in neonatal ureteral obstruction. *J Am Soc Nephrol*, 1996; **7**: 1098-1105.
84. THOMAS GL, YANG B, WAGNER BE ET AL. Cellular apoptosis and proliferation in experimental renal fibrosis. *Nephrol Dial Transplant*, 1998; **13**: 2216-22.
85. THOMAS SE, ANDOH TF, PICHLER RH ET AL. Accelerated apoptosis characterizes cyclosporin-associated interstitial fibrosis. *Kidney Int*, 1998; **53**: 897-908.
86. MURCIA NS, SWEENEY WE, AVNER ED. New insights into molecular pathophysiology of polycystic kidney disease. *Kidney Int*, 1999; **55**: 1187-1197.
87. ORTIZ A. Apoptotic regulatory proteins in renal injury. *Kidney Int*, 2000; **58**: 467-485.
88. ORTIZ A, LORZ C, EGIDO J. The Fas ligand/Fas system in renal injury. *Nephrol Dial Transplant*, 1999; 1831-1834.
89. O'REILLY LA, HUANG TC, STRASSER A. The cell death inhibitor bcl-2 and its homologues influence control of cell cycle entry. *EMBO*, 1996; **15**: 6979-6990.
90. SWENSON KM, KE B, WANG T. Fas ligand gene transfer to renal allograft in rats: effect on allograft survival. *Transplantation*, 1998; **65**: 155-160.

91. IMURA O, VRTOVSNIK F, TERZI F ET AL. HMG-CoA reductase inhibitors induce apoptosis in mouse tubular cells in primary culture. *Kidney Int*, 1997; **52**: 962-972.
92. MIGNON A, GUIDOTTI JE, MITCHELL C ET AL. Selective repopulation of normal mouse liver by Fas/CD95-resistant hepatocytes. *Nat Med*, 1998; **4**: 1185-1188.
93. GUIDOTTI JE, MALLET VO, MITCHELL C ET AL. Selection of in vivo retrovirally transduced hepatocytes leads to efficient and predictable mouse liver repopulation. *FASEB J*, 2001, (*in press*).
94. MITCHELL C, MIGNON A, GUIDOTTI JE ET AL. Therapeutic liver repopulation in a mouse model of hypercholesterolemia. *Hum Mol Genet*, 2000; **9**: 1597-1602.
95. LEMAIRE C, ANDREAU K, SOUVANNAVONG V ET AL. Inhibition of caspase activity induces a switch from apoptosis to necrosis. *FEBS Lett*, 1998; **27**: **425** (2) : 266-70.
96. VERCAMMEN D, BEYAERT R, DENECKER G ET AL. Inhibition of caspases increases the sensitivity of L929 cells to necrosis mediated by Tumour Necrosis Factor. *J Exp Med*, 1998; **187**: 1477-85.