

## FoxO Stress ou vie éternelle

Zuzana Tothova, Thomas Mercher

Z. Tothova : Harvard Medical School,  
Boston MA 02115, États-Unis

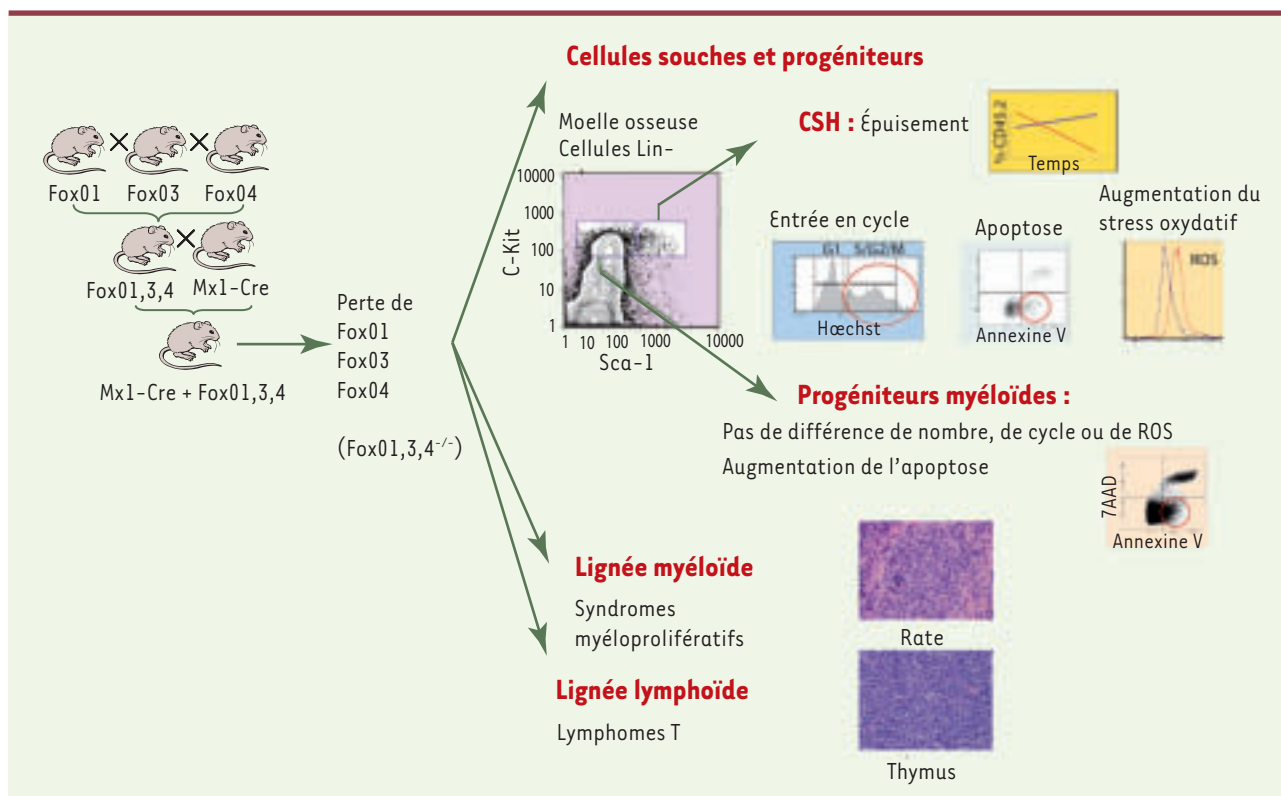
T. Mercher : Harvard Medical School,  
Boston MA 02115, États-Unis.

Karp research building, 1 Blackfan Circle,  
Room 5007B, Boston MA 02115, États-Unis  
[tmercher@rics.bwh.harvard.edu](mailto:tmercher@rics.bwh.harvard.edu)

La voie de signalisation PI3K/AKT, activée en réponse à l'insuline ou aux facteurs de croissance, permet la régulation de nombreux mécanismes cellulaires physiologiques comme la survie, la prolifération, le métabolisme et la réponse à différents stress. Parmi les nombreuses cibles de cette voie, les facteurs de transcription de la famille FoxO (FoxO1, FoxO3, FoxO4, FoxO6) ont été remarquablement conservés au cours de l'évolution (pour revue voir [1]).

En l'absence de stimulation par des facteurs de croissance ou dans des conditions de stress, les facteurs de transcription FoxO se trouvent dans le noyau et entraînent l'expression de gènes impliqués, entre autres, dans l'arrêt du cycle cellulaire et la mort cellulaire (apoptose). En réponse à une stimulation par les facteurs de croissance, la sérine/thréonine kinase AKT phosphoryle directement les facteurs FoxO et entraîne leur exclusion nucléaire et leur dégradation,

permettant la survie et la prolifération cellulaires. L'activation anormale de la voie PI3K/AKT a été observée dans de nombreux cancers chez l'homme. Elle résulte de mutations de facteurs directement impliqués dans la voie PI3K/AKT (PTEN [*phosphatase and tensin homolog*] ou FoxO par exemple), ou de facteurs activant cette voie (exem-



**Figure 1. L'inactivation des facteurs FoxO entraîne des anomalies multiples des cellules hématopoïétiques.** Chez des animaux irradiés transplantés avec des cellules de moelle osseuse sauvage (ligne bleue) ou FoxO1/3/4<sup>-/-</sup> (ligne rouge), le pourcentage de cellules hématopoïétiques FoxO1/3/4<sup>-/-</sup> (exprimant le marqueur CD45.2) diminue avec le temps. Les CSH FoxO1/3/4<sup>-/-</sup> présentent une entrée dans le cycle cellulaire, une mort cellulaire par apoptose et un stress oxydatif plus importants que les CSH sauvages. En dehors de l'augmentation de l'apoptose, ces caractéristiques ne sont pas observées dans les progéniteurs myéloïdes. Les souris FoxO1/3/4<sup>-/-</sup> présentent fréquemment des syndromes myéloprolifératifs de développement rapide, associé à une splénomégalie, et des lymphomes des cellules T qui se développent avec une latence plus longue. Mx1-Cre : recombinaison Cre sous le contrôle du promoteur Mx1. plpC : ARN double brin synthétique activant le promoteur Mx1.

ple : ABL [abelson], FLT3 [récepteur de la cytokine flt3-ligand] ou ALK [*anaplastic lymphoma kinase*]), fréquemment retrouvés dans les leucémies.

### FoxO est nécessaire à la fonction des cellules souches hématopoïétiques

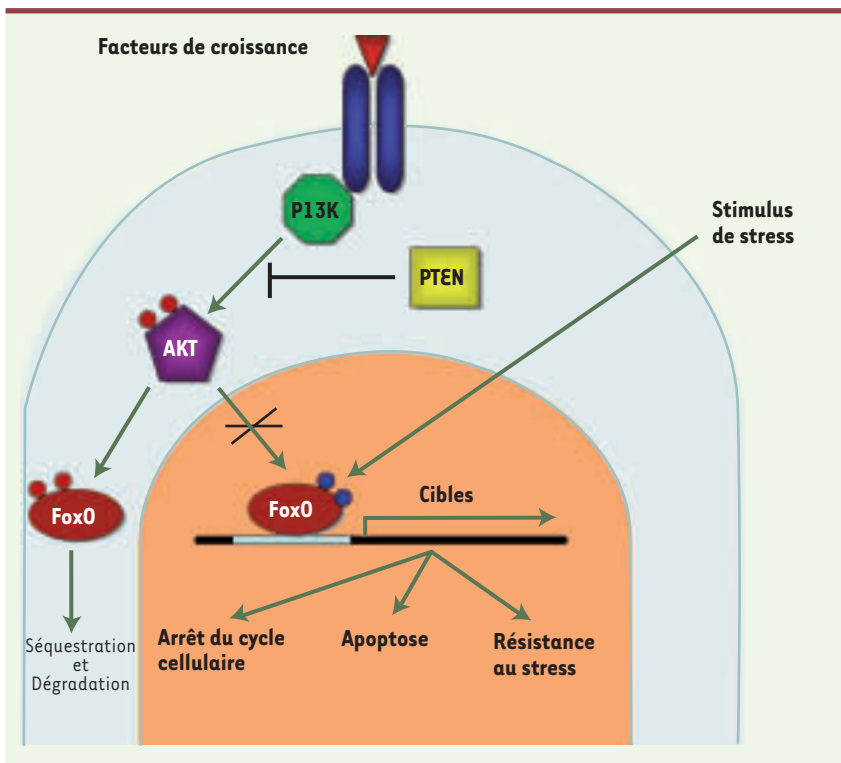
Nous avons récemment identifié un rôle nouveau pour cette voie FoxO dans l'auto-renouvellement des cellules souches. Cette fonction a été mise en évidence grâce à l'étude de souris présentant une inactivation conditionnelle des trois facteurs FoxO1, 3 et 4 à l'âge adulte (appelées *FoxO1/3/4<sup>-/-</sup>* par la suite) [2, 3]. L'analyse de leur système hématopoïétique, pour lequel l'étude et la purification des cellules souches hématopoïétiques (CSH) par cytométrie en flux et tri cellulaire est bien caractérisée, sera abordée ici (Figure 1). Alors que les souris inactivées pour un seul des facteurs FoxO ne présentent pas

un phénotype clair, suggérant une redondance fonctionnelle de ces facteurs, les souris *FoxO1/3/4<sup>-/-</sup>* développent à la fois des anomalies des cellules myéloïdes (syndromes myéloprolifératifs) et des cellules lymphoïdes (lymphomes des cellules T). Cette observation a motivé l'étude des CSH qui sont à l'origine de ces deux types cellulaires. La moelle osseuse des souris *FoxO1/3/4<sup>-/-</sup>* contient un nombre de cellules de phénotype LSK (*lineage-Sca1<sup>+</sup>cKit<sup>+</sup>*), enrichies en CSH, plus faible que celui des souris sauvages. Par ailleurs, ces cellules LSK ont des capacités réduites de formation de colonies hématopoïétiques dans des cultures *in vitro*, et de reconstitution du système hématopoïétique *in vivo*, dans des expériences de transplantation de moelle totale dans des souris irradiées. Ces résultats indiquent une anomalie fonctionnelle des CSH *FoxO1/3/4<sup>-/-</sup>*.

### Stress oxydatif exagéré dans les CSH *FoxO1/3/4<sup>-/-</sup>*

Pour comprendre l'origine de cette anomalie, le cycle cellulaire, l'apoptose et la réponse aux stress oxydatifs des CSH des souris *FoxO1/3/4<sup>-/-</sup>* ont été mesurés. Ces études révèlent une augmentation du nombre de CSH dans la phase active S/G2/M du cycle cellulaire et une modification de l'expression de gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire (tels que p130/Rb, p16<sup>INK4a</sup>, p21<sup>WAF1/CIP1</sup> ou cycline D2) spécifiquement dans les CSH, mais pas dans les progéniteurs myéloïdes (dérivant directement des CSH). De façon inattendue cependant, un taux d'apoptose plus élevé que dans les cellules sauvages est observé à la fois dans les CSH et les progéniteurs myéloïdes. Par ailleurs, la concentration intracellulaire de radicaux libres ou ROS (*reactive oxygen species*) est plus élevée dans les CSH *FoxO1/3/4<sup>-/-</sup>* que dans les cellules sauvages et une diminution de l'expression de gènes impliqués dans la détoxification des ROS, tels les superoxide dismutases, est observée. Afin de déterminer si l'augmentation du taux de ROS est directement responsable de la diminution du nombre de CSH chez les souris *FoxO1/3/4<sup>-/-</sup>*, ces souris ont été traitées de façon journalière avec un agent anti-oxydant (N-acétyl-L-cystéine). Ce traitement entraîne une restauration du nombre, de la fonction et du cycle cellulaire des CSH.

Ces observations suggèrent que l'inactivation des facteurs FoxO entraîne l'entrée des cellules souches dans le cycle cellulaire et l'engagement de la différenciation terminale au détriment de l'auto-renouvellement, conduisant à un épuisement du compartiment des CSH. La plupart de ces effets semblent liés à une augmentation du stress oxydatif (ROS) dans les CSH, résultant d'un défaut d'expression de gènes normalement impliqués dans leur détoxification. Ce mécanisme semble dépendre du contexte cellulaire car il n'est pas observé dans les progéniteurs myéloïdes, immédiatement dérivés des CSH. On peut noter que le taux basal de ROS dans les progéniteurs myéloïdes est beaucoup plus élevé que dans les CSH. De façon intéressante, les progéniteurs myéloïdes se différencient naturellement en neutrophiles et monocytes dont le rôle physiologique dans la réponse immunitaire de défense contre les infections, est de produire de grandes quantités de ROS. Le taux basal élevé de ROS dans les progéniteurs myéloïdes



**Figure 2. La voie PI3K/AKT/FoxO dans les cellules hématopoïétiques.** Les facteurs FoxO activent la transcription de nombreux gènes cibles et entraînent l'arrêt du cycle cellulaire, l'apoptose et la résistance au stress en l'absence de facteurs de croissance et en présence de stimulus de stress. En présence de facteurs de croissance, la voie PI3K/AKT est activée, entraîne la phosphorylation des facteurs FoxO et l'inhibition de leur fonction. Le facteur PTEN inhibe l'activation de la voie PI3K/AKT.

pourrait donc résulter d'un équilibre précaire entre la production de ROS à des fins utilitaires et l'effet toxique des ROS sur la survie cellulaire. Cela pourrait expliquer pourquoi les cellules myéloïdes en général ont la durée de vie la plus courte parmi les cellules hématopoïétiques [4].

### Perspectives

Ces résultats mettent en perspective d'autres observations similaires rapportées récemment au cours de l'étude de modèles murins d'inactivation du facteur PTEN [5, 6], situé en amont de FoxO dans la voie PI3K/AKT, et du facteur de transcription ATM (*ataxia telangiectasia mutated*) [7]. Bien qu'aucun lien entre FoxO et ATM n'ait été décrit à ce jour, l'expression d'ATM et d'une de ses cibles, p16<sup>INK4a</sup>, est modifiée dans les souris *FoxO1/3/4*<sup>-/-</sup>. Cela suggère que le facteur ATM est une cible de FoxO. D'autre part, la β-Caténine, un autre facteur impliqué dans la biologie des CSH, pourrait interagir avec les facteurs FoxO [8, 9]. Dans l'ensemble, ces observations suggèrent un lien génétique entre ces différents facteurs (Figure 2) contrôlant l'autorenouvellement des CSH. Cette hypothèse reste cependant à prouver de façon formelle.

La complexité de la fonction des facteurs FoxO et l'importance du contexte cellulaire sont également mises en évidence par l'augmentation de l'apoptose des progéni-

teurs myéloïdes en l'absence de différence du taux de ROS, une observation qui reste inexpliquée dans ce modèle. Les facteurs FoxO ont également été impliqués dans les mécanismes de réparation de l'ADN suite à des anomalies génétiques. Leur absence pourrait donc interférer avec les processus de réparation de ces anomalies et induire l'apoptose. L'accumulation de mutations dans des oncogènes ou gènes suppresseurs de tumeurs pourrait également participer à la transformation cancéreuse et expliquer la survenue de syndromes myéloprolifératifs et de lymphomes T chez les souris *FoxO1/3/4*<sup>-/-</sup>.

Finalement, on peut noter que le facteur FoxO3 a été impliqué dans le maintien de la quiescence des follicules ovariens [10]. En outre, DAF-16, l'orthologue des facteurs FoxO chez le nématode *C. elegans*, joue un rôle dans l'entrée et le maintien de l'état *dauer* et contrôle la durée de vie des vers<sup>1</sup> [11, 12]. Ces observations suggèrent donc l'implication des facteurs FoxO dans les mécanismes de maintien de la quiescence et de la longévité des cellules souches en général. ♦

### FoxO: stress or eternal life

<sup>1</sup> « Ainsi, les recherches sur le phénomène de résistance à l'absence de nourriture, qui conduit les jeunes larves de *C. elegans* à adopter une voie parallèle de développement appelée *dauer* larva (de l'allemand *dauer*, durer), ont permis d'élucider le mécanisme moléculaire de la signalisation par l'insuline et des mécanismes de longévité » (tiré de [11]).

### RÉFÉRENCES

1. Brunet A. The multiple roles of FOXO transcription factors. *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 856-9.
2. Tothova Z, Kollipara R, Huntly BJ, et al. FOXOs are critical mediators of hematopoietic stem cell resistance to physiologic oxidative stress. *Cell* 2007 ; 128 : 325-39.
3. Paik JH, Kollipara R, Chu G, et al. FOXOs are lineage-restricted redundant tumor suppressors and regulate endothelial cell homeostasis. *Cell* 2007 ; 128 : 309-23.
4. Gougerot-Pocidallo MA, El Benna J, My-Chan Dang P, Elbim C. Quand les polynucléaires neutrophiles attrapent les agents pathogènes dans leurs filets. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 464-5.
5. Zhang J, Grindley JC, Yin T, et al. PTEN maintains haematopoietic stem cells and acts in lineage choice and leukaemia prevention. *Nature* 2006 ; 441 : 518-22.
6. Yilmaz OH, Valdez R, Theisen BK, et al. Pten dependence distinguishes haematopoietic stem cells from leukaemia-initiating cells. *Nature* 2006 ; 441 : 475-82.
7. Ito K, Hirao A, Arai F, et al. Regulation of oxidative stress by ATM is required for self-renewal of haematopoietic stem cells. *Nature* 2004 ; 431 : 997-1002.
8. Reya T, Duncan AW, Ailles L, et al. A role for Wnt signalling in self-renewal of haematopoietic stem cells. *Nature* 2003 ; 423 : 409-14.
9. Essers MA, de Vries-Smits LM, Barker N, et al. Functional interaction between beta-catenin and FOXO in oxidative stress signaling. *Science* 2005 ; 308 : 1181-4.
10. Castrillon DH, Miao L, Kollipara R, et al. Suppression of ovarian follicle activation in mice by the transcription factor Foxo3a. *Science* 2003 ; 301 : 215-8.
11. Libina N, Berman JR, Kenyon C. Tissue-specific activities of *C. elegans* DAF-16 in the regulation of lifespan. *Cell* 2003 ; 115 : 489-502.
12. Labouesse M. *Caenorhabditis elegans*. *Med Sci (Paris)* 2003, 19 : 1171-2.

### NOUVELLE

## Sur l'évolution du plan d'organisation des chordés...

Stéphanie Bertrand, Héctor Escrivà

Laboratoire Arago, UMR 7628, CNRS et Université Pierre et Marie Curie, BP 44, F-66651 Banyuls sur Mer, France.  
[hector.escriva@obs-banyuls.fr](mailto:hector.escriva@obs-banyuls.fr)

> L'homme partage avec tous les vertébrés, et plus largement avec tous les chordés, un certain nombre de caractéristiques morphologiques qui sont propres à leur groupe au sein du règne animal. Les plus importantes de ces caractéristiques, c'est-à-dire celles qui définissent le phylum, sont la présence d'une notochorde dorsale (d'où

le nom de chordés), d'un tube neural dorsal et creux, de fentes branchiales et d'une queue post-anale. En dehors des vertébrés, le phylum des chordés est composé de deux groupes majeurs d'invertébrés, les urochordés (par exemple les ascidies) et les céphalochordés (par exemple l'amphioxus) (Figure 1) [1].

### L'organisateur des vertébrés

L'une des questions majeures dans l'étude de l'évolution des vertébrés est de savoir quand et comment leur plan d'organisation est apparu. Pour répondre à cette question, il faut tout d'abord savoir comment ce plan d'organisation se met en place au cours de l'embryogenèse. L'une des étapes