



Chaperons moléculaires et repliement des protéines

L'exemple de certaines protéines de choc thermique

Heat shock proteins as molecular chaperones

André-Patrick Arrigo

Volume 21, numéro 6-7, juin-juillet 2005

Repliement des protéines

URI : <https://id.erudit.org/iderudit/011194ar>

[Aller au sommaire du numéro](#)

Éditeur(s)

SRMS: Société de la revue médecine/sciences
Éditions EDK

ISSN

0767-0974 (imprimé)
1958-5381 (numérique)

[Découvrir la revue](#)

Citer cet article

Arrigo, A.-P. (2005). Chaperons moléculaires et repliement des protéines : l'exemple de certaines protéines de choc thermique. *M/S : médecine sciences*, 21(6-7), 619-625.

Résumé de l'article

Des conditions ou agents déstabilisant l'environnement cellulaire altèrent souvent le repliement des protéines. Suivant son intensité, ce phénomène peut induire une agrégation irréversible des protéines et entraîner la mort des cellules. Un mécanisme cellulaire de défense contre cette atteinte à l'intégrité des protéines existe, qui est conservé au cours de l'évolution. En effet, la cellule réagit aux stress altérant le repliement des protéines en activant l'expression d'un petit nombre de gènes codant pour des protéines spécialisées, les Hsp (*heat shock proteins*). Certaines de ces protéines ont des activités de chaperons moléculaires aidant au repliement des polypeptides ayant une structure altérée. Mais la cellule contient également des homologues de Hsp constitutifs, non induits par un stress, qui participent au contrôle de qualité des protéines. Ces Hsp constitutives sont impliquées dans le repliement des protéines après leur synthèse, dans l'assemblage de structures multiprotéiques dans le réticulum endoplasmique, dans le dépliement des polypeptides lors de leur passage à travers les membranes ou dans le masquage de certaines mutations altérant le repliement des protéines. Les pathologies neurodégénératives et cancéreuses sont données en exemple pour souligner le fait qu'une concentration élevée en Hsp peut, selon la maladie concernée, être bénéfique ou délétère pour la cellule.

> Des conditions ou agents déstabilisant l'environnement cellulaire altèrent souvent le repliement des protéines. Suivant son intensité, ce phénomène peut induire une agrégation irréversible des protéines et entraîner la mort des cellules. Un mécanisme cellulaire de défense contre cette atteinte à l'intégrité des protéines existe, qui est conservé au cours de l'évolution. En effet, la cellule réagit aux stress altérant le repliement des protéines en activant l'expression d'un petit nombre de gènes codant pour des protéines spécialisées, les Hsp (*heat shock proteins*). Certaines de ces protéines ont des activités de chaperons moléculaires aidant au repliement des polypeptides ayant une structure altérée. Mais la cellule contient également des homologues de Hsp constitutifs, non induits par un stress, qui participent au contrôle de qualité des protéines. Ces Hsp constitutives sont impliquées dans le repliement des protéines après leur synthèse, dans l'assemblage de structures multiprotéiques dans le réticulum endoplasmique, dans le dépliement des polypeptides lors de leur passage à travers les membranes ou dans le masquage de certaines mutations altérant le repliement des protéines. Les pathologies neurodégénératives et cancéreuses sont données en exemple pour souligner le fait qu'une concentration élevée en Hsp peut, selon la maladie concernée, être bénéfique ou délétère pour la cellule. <

Stress cellulaire et protéines de choc thermique

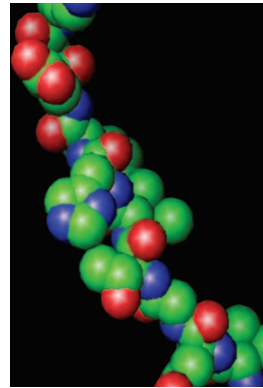
L'exposition à des stress sublétaux, physiques (température élevée, choc osmotique ou de pH, rayonnement UV) ou physiologiques (ischémie-reperfusion, carence nutritive, infections virales, blessures, fièvre élevée), induit une modification de l'expression génique, ubi-

Article reçu le 16 février 2005, accepté le 18 avril 2005.

Chaperons moléculaires et repliement des protéines

L'exemple de certaines protéines de choc thermique

André-Patrick Arrigo



quiste chez les organismes vivants, connue sous le nom réponse de choc thermique (*heat shock response*) ou de stress. Un phénomène semblable peut être induit par des agents chimiques n'ayant, à première vue, aucun dénominateur commun : métaux de transition, analogues d'acides aminés, inhibiteurs de l'expression génique, alcool, pesticides organophosphorés, agents oxydants, chélatants (salicylate, hydroxyquinoline), sulfhydryles (iodoacétamide, diamide), téra-togènes (coumarine, pentobarbiturique) ou altérant le métabolisme énergétique (arsénite de sodium, azide, ménadione), ainsi que beaucoup d'autres composés organiques ou inorganiques.

La réponse de choc thermique, découverte en 1964 chez des drosophiles exposées à une température sublétale [1], est caractérisée par la transcription préférentielle d'un petit nombre de gènes codant pour des protéines spécifiques, les Hsp (*heat shock proteins*, ou protéines de choc thermique), également dénommées protéines de stress. Chez l'humain, les Hsp majeures ont des masses moléculaires de 90, 70, 60, 40 et 27 kDa et sont dénommées Hsp90, Hsp70, Hsp60... Les gènes eucaryotes codant pour les Hsp possèdent un promoteur

Laboratoire stress oxydant, chaperons et apoptose, Centre de Génétique Moléculaire et Cellulaire, CNRS UMR 5534, Université Claude Bernard Lyon-1, 43, boulevard du 11 Novembre, 69622 Villeurbanne Cedex, France.
arrigo@univ-lyon1.fr



particulier, HSE (*heat shock element*), contenant au moins trois motifs nGAAn en répétition inversée [2]. Les différents agents ou conditions induisant la réponse au stress agissent sur le facteur de transcription HSF-1 (*heat shock transcription factor-1*), présent et inactif dans le cytoplasme. Après une étape de phosphorylation et de trimérisation, HSF-1 migre dans le noyau, se lie aux sites HSE sur l'ADN et active la transcription des gènes codant pour les Hsp (Figure 1).

La grande diversité des inducteurs de la réponse au stress peut s'expliquer par le fait qu'ils agissent en déstabilisant le repliement des protéines ou en détruisant des structures protéiques déjà établies. Une observation clé dans ce domaine a été celle de la néosynthèse des Hsp lors de la microinjection de protéines dénaturées dans les cellules [3] ou de l'exposition des cellules à des analogues d'acides aminés. Il est probable que HSF-1 est activé par la présence de protéines ayant un mauvais repliement [4] (Figure 1).

Des conditions cellulaires anormales peuvent déstabiliser le repliement des protéines cytosoliques. Les protéines présentent alors à leur surface des zones hydrophobes qui, dans des conditions physiologiques normales, sont enfouies au sein de la macromolécule (état de conformation du

type globule fondu, *molten globule*). Ces zones hydrophobes peuvent interagir entre elles et produire des agrégats résistants à la protéolyse (état lipofuscine), qui sont le plus souvent délétères pour la cellule. En cas de stress, les dommages aux protéines dépendent de son intensité et peuvent être réversibles si les possibilités de réparation de la cellule le permettent.

Concept de chaperons moléculaires

Les observations montrant une dénaturation des protéines au cours d'un choc thermique et leur renaturation après le stress (si celui-ci est subléthal) ont joué un rôle prépondérant dans l'établissement du concept de chaperons moléculaires. En effet, en 1989, Ellis *et al.* [5] ont proposé que les chaperons moléculaires formaient une famille de protéines (incluant les Hsp et différentes sous-familles comme les nucléoplasmiques ou serpines, par exemple) ayant pour rôle d'aider au repliement et à l'assemblage de polypeptides dans des structures oligomériques, et de prévenir la formation de structures protéiques incorrectes résultant de l'exposition transitoire de surfaces protéiques hydrophobes ou chargées normalement impliquées dans des interactions entre chaînes polypeptiques. De tels phénomènes existeraient durant et à la suite d'un stress de chaleur, ou dans des conditions physiologiques telles que la synthèse des polypeptides et leur transport à travers les membranes, ou les changements structuraux au cours du fonctionnement normal de complexes protéiques. Des études réalisées *in vitro* et *in vivo* ont permis de vérifier l'existence de la famille de protéines à activité chaperon, au sein de laquelle les Hsp occupent une place prépondérante [6] (Tableau 1).

La Figure 2A résume les différentes étapes de renaturation des protéines à l'issue d'un choc thermique, impliquant Hsp40, Hsp70 et la participation de polypeptides cochaperons tels que Hip, Hop et Hsp90. On perçoit très bien que la machinerie Hsp40/Hsp70 puisse être facilement saturée lors d'un afflux massif de protéines ayant une conformation aberrante. Afin d'éviter une aggrégation irréversible, l'excès de protéines altérées s'associe aux structures oligomériques de Hsp27, avec une production de réservoirs d'intermédiaires de repliement [7]. L'interaction des globules fondus avec les structures oligomériques de Hsp27 éviterait ainsi leur transformation en agrégats protéiques (lipofuscine) létaux pour la cellule, car résistants à la renaturation par des protéines chaperons ATP-dépendantes (Hsp70, Hsp40, Hsp90 et cochaperons) et à la protéolyse par le système ubiquitine/protéasome. *In vitro*, Hsp27 possède une activité

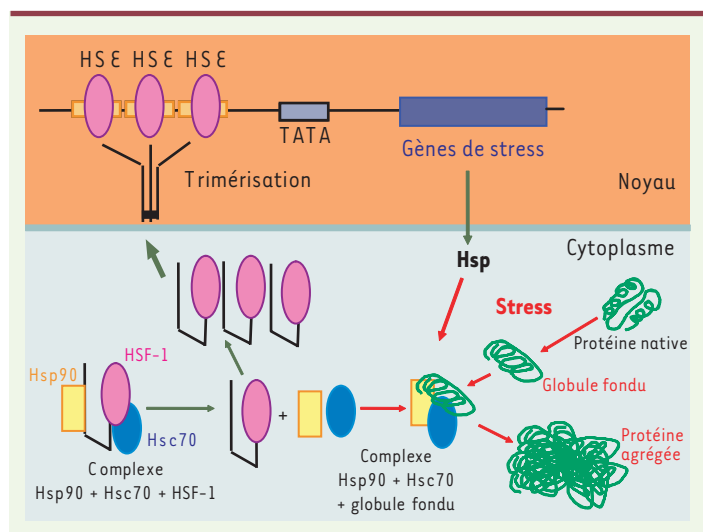


Figure 1. Activation transcriptionnelle des gènes codant pour les Hsp. Les protéines présentent plusieurs états de repliement. Entre la forme native et l'état agrégé, il existe des états intermédiaires comme les structures du type globule fondu (*molten globule*). Dans des conditions de choc thermique, la concentration en globules fondus augmente de manière significative. Les globules fondus sont reconnus par Hsc70 et Hsp90, des protéines chaperons résidentes de la cellule non stressée ; le complexe formé entre Hsp90, Hsc70 et les globules fondus est plus stable que celui que formaient dans la cellule non stressée ces Hsp avec le facteur de transcription HSF-1. Celui-ci est alors modifié (phosphorylation, trimérisation) et migre dans le noyau où il interagit avec les motifs HSE (*heat shock element*) localisés dans les promoteurs des gènes codant pour les Hsp. La grande quantité de Hsp produite permet de replier les globules fondus, et d'agir négativement sur HSF-1 (*heat shock transcription factor-1*) en le maintenant à nouveau inactif dans le cytoplasme, ce qui explique la réversibilité du phénomène.

chaperon intrinsèque, mais qui est ATP-indépendante et beaucoup plus faible que celle de Hsp70.

Couplage chaperons-dégradation des protéines

Lorsque le repliement des protéines est trop difficile, les Hsp stimulent leur protéolyse *via* la protéine CHIP (*carboxy terminus of Hsc70 interacting protein*). Celle-ci agit comme un lien entre Hsp70 et le système de dégradation [8, 9] (Figure 2B) : par son domaine TPR (*tetratricopeptide repeat*), CHIP interagit avec Hsp70 et Hsp90, tandis que son domaine U-box contient une activité ligase E3 de l'ubiquitine. On notera que l'ubiquitine, puisque sa production est stimulée par à un stress thermique, peut être considérée comme une protéine de choc thermique malgré son absence apparente d'activité chaperon de reconformation protéique.

Après leur couplage à l'ubiquitine, les protéines sont dégradées par un complexe protéique porteur d'activités protéolytiques majeures, le protéasome 26S [10-11] (→).

(→) m/s
2005, n° 2,
p. 141

Celui-ci est une protéase latente, activée par la présence de protéines oxydées [12] ou par des complexes protéiques accessoires pouvant s'associer de part et d'autre du protéasome. Le complexe 19S s'associe ainsi au protéasome 20S pour former une structure globale de 26S impliquée dans la dégradation de protéines ayant été ubiquitinylées [9] soit en fin de vie, soit lorsqu'elles ont acquis, lors d'un stress, une conformation aberrante non réparable par les chaperons. En effet, ces protéines sont probablement reconnues par les Hsp, mais, vu l'étendue des dégâts, la machinerie de reconformation « passe la main » au système de couplage de l'ubiquitine *via* la protéine CHIP. Les considérations énergétiques ont sûrement une grande importance lorsque la cellule choisit entre repliement ou dégradation du substrat : il est probablement plus rentable et moins hasardeux pour la cellule de dégrader et resynthétiser une protéine très endommagée plutôt que d'essayer de la replier au prix d'une consommation très élevée d'ATP.

L'inhibition des activités du protéasome par des substances spécifiques (type lactacystine) induit une agrégation et une oxydation des protéines cellulaires non dégradées [13]. Ces agrégats sont constitués de protéines en fin de vie qui s'accumulent dans la cellule sous forme ubiquitinylée [14]. L'inhibition du protéasome s'accompagne également de la synthèse de Hsp70, dans un phénomène qui représente probablement une réponse

Chaperons	Fonctions
Hsp90	Protéine constitutivement exprimée dans les cellules. Stimulation de l'expression en conditions de stress Chaperon ATP-dépendant impliqué dans le repliement des protéines Peut agir comme cochaperon de Hsp70 Transport intracellulaire des protéines (exemple : récepteurs nucléaires stéroïdes et glucocorticoïdes) Masquage des mutations
Hsp70	Protéine dont l'expression est induite en conditions de choc thermique Chaperon majeur ATP-dépendant impliqué dans le repliement des protéines après un stress
Hsc70	Protéine de la famille Hsp70, constitutivement exprimée ; son expression n'est pas stimulée par le choc thermique Chaperon ATP-dépendant impliqué dans le repliement des protéines dans la cellule non stressée
Hsp40	Protéine constitutivement exprimée dans les cellules. Stimulation de l'expression en conditions de stress Interagit avec les protéines mal conformées Cochaperon présentant le polypeptide à replier au chaperon Hsc70/Hsp70 (<i>via</i> son domaine J) Stimule l'hydrolyse de l'ATP associé à Hsc70/Hsp70
Hsp27	Protéine souvent constitutivement exprimée, dont l'expression est stimulée en conditions de stress Activité chaperon ATP-indépendante, moins intense que celle de Hsp70 et Hsp90 Forme des structures oligomériques avec des protéines dépliées : inhibition de l'agrégation et présentation à Hsp40 Stimule la dégradation ubiquitine-dépendante de certaines protéines
CHIP	Protéine constitutivement exprimée dans les cellules Liaison à Hsc70/Hsp70 et activité ubiquitine ligase (E3) : dirige les protéines mal repliées vers la voie de dégradation
Hip	Cochaperon stabilisant la forme ADP de Hsc70/Hsp70
Hop	Cochaperon impliqué dans le couplage de Hsc70/Hsp70 avec Hsp90
Bag-1	Cochaperon déstabilisant la forme ATP du complexe Hsc70/Hsp70-substrat

Tableau I. Principales protéines chaperons impliquées dans la réponse cellulaire au choc thermique.

de défense de la cellule pour freiner l'accumulation d'agrégats protéiques ; de fait, l'inhibition de la synthèse de Hsp70 *via* une technique antisens augmente l'intensité de l'apoptose subséquente à l'inhibition du protéasome [15]. L'accumulation progressive de protéines oxydées et agrégées s'observe également au cours du vieillissement [16]. Cette dégénérescence résulte probablement d'un mauvais fonctionnement du système de dégradation des protéines oxydées ou de la machinerie de reformation impliquant les Hsp [17] ; une inhibition graduelle des activités protéolytiques du protéasome a notamment été démontrée au cours du vieillissement des organismes [18], sans que les mécanismes impliqués dans cette altération fonctionnelle n'aient encore pu être élucidés.

Les relations directes entre Hsp et protéasome sont assez complexes et encore peu connues : Hsp90 semble ainsi inhiber les activités protéolytiques du protéasome 20S, mais également les protéger contre une inhibition par oxydation [19]. Cette dualité de fonctions dépend

en fait de l'état basal d'activation du protéasome 20S, l'inhibition étant liée à l'état latent de la protéase.

Rôle physiologique des Hsp

Protection contre les stress produisant des protéines mal conformées

La manipulation génétique de l'expression des Hsp au sein des cellules a permis de démontrer leur rôle protecteur contre la cytotoxicité induite par différents stress [20]. Ainsi, des souris transgéniques surexprimant Hsp70 ou Hsp27 ont une résistance accrue à différents stress, telle l'ischémie-reperfusion [21]. *In vivo*, il est raisonnable de penser que les Hsp agissent en reconfonnant les protéines dont la structure a été altérée ou en stimulant les voies de dégradation quand

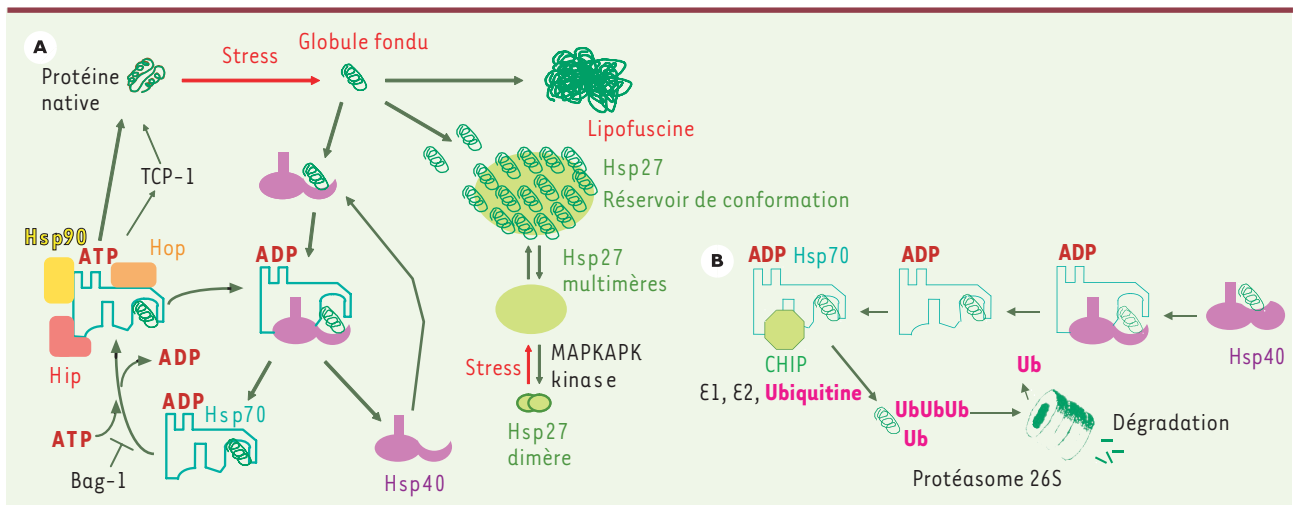


Figure 2. Machine moléculaire de repliement des protéines altérées et son couplage au système ubiquitine/protéasome. **A.** Repliement des protéines altérées au cours d'un stress. Les globules fondus formés au cours d'un stress présentent des zones hydrophobes à leur surface et sont alors reconnus par Hsp40 (équivalent procaryote : Hdj-1) qui, *via* son domaine J, forme un complexe avec la protéine de stress majeure Hsp70 (équivalent procaryote : DnaK). Celle-ci, sous sa forme liant l'ADP, englobe alors la protéine dénaturée dans son domaine peptidique. La renaturation de la protéine substrat par Hsp70 nécessite la participation de polypeptides co-chaperons tels que Hip, Hop et Hsp90. Une activation de la machinerie de repliement *via* le remplacement de l'ADP associé à Hsp70 par l'ATP est nécessaire pour relâcher la protéine substrat. Bag-1 est un co-chaperon déstabilisant la forme ATP du complexe Hsc70/Hsp70-substrat. Enfin, certains polypeptides nécessitent une étape ultérieure de repliement par la protéine eucaryote TCP-1 ring complex (également dénommée TRiC, ou CCT). Celle-ci appartient à un groupe de protéines chaperons ayant une structure commune, les chaperonines : par exemple, Hsp60/Hsp10 (dont l'analogue procaryote est GroEL/GroES) est un analogue de TCP-1 retrouvé dans la mitochondrie (voir Figure 4). Dans des conditions où le système est saturé par un afflux massif de protéines à replier, un stockage transitoire des globules fondus est effectué par des structures oligomériques formées par les Hsp de bas poids moléculaire (type Hsp27) : ces réservoirs d'intermédiaires de repliement dirigeront ensuite les protéines substrats vers les différentes étapes de la machinerie de repliement. Les Hsp de bas poids moléculaires sont également caractérisées par leur très grande résistance à la dénaturation, afin de rester le plus possible efficace au cours d'un stress. MAPKAPK2 : *mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2*. **B.** Couplage du repliement et de la voie de dégradation des protéines ubiquitine-protéasome. Dans certaines conditions, les atteintes conformationnelles des protéines sont très graves et la cellule peut décider, *via* la protéine CHIP (*carboxy terminus of Hsc70 interacting protein*), de diriger les protéines difficiles à replier vers un couplage à l'ubiquitine et une dégradation par le protéasome 26S. Dans le cas des protéines irréversiblement oxydées (qui forment aussi des structures de type globule fondu), la dégradation se ferait plutôt *via* le protéasome 20S sans couplage préalable à l'ubiquitine. En effet, le protéasome 20S semble être plus résistant que son homologue 26S à une dénaturation fonctionnelle induite par une oxydation.

les dommages sont trop importants [6]. En d'autres termes, les Hsp « nettoient » la cellule de toutes les protéines mal conformées, ou aberrantes, produites par un stress. Il est important de préciser qu'un taux élevé de Hsp au sein de la cellule n'est pas restreint à la période de stress proprement dite, mais peut durer plusieurs heures ou jours après le stress (période de récupération après le stress), produisant ainsi un état transitoire de tolérance au stress (exemple de la thermotolérance dans le cas d'un choc thermique).

Des homologues constitutifs des Hsp agissent dans la cellule non stressée

La protéine Hsp70 appartient à une famille dont certains membres, telle Hsc70, sont constitutivement exprimés et non induits par le stress. Ces Hsp constitutives sont impliquées dans l'homéostasie cellulaire et agissent également comme chaperons de reformation protéique. D'un point de vue physicochimique, Hsp70 et Hsc70 agissent de manière identique : elles ont donc une fonction unique, même si leur cibles sont différentes *in vivo*. Par exemple, certains homologues de Hsp70 activent la dissociation de complexes protéiques en présence d'ATP lors de leur passage à travers les membranes ou agissent, comme l'homologue BiP (ou Grp72), lors de leur maturation dans le réticulum endoplasmique [22]. De plus, au cours de la biosynthèse des complexes protéiques, des homologues tels que Hsc70 se lieraient aux polypeptides naissants afin de prévenir leur repliement tant que les interactions spécifiques avec les autres macromolécules ne sont pas réalisées [23]. En effet, les polypeptides nouvellement synthétisés sortant des ribosomes sont extrêmement sensibles et très facilement altérés dans leur repliement.

La protéine Hsp90 est, quant à elle, caractérisée par un niveau d'expression élevé dans la cellule non stressée, suggérant son implication dans de nombreux processus indépendants de son activité de repliement après à un stress. En effet, Hsp90 est impliquée dans le transport cytoplasmique de précurseurs protéiques ou de récepteurs hormonaux ainsi que dans certains aspects de la transduction des signaux [24]. Par ailleurs, un analogue de Hsp90, Grp94 (ou endoplasmine), agit de concert avec BiP dans le réticulum endoplasmique. Hsp90 joue également un rôle fondamental en redonnant un repliement normal (et un phénotype sauvage) à de nombreuses protéines mutées [25] : cette activité particulière de Hsp90 permet le masquage de nombreuses mutations (Figure 3). Celles-ci peuvent toutefois devenir effectives si Hsp90 est non fonctionnelle, par exemple en cas d'inhibition par la geldanamycine, ou lorsque la cellule est exposée à un stress : dans ces con-

ditions, il est en effet probable que la fraction de Hsp90 constitutivement exprimée s'associe aux Hsp nouvellement synthétisés afin de lutter contre l'accumulation de protéines mal conformées, et certaines mutations sont alors démasquées.

Les chaperonines Hsp60 et Hsp10 sont également caractérisées par un niveau élevé d'expression dans la cellule non stressée. Localisées dans la mitochondrie sous forme d'un complexe, ces protéines sont impliquées dans le transport des protéines mitochondriales codées par le noyau et synthétisées dans le cytoplasme. Le transport dans la mitochondrie fait intervenir un homologue constitutif de Hsp70 (Hsc70) qui a pour but de déplier et de rendre linéaires les polypeptides en question afin qu'ils puissent pénétrer dans cet organe. À l'intérieur de la mitochondrie, le repliement des protéines est sous le contrôle d'un homologue mitochondrial et constitutivement exprimé de Hsp70 (Hsp70m) et du complexe Hsp60/Hsp10 [26] (Figure 4).

La protéine Hsp27 et d'autres membres de la famille des Hsp de bas poids moléculaire ont la particularité d'être exprimés (en l'absence de stress) au cours du développement des organismes, ainsi qu'au cours des événements précoces de différenciation cellulaire [27]. Ces Hsp participeraient à la protection des organismes en développement contre un hypothétique stress, et semblent nécessaires à la protection de la cellule contre une mort apoptotique lors de la transition mitose-état différencié [28].

En effet, les Hsp peuvent agir comme modulateurs de la machinerie apoptotique [29] : ainsi, Hsp27 agit négativement sur l'apoptose en interagissant avec le cytochrome c une fois cet agent apoptogène sorti des mitochondries ; cette interaction empêcherait la formation

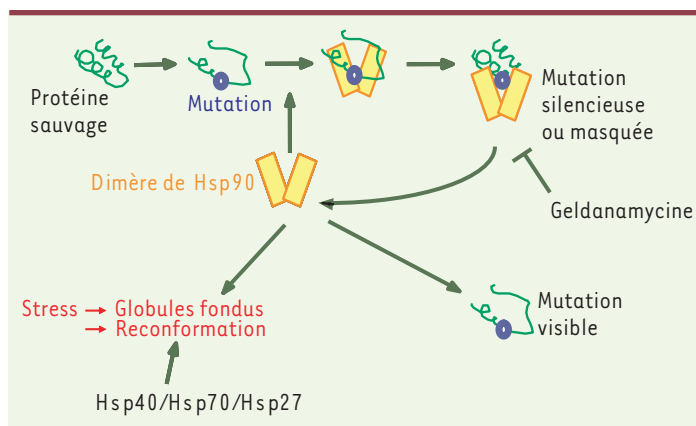


Figure 3. La protéine Hsp90 comme masqueur de mutation. Certaines mutations altèrent la fonction des protéines en déstabilisant leur repliement. La protéine Hsp90 exprimée constitutivement reconnaît ces protéines mutées et peut les replier et restaurer transitoirement leur fonction : ces mutations sont donc masquées et deviennent silencieuses. Chez la drosophile, un traitement par la geldanamycine (inhibiteur de Hsp90) ainsi que l'invalidation hétérozygote Hsp90^{-/-} induisent l'apparition d'un grand nombre de phénotypes mutés. En condition de stress, Hsp90 participe au travail de repliement des protéines altérées et peut relâcher son efficacité au niveau du masquage des mutations.

du complexe apoptosome responsable de l'activation des caspases [30]. Une deuxième activité est située en amont de la mitochondrie et bloque certains des sentiers de transduction qui convergent vers la protéine Bid [31]. Les protéines Hsp70 et Hsp90 agiraient également au niveau de l'apoptosome, ou interfèreraient avec le facteur AIF (*apoptosis inducing factor*). Hsp60 et Hsp10, relâchées simultanément de la mitochondrie avec le cytochrome c, auraient une activité proapoptotique stimulant la conversion procaspase 3 en caspase 3 active. Toutefois, on ne sait pas encore si ces activités sont ou non associées aux fonctions de chaperons moléculaires des Hsp telles qu'elles ont été définies ci-dessus.

Protéines Hsp et maladies : des rôles protecteurs, mais aussi délétères

Rôle protecteur des Hsp : exemple des maladies neurodégénératives

La plupart des maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson, Huntington...) sont caractérisées par des dépôts intra- ou extracellulaires de protéines agrégées. Cette caractéristique cytopathologique résulte d'une déficience de dégradation d'une protéine neuronale dont la structure est devenue anormale, en général après une mutation. Cet état de fait induit l'accumulation de la protéine concernée, souvent sous une forme ubiquitinylée, oxydée [32] et agrégée [33]. L'altération des activités protéolytiques du protéasome est probablement une conséquence de sa difficulté à digérer les protéines responsables des pathologies [34]. Ainsi, le protéasome est incapable de dégrader les séquences répétées de glutamine qui caractérisent la mutation dans

l'exon 1 du polypeptide huntingtine responsable de la chorée de Huntington [35]. Des expériences effectuées dans des systèmes cellulaires génétiquement modifiés, exprimant des protéines pathologiques, ont clairement montré, en particulier dans le cas de la huntingtine, que l'expression des Hsp diminuait la taille des agrégats protéiques [36, 37]. Ces agrégats sont-ils pathologiques, ou sont-ils une conséquence bénigne d'une lésion protéique elle-même pathologique ? Cette question est au centre des recherches actuelles. Une étude récente propose que les agrégats de huntingtine reflèterait une réaction de défense de la cellule visant à éliminer cette protéine pathologique par un processus d'autophagie [38]. En effet, l'agrégation a lieu dans le cytosol ou le noyau (sous le contrôle négatif des chaperons), mais n'est pas observée si la huntingtine s'accumule dans le réticulum endoplasmique. Il est de ce fait possible que la maladie de Huntington soit une conséquence du manque d'efficacité du processus d'autophagie des agrégats de huntingtine mutée, entraînant ainsi la mort des neurones.

Activité délétère des Hsp dans certains cas de pathologies cancéreuses

Certaines Hsp telles que Hsp70, Hsp90 et Hsp27 sont constitutivement exprimées et particulièrement abondantes dans de nombreuses cellules cancéreuses (cancinomes du sein et du côlon, notamment) et, *via* leur activité chaperon impliquée dans le repliement des protéines, interfèrent avec l'activité cytotoxique de nombreuses substances anticancéreuses. De plus, la présence des Hsp favorise l'agressivité tumorale (tumorigenèse) ainsi que la formation de métastases. Ces Hsp font partie des protéines de survie (*cancer survival family of proteins*, incluant aussi Bcl2, la survivine et d'autres protéines) [39], définies comme ayant une expression accrue dans certaines cellules cancéreuses afin d'accroître leur résistance à l'apoptose et faciliter leur capacité à échapper à la surveillance immune. Des efforts sont actuellement entrepris afin de développer des thérapies visant à détruire l'activité chaperon des Hsp, tout en prenant garde de ne pas favoriser une autre maladie masquée ou freinée par cette activité (neurodégénération ou masquage des mutations). Dans ce contexte, la geldanamycine (substance inhibant l'activité chaperon de Hsp90) est actuellement en phase de tests cliniques [40].

Conclusions et perspectives

Les Hsp suscitent actuellement un grand intérêt : toutefois, si l'étude de leur activité chaperon est fascinante, de nombreuses années de recherche seront encore nécessaires

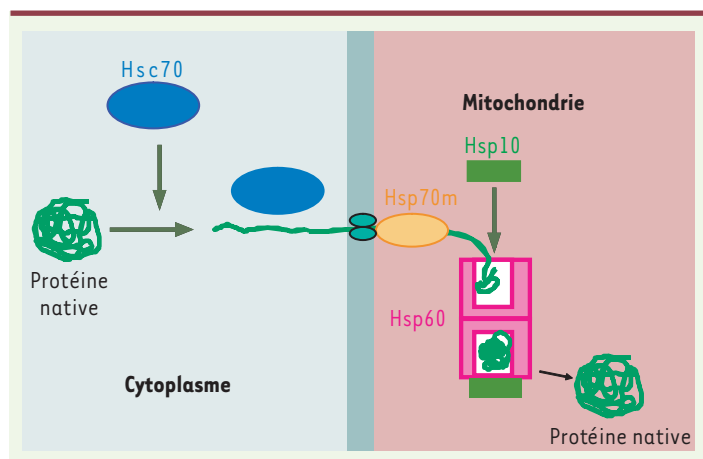


Figure 4. Machinerie chaperon impliquée dans le transport des polypeptides à travers la membrane des mitochondries. Certaines protéines mitochondriales (ou du chloroplaste chez les plantes) sont codées par des gènes nucléaires et, *via* un peptide signal, sont adressées vers l'organite concerné. La protéine synthétisée dans le cytoplasme est transportée vers l'organite grâce à un système transporteur complexe (non décrit dans la figure) puis, afin de pouvoir y pénétrer, est dépliée par Hsc70. À l'intérieur de l'organite, Hsp70m (un homologue constitutif mitochondrial de Hsp70) prépare le repliement, qui est ensuite réalisé par un complexe formé de deux polypeptides Hsp60 (en organisation tête-bêche), Hsp10 servant de couvercle à la machine de repliement Hsp60.



afin d'élucider dans le détail les mécanismes moléculaires impliqués. On peut également constater que le nombre de publications décrivant une expression spécifique des Hsp dans les maladies humaines a, récemment, augmenté de manière pratiquement exponentielle. Cet intérêt pour les Hsp est lié aux caractéristiques de ces protéines : protection de la cellule contre une variété de conditions pathologiques ou agents cytotoxiques, expression souvent corrélée avec l'agressivité des tumeurs, interférence avec les médiateurs inflammatoires et apoptotiques et surveillance immunitaire souvent moins efficace. Il est donc impératif d'améliorer nos connaissances afin de mieux comprendre le rôle des Hsp dans les différentes maladies humaines. Le défi pour les prochaines années sera de découvrir des traitements efficaces permettant de contrôler, chez le patient, l'expression ou la fonction de ces cibles thérapeutiques majeures impliquées dans le repliement des protéines. ♦

SUMMARY

Heat shock proteins as molecular chaperones

Exposure to different conditions or agents that destabilize cell homeostasis often alters protein folding. Depending on stress intensity irreversible protein aggregation and cell death can occur. Cells have developed a conserved defense mechanism aimed at reducing the deleterious effects induced by protein folding alteration. This mechanism is characterized by the expression of a small number of genes encoding specific proteins, named Hsps. Several of these proteins act as molecular chaperones through their ability to refold polypeptides with an altered conformation. Moreover, constitutive Hsps homologues have been characterized that participate in the folding of newly made polypeptides, in the assembly of protein complexes in the endoplasmic reticulum, in the translocation of polypeptides through membranes or in masking mutations that alter protein folding. Neurodegenerative and cancerous diseases are discussed as examples where high levels of Hsp expression can be either beneficial or deleterious to the cells. ♦

RÉFÉRENCES

- Ritossa FM. Experimental activation of specific loci in polytene chromosomes of *Drosophila*. *Exp Cell Res* 1964 ; 35 : 601-7.
- Schiller P, Amin J, Ananthan J, et al. Cis-acting elements involved in the regulated expression of a human HSP70 gene. *J Mol Biol* 1988 ; 203 : 97-105.
- Ananthan J, Goldberg AL, Voellmy R. Abnormal proteins serve as eukaryotic stress signals and trigger the activation of heat shock genes. *Science* 1986 ; 232 : 522-4.
- Morimoto RI. Regulation of the heat shock transcriptional response: cross-talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators. *Genes Dev* 1998 ; 12 : 3788-96.
- Ellis RJ, Van der Vies SM, Hemmingsen SM. The molecular chaperone concept. *Biochem Soc Symp* 1989 ; 55 : 145-53.
- Young JC, Agashe VR, Siegers K, Hartl FU. Pathways of chaperone-mediated protein folding in the cytosol. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004 ; 5 : 781-91.
- Ehrnsperger M, Lillie H, Gaestel M, Buchner J. The dynamics of hsp25 quaternary structure. Structure and function of different oligomeric species. *J Biol Chem* 1999 ; 274 : 14867-74.
- McDonough H, Patterson C. CHIP: a link between the chaperone and proteasome systems. *Cell Stress Chaperones* 2003 ; 8 : 303-8.
- Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway. *Cell* 1994 ; 79 : 13-21.
- Arrigo AP, Tanaka K, Goldberg AL, Welch WJ. Identity of the 19S 'prosome' particle with the large multifunctional protease complex of mammalian cells (the proteasome). *Nature* 1988 ; 331 : 192-4.
- Peters JM. Proteasomes: protein degradation machines of the cell. *Trends Biochem Sci* 1994 ; 19 : 377-82.
- Davies KJ. Degradation of oxidized proteins by the 20S proteasome. *Biochimie* 2001 ; 83 : 301-10.
- Demasi M, Davies KJ. Proteasome inhibitors induce intracellular protein aggregation and cell death by an oxygen-dependent mechanism. *FEBS Lett* 2003 ; 542 : 89-94.
- Lee MH, Hyun DH, Jenner P, Halliwell B. Effect of proteasome inhibition on cellular oxidative damage, antioxidant defences and nitric oxide production. *J Neurochem* 2001 ; 78 : 32-41.
- Robertson JD, Datta K, Biswal SS, Kehrer JP. Heat-shock protein 70 antisense oligomers enhance proteasome inhibitor-induced apoptosis. *Biochem J* 1999 ; 344 : 477-85.
- Agarwal S, Sohal RS. Aging and protein oxidative damage. *Mech Ageing Dev* 1994 ; 75 : 11-9.
- Grune T, Shringarpure R, Sitte N, Davies K. Age-related changes in protein oxidation and proteolysis in mammalian cells. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2001 ; 56 : B459-67.
- Carrard G, Bulteau A, Petropoulos I, Friguet B. Impairment of proteasome structure and function in aging. *Int J Biochem Cell Biol* 2002 ; 34 : 1461-70.
- Conconi M, Petropoulos I, Emod I, et al. Protection from oxidative inactivation of the 20S proteasome by heat-shock protein 90. *Biochem J* 1998 ; 333 : 407-15.
- De Maio, A. Heat shock proteins: facts, thoughts, and dreams. *Shock* 1999 ; 11 : 1-12.
- Mestrlil R. The use of transgenic mice to study cytoprotection by the stress proteins. *Methods* 2005 ; 35 : 165-9.
- Deshaias RJ, Koch BD, Schekman R. The role of stress proteins in membrane biogenesis. *Trends Biochem Sci* 1988 ; 13 : 384-8.
- Beckmann RP, Mizzen LE, Welch WJ. Interaction of Hsp70 with newly synthesized proteins: implications for protein folding and assembly. *Science* 1990 ; 248 : 850-4.
- Picard D. Heat-shock protein 90, a chaperone for folding and regulation. *Cell Mol Life Sci* 2002 ; 59 : 1640-8.
- Rutherford SL, Lindquist S. Hsp90 as a capacitor for morphological evolution. *Nature* 1998 ; 396 : 336-42.
- Bukau B, Horwich AL. The Hsp70 and Hsp60 chaperone machines. *Cell* 1998 ; 92 : 351-66.
- Arrigo AP. In search of the molecular mechanism by which small stress proteins counteract apoptosis during cellular differentiation. *J Cell Biochem* 2005 ; 94 : 241-6.
- Mehlen P, Mehlen A, Godet J, Arrigo AP. Hsp27 as a switch between differentiation and apoptosis in murine embryonic stem cells. *J Biol Chem* 1997 ; 272 : 31657-65.
- Mehlen P, Schulze-Osthoff K, Arrigo AP. Small stress proteins as novel regulators of apoptosis. Heat shock protein 27 blocks Fas/APO-1- and staurosporine-induced cell death. *J Biol Chem* 1996 ; 271 : 16510-4.
- Bruey JM, Ducasse C, Bonniaud P, et al. Hsp27 negatively regulates cell death by interacting with cytochrome c. *Nat Cell Biol* 2000 ; 2 : 645-52.
- Paul C, Manero F, Gonin S, et al. Hsp27 as a negative regulator of cytochrome c release. *Mol Cell Biol* 2002 ; 22 : 816-34.
- Halliwell B. Hypothesis. Proteasomal dysfunction: a primary event in neurodegeneration that leads to nitrate and oxidative stress and subsequent cell death. *Ann NY Acad Sci* 2002 ; 962 : 182-94.
- Bates G. Huntingtin aggregation and toxicity in Huntington's disease. *Lancet* 2003 ; 361 : 1642-4.
- Biasini E, Fioriti L, Ceglia I, et al. Proteasome inhibition and aggregation in Parkinson's disease: a comparative study in untransfected and transfected cells. *J Neurochem* 2004 ; 88 : 545-53.
- Venkatraman R, Wetzel P, Tanaka M, et al. Eukaryotic proteasomes cannot digest polyglutamine sequences and release them during degradation of polyglutamine-containing proteins. *Mol Cell* 2004 ; 14 : 95-104.
- Wytenbach A. Role of heat shock proteins during polyglutamine neurodegeneration: mechanisms and hypothesis. *J Mol Neurosci* 2004 ; 23 : 69-96.
- Wytenbach A, Sauvageot O, Carmichael J, et al. Heat shock protein 27 prevents cellular polyglutamine toxicity and suppresses the increase of reactive oxygen species caused by huntingtin. *Hum Mol Genet* 2002 ; 11 : 1137-51.
- Ravikumar B, Vacher C, Berger Z, et al. Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease. *Nat Genet* 2004 ; 36 : 585-95.
- Jaattela M. Escaping cell death: survival proteins in cancer. *Exp Cell Res* 1999 ; 248 : 30-43.
- Chiosis G, Vilenchik M, Kim J, Solit D. Hsp90: the vulnerable chaperone. *Drug Discov Today* 2004 ; 9 : 881-8.

TIRÉS À PART

A. P. Arrigo