

La catastrophe mitotique : un cas particulier d'apoptose

par Maria Castedo & Guido Kroemer

CNRS-UMR 8125, Institut Gustave Roussy, Pavillon de Recherche 1, 39, rue Camille-Desmoulins, F-94805 Villejuif, France

Correspondance : castedo@igr.fr

Reçu le 8 janvier 2004

RÉSUMÉ

La catastrophe mitotique est une forme de mort cellulaire peu connue, associée à une activation inappropriée du complexe Cdk1/cycline B. Nous proposons qu'un défaut dans la progression du cycle cellulaire ou une altération de l'ADN couplé à un dysfonctionnement des systèmes de contrôle du cycle cellulaire peut induire la catastrophe mitotique. On distingue deux types de catastrophe mitotique : 1) la catastrophe mitotique peut tuer les cellules pendant (ou peu après) la métaphase selon un mécanisme indépendant de p53, comme cela a été décrit dans les hétérocaryons issus d'une fusion cellulaire et après inactivation de Chk2 ;

2) la catastrophe mitotique peut survenir après une mitose avortée suivant un processus dépendant (partiellement) de p53. Dans ces conditions, les cellules meurent après activation des caspases et perméabilisation des membranes mitochondriales qui sont des événements représentatifs de l'apoptose. L'inhibition des caspases et/ou des altérations mitochondriales supprime la catastrophe mitotique démontrant que cette forme de mort est un cas particulier d'apoptose. L'inhibition de la catastrophe mitotique peut conduire à une division cellulaire asymétrique et à la génération de cellules aneuploïdes.

SUMMARY Mitotic catastrophe: a special case of apoptosis

Mitotic catastrophe is a poorly defined type of cell death linked to the abnormal activation of cyclin B/Cdk1. Here we propose that a conflict in cell cycle progression or DNA damage can lead to mitotic catastrophe, provided that cell cycle checkpoints are inhibited, in particular the DNA structure checkpoints and the spindle assembly checkpoint. Two subtypes of mitotic catastrophe can be distinguished. First, mitotic catastrophe can kill the cell during or close to the metaphase, in a p53-independent fashion, as this occurs in Chk2-inhibited heterokarya generated by fusion. Second, mitotic catastrophe can occur after failed mitosis, during the activation of the polyploidy checkpoint, in a partially p53-dependent

fashion. In these conditions, cells die as a result of caspase activation and mitochondrial membrane permeabilization that constitute hallmarks of apoptosis. Prevention of caspase activation and/or mitochondrial damage avoids mitotic catastrophe, indicating that this form of cell death indeed constitutes a special case of apoptosis. Importantly, the suppression of mitotic catastrophe can favor asymmetric division and the generation of aneuploid cells. This delineates a molecular pathway through which failure to arrest the cell cycle and inhibition of apoptosis can favor the occurrence of cytogenetic abnormalities which are likely to participate in oncogenesis.

INTRODUCTION

La « catastrophe mitotique » a été initialement décrite chez *Schizosaccharomyces pombe* comme un phénotype léthal associé à des altérations de la ségrégation chro-

mosomique dans certaines souches mutantes (Ayscough *et al.*, 1992 ; Molz *et al.*, 1989). Par ailleurs, des auteurs ont décrit la « catastrophe mitotique » des cellules de Mammifère comme une défaillance pendant le déroulement de la mitose, due à une altération de l'ADN cou-

plée à un dysfonctionnement des systèmes de contrôle du cycle cellulaire, les *checkpoints*. Cette situation conduit à la formation de cellules tétraploïdes après un cycle cellulaire (Andreassen *et al.*, 2001 ; Margottin-Goguet *et al.*, 2003) ou à la polyploïdie après plusieurs cycles pouvant favoriser la sélection de cellules résistantes à l'apoptose (Ivanov *et al.*, 2003).

Plus récemment, l'expression « catastrophe mitotique » a été employée pour décrire une forme particulière de mort affectant les cellules de Mammifère. Il a été suggéré que la catastrophe mitotique serait fondamentalement différente de l'apoptose (Roninson *et al.*, 2001) car des manipulations qui suppriment l'apoptose favoriseraient la catastrophe mitotique. Le fait que des inhibiteurs de caspases tels que Z-VAD.fmk n'empêchent pas la mort de cellules géantes multinucléées (induites par des poisons du fuseau mitotique) a conduit à l'interprétation que la catastrophe mitotique est une forme de mort distincte de l'apoptose (Nabha *et al.*, 2002), sachant que les caspases sont des médiateurs de l'apoptose. Cependant, il est aujourd'hui clairement établi que l'apoptose peut survenir indépendamment des caspases (Jozsa *et al.*, 2001 ; Susin *et al.*, 2000 ; Susin *et al.*, 1999). Ainsi, l'inefficacité des inhibiteurs de caspases à supprimer la mort cellulaire ne peut suffire à affirmer qu'il ne s'agit pas d'apoptose.

Une nouvelle définition de la catastrophe mitotique peut être envisagée. La catastrophe mitotique serait un type de mort cellulaire particulier activé pendant la mitose, à la suite d'une altération de l'ADN ou du fuseau mitotique (notamment des microtubules), couplée au dysfonctionnement des systèmes de contrôle (*checkpoints*) du cycle cellulaire. Les *DNA structure checkpoints* permettent d'arrêter le cycle cellulaire en G2/M en réponse à un défaut de réplication ou à une altération de l'ADN, alors que le *spindle assembly checkpoint* prévient l'anaphase pour assurer l'attachement des chromatides d'un même chromosome aux pôles opposés du fuseau mitotique. L'inhibition pharmacologique ou génétique de molécules impliquées dans les *checkpoints* du cycle cellulaire telles que ATM, ATR, Chk1, Chk2, Plk1, Plk2, Plk3, Pin1, Mlh1 et 14-3-3 σ peut induire la catastrophe mitotique après altération de l'ADN ou des microtubules (Roninson *et al.*, 2001). Sachant que les cellules cancéreuses présentent fréquemment des déficiences des *checkpoints* du cycle cellulaire, elles devraient être particulièrement sensibles à l'induction de la catastrophe mitotique par de tels agents. La catastrophe mitotique peut être également provoquée par fusion entre des cellules en mitose et des cellules en phase S ou G2, conduisant à l'induction d'une mitose prématurée des noyaux interphasiques (Castedo *et al.*, 2004a ; Castedo *et al.*, 2004b).

Dans cette revue, nous tenterons de comprendre quels sont les principaux événements impliqués dans la catastrophe mitotique. Une attention toute particulière sera accordée à la relation entre apoptose et catastrophe mitotique. En tenant compte des données actuelles de la littérature, nous proposerons une définition moléculaire de la catastrophe mitotique.

LE COMPLEXE CDK1/CYCLIN B : PROTAGONISTE MAJEUR DANS L'INITIATION DE LA MITOSE ET LA CATASTROPHE MITOTIQUE

La kinase cdk1 (Cdk1) initialement appelée Cdc2 (ou p34^{Cdc2}) interagit obligatoirement avec la cycline B1, son activateur allostérique, pour former un hétérodimère actif. La progression au cours du cycle cellulaire de la phase G2 à la phase M est contrôlée par l'activation du complexe Cdk1/cycline B1, dont l'activité doit se maintenir de la prophase à la métaphase. Puis, l'entrée en anaphase va dépendre de la dégradation soudaine de ce complexe par l'*Anaphase Promoting Complex (APC)* (Nigg, 2001 ; Smits & Medema, 2001). L'activité du complexe Cdk1/cycline B1 va être contrôlée par des événements spatio-temporels complexes, à savoir *i*) la transcription de la cycline B1 et, à un moindre degré, de Cdk1, *ii*) la déphosphorylation de Cdk1 hautement régulée par de nombreuses kinases et phosphatases, *iii*) des inhibiteurs endogènes de Cdk1, *iv*) la distribution subcellulaire de la cycline B1, et *v*) la dégradation de la cycline B1.

La transcription de Cdk1 est relativement stable au cours du cycle cellulaire, mais peut être modulée dans des situations de stress génotoxique. Ainsi, p53 régule négativement la transcription de Cdk1 (Yun *et al.*, 1999) et de la cycline B1 (Taylor *et al.*, 1999), et stimule la transcription de trois inhibiteurs de Cdk1 (Gadd45, p21, et 14-3-3 σ) (Taylor & Stark, 2001). Dès la fin de la phase S, le gène de la cycline B1 est transcrit et son ARNm est stabilisé. La phosphorylation de Cdk1 sur la Thr¹⁴ (essentiellement par la kinase Myt1) et la Tyr¹⁵ (essentiellement par la kinase Wee1) inhibe son activité pendant la phase G2 du cycle cellulaire, alors que la déphosphorylation de Thr¹⁴ et Tyr¹⁵ par une phosphatase de la famille Cdc25 conduit à l'activation de Cdk1 en début de mitose. La cycline B1 migre du cytosol vers le noyau en début de mitose. L'équilibre entre l'import nucléaire et l'export de la cycline B1 (ainsi que de Cdc25C, requis pour l'activation de Cdk1) dépend de son statut de phosphorylation (Nigg, 2001 ; Smits & Medema, 2001) ainsi que de sa liaison à différentes protéines cytoplasmiques telles que 14-3-3 σ (Chan *et al.*, 1999). En fin de métaphase, l'APC doit détruire la cycline B1 pour permettre la poursuite de la mitose.

L'hétérodimère Cdk1/cycline B1 induit l'initiation de la mitose par phosphorylation et activation d'enzymes impliquées dans la condensation de la chromatine, le démantèlement de la membrane nucléaire, ainsi que dans la réorganisation des microtubules et du cytosquelette (Nigg, 2001). La régulation spatio-temporelle de l'activité du complexe Cdk1/cycline B1 va être déterminante pour le bon déroulement de la mitose et va être sujette à de multiples étapes de contrôle. Ainsi, le *DNA structure checkpoint* (qui est activé lors d'une réplication incomplète de l'ADN ou par des altérations de l'ADN notamment des cassures) va stimuler les kinases Wee1 et Myt1 ainsi que les *checkpoint kinases* Chk1 et Chk2 (qui inactivent les phosphatases Cdc25) pour prévenir l'activation

de Cdk1 et l'entrée en mitose. De même, l'APC peut être inhibé en métaphase par le *spindle assembly checkpoint* empêchant alors la dégradation de la cycline B1 (et d'autres nombreux substrats) et la division nucléaire (Nigg, 2001 ; Smits & Medema, 2001).

L'entrée inappropriée en mitose, avant la réplication complète de l'ADN, peut conduire à la catastrophe mitotique. Il est communément admis que l'entrée prématurée du complexe Cdk1/cycline B1 dans le noyau suffit à induire la condensation prématurée de la chromatine et l'apoptose. L'accumulation nucléaire de la cycline B1 a été décrite dans de nombreux modèles de catastrophe mitotique notamment dans les cellules cancéreuses de colon HCT 116 14-3-3 $\sigma^{-/-}$ exposées à la doxorubicine (Chan *et al.*, 1999), ainsi que dans les cellules polyploïdes résultant d'une fusion cellulaire (Castedo *et al.*, 2001 ; Castedo *et al.*, 2002b). L'inhibition de Cdk1 par expression d'un mutant dominant négatif ou par l'utilisation d'inhibiteurs pharmacologiques tels que la roscovitine ou l'olomoucine empêche l'apoptose des cellules polyploïdes (Castedo *et al.*, 2001), et en particulier la catastrophe mitotique induite par inactivation de Chk2 (Castedo *et al.*, 2002b). L'inhibition prolongée de l'APC (qui se traduit par une activation prolongée de Cdk1) peut également conduire à la catastrophe mitotique associée à une duplication anormale des centrosomes (Margottin-Goguet *et al.*, 2003).

Une augmentation de l'activité Cdk1 a également été décrite dans de nombreuses situations d'apoptose, et l'inhibition de l'activité du complexe Cdk1/cycline B1 suggère que cette activité excessive jouerait un rôle important dans la mort cellulaire (Castedo *et al.*, 2002a ; Fotadar *et al.*, 1995). L'activation prolongée de Cdk1 peut induire de façon indirecte l'activation de p53, qui permet la synthèse de protéines pro-apoptotiques de la famille Bcl-2 tels que Bax et Puma, initiant l'apoptose mitochondriale (Castedo *et al.*, 2001 ; Castedo *et al.*, 2002b ; Perfettini *et al.*, 2004). Cependant, les mécanismes précis de facilitation de l'apoptose par Cdk1 ne sont pas établis et il est probable que Cdk1 agisse par des mécanismes indirects, notamment par initiation inappropriée de la mitose, conduisant à la catastrophe mitotique.

LES SENSEURS DES ALTÉRATIONS DE L'ADN ET CHK2 : PRÉVENTION DE LA CATASTROPHE MITOTIQUE

Le bon fonctionnement de l'ensemble des protéines impliquées dans le contrôle de la structure de l'ADN (*DNA structure checkpoint*) est essentiel pour empêcher la catastrophe mitotique. Les altérations de l'ADN telles que les cassures double brin ou les dimères de pyrimidine sont perçues par des senseurs (incluant RAD1, RAD9, RAD17, et HUS7). Ceux-ci transmettent l'information à des kinases apparentées à la famille des PIKK (phosphatidylinositol-3-OH-kinase-like kinases) telles que ATM (ataxia telangiectasia mutated) et ATR (ataxia telangiectasia and Rad3-related) qui, après phosphoryla-

tion, vont activer la kinase Chk2, entraînant l'arrêt du cycle cellulaire. Cette cascade de réactions est conservée au cours de l'évolution.

Chez les Mammifères, en réponse à une altération de l'ADN, Chk2 est localisé dans les centrosomes et interagit avec PLK1 (*polo-like kinase 1*) (Tsvetkov *et al.*, 2003), suggérant que Chk2 couple la fonction des centrosomes et l'assemblage du fuseau mitotique à l'intégrité génomique *via* Plk-1. Chk2 pourrait également agir sur le contrôle du cycle cellulaire par phosphorylation de substrats additionnels tels que p53 (Chehab *et al.*, 2000 ; Sheih *et al.*, 2000), les phosphatases Cdc25A (Falck *et al.*, 2000) et Cdc25C (Peng *et al.*, 1997), Mdm2 (Sheih *et al.*, 2000), BRCA1 (Lee *et al.*, 2000), et les PML (Yang *et al.*, 2002). Par ailleurs, Chk2 phosphoryle le facteur de transcription E2F1 sur la sérine 364, induisant l'expression de protéines pro-apoptotiques Apaf-1 et p73 (Stevens *et al.*, 2003). Ainsi, Chk2, par ses effets pléiotropes, peut arrêter le cycle cellulaire et favoriser l'apoptose à différents niveaux.

Des données récentes désignent Chk2 comme un régulateur de la catastrophe mitotique dans les cellules humaines. La co-culture de cellules Hela exprimant à la membrane plasmique le complexe glycoprotéique Env du virus du SIDA avec des cellules Hela exprimant le récepteur CD4 induit la formation de syncytia (Ferri *et al.*, 2000a ; Ferri *et al.*, 2000b). Ces cellules polyploïdes s'arrêtent spontanément en prophase mitotique après une diminution soudaine de la cycline B1 et meurent après un temps de latence par apoptose sous la dépendance de p53 (Castedo *et al.*, 2001 ; Castedo *et al.*, 2002b). La fusion cellulaire est également accompagnée d'une phosphorylation de Chk2 sur la Thr68. La suppression de Chk2 à l'aide d'un mutant dominant négatif de Chk2 ou par un inhibiteur pharmacologique, la débromohyménialdisine, permet le maintien de la cycline B1 dans les cellules et la poursuite de la mitose jusqu'en métaphase. Puis, les cellules qui présentent un fuseau mitotique multipolaire vont manifester les signes caractéristiques de l'apoptose, à savoir le relargage du cytochrome c des mitochondries vers le cytosol, l'activation de la caspase 3 et la fragmentation de l'ADN (Castedo *et al.*, 2004a ; Castedo *et al.*, 2004b). Dans les cellules de carcinome de côlon HCT116, l'inhibition de Chk2 peut également abolir l'arrêt du cycle cellulaire en G2/M induit par la doxorubicine (qui endommage l'ADN) facilitant ainsi l'induction de l'apoptose (Castedo *et al.*, 2004a ; Castedo *et al.*, 2004b). Dans ces lignées, l'abolition du locus 14-3-3- σ empêche également l'arrêt en G2/M et induit la catastrophe mitotique après l'entrée prématurée de la cycline B1 dans les noyaux (Chan *et al.*, 1999). Il est à noter que dans les cellules 14-3-3 $\sigma^{-/-}$ exposées à la doxorubicine l'activation de Chk2 est réduite comparativement aux cellules témoins (Castedo *et al.*, 2004a ; Castedo *et al.*, 2004b) suggérant que le phénotype des cellules 14-3-3 $\sigma^{-/-}$ serait dû à une défaut d'activation de Chk2.

L'inhibition de Chk2 (et de Chk1) par la 7-hydroxytaurosoporine (UCN-01) lève également l'arrêt en G2/M induit par irradiation et favorise l'apoptose (Yu *et al.*,

2002). Des essais cliniques actuellement en cours associant le UCN-01 à des agents endommageant l'ADN ont donné des résultats encourageants dans le traitement de mélanomes et de certains lymphomes (Senderowicz, 2003). Cependant, reste à déterminer dans quelle mesure les effets de UCN-01 sont attribuables à l'inhibition de Chk2 et si l'inhibition de Chk2 ne risque pas de favoriser l'instabilité génétique et, de ce fait, de générer des cellules tumorales résistantes à la thérapie ou même des cancers secondaires.

Chez l'Homme, les mutations de Chk2 sont associées au développement de cancer. Ainsi, des mutations hétérozygotes de Chk2 (par exemple la mutation 1100delC dans l'exon 10 qui induit une protéine tronquée ou la mutation R145W qui compromet la stabilité de la protéine Chk2) sont retrouvées chez des patients atteints du syndrome de Li-Fraumeni (Bell *et al.*, 1999). La mutation 1100delC a également été retrouvée dans le cancer du sein (Meijers-Heijboer *et al.*, 2002; Vahteristo *et al.*, 2002). D'autres mutations de Chk2 affectant la région catalytique ou les domaines de régulation (Wu *et al.*, 2001) sont décrites dans les carcinomes mammaires (Meijers-Heijboer *et al.*, 2002) ou dans les ostéosarcomes (Miller *et al.*, 2002). Une mutation somatique de Chk2 a été décrite dans le syndrome myélodysplasique (Hofmann *et al.*, 2001). Ces données suggèrent que l'inhibition pharmacologique de Chk2 pourrait avoir des effets néfastes promoteurs de tumeurs.

Il apparaît donc que les différents composants contrôlant l'intégrité de l'ADN et notamment Chk2 régulent négativement la catastrophe mitotique, l'inactivation de Chk2 favorisant cette forme de mort cellulaire. Néanmoins, la possibilité d'inactiver Chk2 (ou des enzymes similaires) pour sensibiliser les cellules cancéreuses aux traitements anti-tumoraux doit être validée par des essais biologiques et cliniques extensifs.

LA CATASTROPHE MITOTIQUE ET LE PROCESSUS APOPTOTIQUE

Comme mentionné précédemment, la catastrophe mitotique peut être considérée comme une forme de mort cellulaire qui survient pendant la mitose ou à la suite d'une mitose défectueuse. On peut distinguer au moins deux types de catastrophe mitotique : 1) la catastrophe mitotique qui tue les cellules pendant (ou peu après) la métaphase selon un mécanisme indépendant de p53, comme dans les syncytia après inactivation de Chk2, 2) la catastrophe mitotique qui survient à la suite d'une mitose avortée suivant un processus partiellement dépendant de p53.

La catastrophe mitotique s'accompagne de la condensation de la chromatine, de la dégradation de l'ADN, de l'activation des caspases, ainsi que des signes de la perméabilisation de la membrane mitochondriale tels que la chute du potentiel transmembranaire mitochondrial et la libération de protéines mitochondriales pro-apoptotiques (cytochrome c et AIF). Ceci implique que la catastrophe

mitotique est liée aux événements clés définissant l'apoptose. L'inhibition des caspases prévient ou tout au moins retarde la mort cellulaire métaphasique. Par ailleurs, l'inhibition de la perméabilisation mitochondriale après transfection de Bcl-2, Bcl-XL, vMIA (un gène du Cytomégalo-virus également appelé UL37) ou l'ablation du locus Bax prévient la catastrophe mitotique. Ceci a été démontré pour les deux types de catastrophe mitotique mentionnés ci-dessus (Castedo *et al.*, 2001; Castedo *et al.*, 2004a; Castedo *et al.*, 2004b; Ferri *et al.*, 2000a; Minn *et al.*, 1996; Roumier *et al.*, 2003) soulignant ainsi l'importance de la machinerie apoptotique (et en particulier le rôle central de la mitochondrie) dans l'exécution de la catastrophe mitotique. Dans ce sens, il a été récemment démontré que l'inhibition de l'expression de Bcl-2 par des oligonucléotides anti-sens peut faciliter et amplifier la catastrophe mitotique (Elez *et al.*, 2003).

Quels sont les liens moléculaires entre une mitose anormale et l'activation de l'apoptose mitochondriale? Ceci dépend probablement du type de catastrophe mitotique. Dans le cas de la catastrophe mitotique dépendante de p53, il apparaît que la transcription de gènes cibles pro-apoptotiques de p53 contrôlent la perméabilisation mitochondriale. Ainsi, l'inhibition de Bax ou de Puma par des oligo-nucléotides antisens ou par ARN interférence empêche la mort p53 dépendante des cellules polyploïdes issues de fusion entre cellules non synchronisées (Perfettini *et al.*, 2004; Roumier *et al.*, 2003). L'inhibition de p53, de Puma ou de Bax, stabilise le potentiel membranaire mitochondrial, prévient la libération du cytochrome c et de AIF, et supprime l'activation de la caspase-3 (Perfettini *et al.*, 2004). Ceci indique que la caspase-3 est activée en aval des altérations mitochondriales, probablement à la suite du relargage du cytochrome c et la formation de l'apoptosome. En revanche, l'inhibition pharmacologique des caspases par Z-VAD.fmk n'empêche pas la perméabilisation mitochondriale (Ferri *et al.*, 2000a), confortant la notion que l'activation des caspases est postérieure à la perméabilisation mitochondriale dans ce modèle d'apoptose syncytiale.

Dans le cas de la mort métaphasique, indépendante de p53, il apparaît qu'une caspase spécifique est activée en amont de la mitochondrie. Après inactivation de Chk2 dans les syncytia, la caspase-2 activée est détectée même après inhibition de l'apoptose par la transfection de vMIA (Castedo *et al.*, 2004a; Castedo *et al.*, 2004b). De façon similaire, des inhibiteurs d'histone désacetylase tels que l'acide suberoylanilide, l'oxamflatine et le depsipeptide induisent l'accumulation de cellules tétraploïdes et leur apoptose ultérieure, après activation précoce de la caspase-2, indépendamment de l'expression de Bcl-2 (Peart *et al.*, 2003). Dans le modèle de mort syncytiale après inactivation de Chk-2, la suppression de la caspase-2 par ARN interférence prévient la perméabilisation mitochondriale. La suppression de la caspase-2 ou l'inhibition directe de la perméabilisation mitochondriale empêche la libération du cytochrome c et la mort cellulaire. Ceci permet de déterminer une séquence

d'événements au cours de cette catastrophe métaphasique : caspase-2 activée → perméabilisation mitochondriale → caspase-3 activée (Castedo *et al.*, 2004a; Castedo *et al.*, 2004b). Il a été décrit que la caspase-2 peut être activée dans le noyau en réponse à une altération de l'ADN (Lassus *et al.*, 2002; Paroni *et al.*, 2002; Read *et al.*, 2002; Robertson *et al.*, 2002). De plus, la caspase-2 peut agir directement sur les mitochondries isolées pour induire leur perméabilisation, mais la cible mitochondriale de la caspase-2 reste indéterminée (Guo *et al.*, 2002). Quoi qu'il en soit, dans le modèle de mort syncytiale après inactivation de Chk-2, les inhibiteurs ubiquitaires des caspases (qui inhibent également la caspase-2) peuvent supprimer la mort cellulaire métaphasique et induire la génération de cellules aneuploïdes après une division asymétrique des syncytia (Castedo *et al.*, 2004a; Castedo *et al.*, 2004b).

RELATION HYPOTHÉTIQUE ENTRE CATASTROPHE MITOTIQUE, CATASTROPHE CYTOGÉNÉTIQUE ET CANCER

La plupart des tumeurs ont un développement (oligo)clonal et stochastique. Il est tentant de proposer que ce que nous appelons «la catastrophe cytogénétique» participerait à l'oncogenèse. L'aneuploïdie pourrait être la conséquence d'une division asymétrique de cellules polyploïdes, issues d'une fusion illicite, ou de phénomènes d'endoréplication/endomitose. Il est à noter que la polyploïdie est fréquemment observée dans les tumeurs et constitue un facteur de mauvais pronostic, alors que l'aneuploïdie est une caractéristique quasi-générale des cancers. En théorie, les cellules polyploïdes qui possèdent des fuseaux mitotiques multipolaires pourraient se diviser de façon asymétrique et générer des cellules filles aneuploïdes contenant un excès ou un défaut de chromosomes (Brinkley, 2001; D'Assoro *et al.*, 2002; Lingle *et al.*, 2002; Meraldi *et al.*, 2002; Nigg, 2001). Si la ségrégation des chromosomes a lieu en dépit d'une répllication anormale de l'ADN (qui devrait être contrôlée par des *checkpoints* fonctionnels), des problèmes de cassures et de réparation de l'ADN pourraient contribuer à des délétions chromosomiques ou des translocations (Gisselsson, 2003). La majorité des cellules filles résultant d'une distribution stochastique des chromosomes devraient mourir en absence de gènes codant pour des protéines essentielles. Cependant, une petite minorité de cellules anormales pourraient survivre à cette catastrophe cytogénétique. En résumé, on peut envisager un scénario en plusieurs étapes : *i*) formation de cellules polyploïdes après fusion cellulaire ou endoréplication/endomitose; *ii*) la survie de ces cellules après la levée de *checkpoints* du cycle cellulaire (qui devraient conduire à l'apoptose); *iii*) division asymétrique des cellules polyploïdes après suppression de la catastrophe mitotique; *iv*) sélection darwinienne des cellules filles. La catastrophe cytogénétique résultante est donc une reconstitution théorique de la génération clonale et stochastique

des cellules cancéreuses pouvant se développer dans le contexte d'une suppression simultanée de l'apoptose et de checkpoints du cycle cellulaire.

BIBLIOGRAPHIE

- Andreassen P. R., Lacroix F. B., Lohez O. D. & Margolis R. L., Neither p21WAF1 nor 14-3-3sigma prevents G2 progression to mitotic catastrophe in human colon carcinoma cells after DNA damage, but p21WAF1 induces stable G1 arrest in resulting tetraploid cells. *Cancer Res.*, 2001, 61, 7660-7668.
- Ayscough K., Hayles J., MacNeill S. A. & Nurse P., Cold-sensitive mutants of p34cdc2 that suppress a mitotic catastrophe phenotype in fission yeast. *Mol. Gen. Genet.*, 1992, 232, 344-350.
- Bell D. W., Varley J. M., Szydlow T. E., Kang D. H., Wahrer D. C., Shannon K. E., Lubratovich M., Verselis S. J., Isselbacher K. J., Fraumeni J. F., Birch J. M., Li F. P., Garber J. E. & Haber D. A., Heterozygous germ line hCHK2 mutations in Li-Fraumeni syndrome. *Science*, 1999, 286, 2528-2531.
- Brinkley B. R., Managing the centrosome numbers game: from chaos to stability in cancer cell division. *Trends Cell Biol.*, 2001, 11, 18-21.
- Castedo M., Ferri K. F., Blanco J., Roumier T., Larochette N., Barretina J., Amendola A., Nardacci R., Metivier D., Este J. A., Piacentini M. & Kroemer G., Human immunodeficiency virus 1 envelope glycoprotein complex-induced apoptosis involves mammalian target of rapamycin/FKBP12-rapamycin-associated protein-mediated p53 phosphorylation. *J. Exp. Med.*, 2001, 194, 1097-1110.
- Castedo M., Perfettini J. L., Roumier T. & Kroemer G., Cyclin-dependent kinase-1: linking apoptosis to cell cycle and mitotic catastrophe. *Cell Death Differ.*, 2002a, 9, 1287-1293.
- Castedo M., Perfettini J. L., Roumier T., Valent A., Raslova H., Yakushijin K., Horne D. A., Feunteun J., Lenoir G., Vainchenker W. & Kroemer G., Mitotic catastrophe. A special case of apoptosis preventing aneuploidy. *Oncogene*, 2004a, in press.
- Castedo M., Perfettini J. L., Roumier T., Yakushijin K., Horne D. A., Medema R. & Kroemer G., Chk2 is a negative regulator of mitotic catastrophe. *Oncogene*, 2004b, in press.
- Castedo M., Roumier T., Blanco J., Ferri K. F., Barretina J., Andreau K., Perfettini J. L., Amendola A., Nardacci R., LeDuc P., Ingber D. E., Este J. A., Modjtahedi N., Piacentini M. & Kroemer G., Sequential involvement of Cdk1, mTOR and p53 in apoptosis induced by the human immunodeficiency virus-1 envelope. *EMBO J.*, 2002b, 21, 4070-4080.
- Chan T. A., Hermeking H., Lengauer C., Kinzler K. W. & Vogelstein B., 14-3-3Sigma is required to prevent mitotic catastrophe after DNA damage. *Nature*, 1999, 401, 616-620.
- Chehab N. H., Malikzay A., Appel M. & Halazonetis T. D., Chk2/hCds1 functions as a DNA damage checkpoint in G(1) by stabilizing p53. *Genes Dev.*, 2000, 14, 278-288.
- D'Assoro A. B., Lingle W. L. & Salisbury J. L., Centrosome amplification and the development of cancer. *Oncogene*, 2002, 21, 6146-6153.
- Elez R., Piper A., Kronenberger B., Kock M., Brendel M., Hermann E., Pliquett U., Neumann E. & Zeuzem S., Tumor regression by combination antisense therapy against Plk1 and Bcl-2. *Oncogene*, 2003, 22, 69-80.
- Falck J., Maitland N., Syljuasen R. G., Bartek J. & Lukas J., The ATM-Chk2-Cdc25A checkpoint pathway guards against radioresistant DNA synthesis. *Nature*, 2000, 410, 842-847.
- Ferri K. F., Jacotot E., Blanco J., Este J. A., Zamzami A., Susin S. A., Brothers G., Reed J. C., Penninger J. M. & Kro-

- mer G., Apoptosis control in syncytia induced by the HIV-1-envelope glycoprotein complex. Role of mitochondria and caspases. *J. Exp. Med.*, 2000a, 192, 1081-1092.
- Ferri K. F., Jacotot E., Geuskens M. & Kroemer G., Apoptosis and karyogamy in syncytia induced by HIV-1-ENV/CD4 interaction. *Cell Death Differ.*, 2000b, 7, 1137-1139.
- Fotedar R., Flatt J., Gupta S., Margolis R. L., Fitzgerald P., Messier H. & Fotedar A., Activation-induced T-cell death is cell cycle dependent and regulated by cyclin B. *Mol. Cell Biol.*, 1995, 15, 932-942.
- Gisselsson D., Chromosome instability in cancer: how, when, and why? *Adv. Cancer Res.*, 2003, 97, 1-29.
- Guo Y., Srinivasula S. M., Druilhe A., Fernandes-Alnemri T. & Alnemri E. S., Caspase-2 induces apoptosis by releasing proapoptotic proteins from mitochondria. *J. Biol. Chem.*, 2002, 277, 13430-13437.
- Hofmann W. K., Miller C. W., Tsukasaki K., Tavor S., Ikezoe T., Hoelzer D., Takeuchi S. & Koeffler H. P., Mutation analysis of the DNA-damage checkpoint gene CHK2 in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemias. *Leuk. Res.*, 2001, 25, 333-338.
- Ivanov A., Cragg M. S., Erenpreisa J., Emzins D., Lukman H. & Illidge T. M., Endopolyploid cells produced after severe genotoxic damage have the potential to repair DNA double strand breaks. *J. Cell Sci.*, 2003, 116, 4095-4106.
- Joza N., Susin S. A., Daugas E., Stanford W. L., Cho S. K., Li C. Y. J., Sasaki T., Elia A. J., Cheng H. Y. M., Ravagnan L., Ferri K. F., Zamzami N., Wakeham A., Hakem R., Yoshida H., Kong Y. Y., Zuñiga-Pflücker J. C., Kroemer G. & Penninger J. M., Essential role of the mitochondrial apoptosis inducing factor in programmed cell death. *Nature*, 2001, 410, 549-554.
- Lassus P., Opitz-Araya X. & Lazebnik Y., Requirement for caspase-2 in stress-induced apoptosis before mitochondrial permeabilization. *Science*, 2002, 297, 1352-1354.
- Lee J. S., Collin K. M., Brown A. L., Lee C. H. & Chung J. H., HcDc1-mediated phosphorylation of BRCA1 regulates the DNA damage response. *Nature*, 2000, 404, 201-204.
- Lingle W. L., Barrett S. L., Negron V. C., D'Assoro A. B., Boeneman K., Liu W., Whitehead C. M., Reynolds C. & Salisbury J. L., Centrosome amplification drives chromosomal instability in breast tumor development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, 99, 1978-1983.
- Margottin-Goguet F., Hsu J. Y., Loktev A., Hsieh H. M., Reimann J. D. R. & Jackson P. K., Prophase destruction of Emi1 by the SCF β TcrP/Slmb ubiquitin ligase activates the anaphase promoting complex to allow progression beyond prometaphase. *Dev. Cell*, 2003, 4, 813-826.
- Meijers-Heijboer H., van den Ouweland A., Klijn J., Wasielewski M., de Snoo A., Oldenburg R., Hollestelle A., Houben, M., Crepin E., van Veghel-Plandsoen M., Elstrodt F., van Duijn C., Bartels C., Meijers C., Schutte M., McGuffog L., Thompson D., Easton D., Sodha N., Seal S., Barfoot R., Mangion J., Chang-Claude J., Eccles D., Eeles R., Evans D. G., Houlston R., Murday V., Narod S., Peretz T., Peto J., Phelan C., Zhang H. X., Szabo C., Devilee P., Goldgar D., Futreal P. A., Nathanson K. L., Weber B., Rahman N. & Stratton M. R., Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2(*)1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *Nat. Genet.*, 2002, 31, 55-59.
- Meraldi P., Honda R. & Nigg E. A., Aurora-A overexpression reveals tetraploidization as a major route to centrosome amplification in p53(-/-) cells. *Embo. J.*, 2002, 21, 483-492.
- Miller C. W., Ikezoe T., Krug U., Hofmann W. K., Tavor S., Vegesna V., Tsukasaki K., Takeuchi S. & Koeffler H. P., Mutations of the CHK2 gene are found in some osteosarcomas, but are rare in breast, lung, and ovarian tumors. *Genes Chromosomes Cancer*, 2002, 33, 17-21.
- Minn A. J., Boise L. H. & Thompson C. B., Expression of Bcl-xL and loss of p53 can cooperate to overcome a cell cycle checkpoint induced by mitotic spindle damage. *Genes Dev.*, 1996, 10, 2621-2631.
- Molz L., Boohe R., Young P. & Beach D., cdc2 and the regulation of mitosis: six interacting mcs genes. *Genetics*, 1989, 122, 773-782.
- Nabha S. M., Mohammad R. M., Dandashi M. H., Coupaye-Gerard B., Aboukameel A., Pettit G. R. & Al-Katib A. M., Combretastatin-A4 prodrug induces mitotic catastrophe in chronic lymphocytic leukemia cell line independent of caspase activation and poly(ADP-ribose) polymerase cleavage. *Clin. Cancer Res.*, 2002, 8, 2735-2741.
- Nigg E. A., Mitotic kinases as regulators of cell division and its checkpoints. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2001, 2, 21-32.
- Paroni G., Henderson C., Schneider C. & Brancolini C., Caspase-2 can trigger cytochrome C release and apoptosis from the nucleus. *J. Biol. Chem.*, 2002, 277, 15147-15161.
- Peart M. J., Tainton K. M., Ruefli A. A., Dear A. E., Sedelies K. A., O'Reilly L. A., Waterhouse N. J., Trapani J. A. & Johnstone R. W., Novel mechanisms of apoptosis by histone deacetylase inhibitors. *Cancer Res.*, 2003, 63, 4460-4471.
- Peng C. Y., Graves P. R., Thoma R. S., Wu Z., Shaw A. S. & Piwnicka-Worms H., Mitotic and G2 checkpoint control: regulation of 14-3-3 protein binding by phosphorylation of Cdc25C on serine-216. *Science*, 1997, 277, 1501-1505.
- Perfettini J. L., Roumier T., Castedo M., Larochette N., Boya P., Reynal B., Lazar V., Ciccocanti F., Nardacci R., Penninger J. M., Piacentini M. & Kroemer G., NF- κ B and p53 are the dominant apoptosis-inducing transcription factors elicited by the HIV-1 envelope. *J. Exp. Med.*, 2004, in press.
- Read S. H., Baliga B. C., Ekert P. G., Vaux, D. L. & Kumar S., A novel Apaf-1-independent putative caspase-2 activation complex. *J. Cell Biol.*, 2002, in press.
- Robertson J. D., Enoksson M., Suomela M., Zhivotovsky B. & Orrenius S., Caspase-2 acts upstream of mitochondria to promote cytochrome c release during etoposide-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.*, 2002, 277, 29803-29809.
- Roninson I. B., Broude E. V. & Chang B. D., If not apoptosis, then what? Treatment-induced senescence and mitotic catastrophe in tumor cells. *Drug Resistance Updates*, 2001, 4, 303-313.
- Roumier T., Castedo M., Perfettini J. L., Andreau K., Metivier D., Zamzami N. & Kroemer G., Mitochondrion-dependent caspase activation induced by the HIV-1 envelope. *Biochem. Pharmacol.*, 2003, 66, 1321-1329.
- Senderowicz A. M., Novel direct and indirect cyclin-dependent kinase modulators for the prevention and treatment of human neoplasms. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2003, 52, S61-S73.
- Sheih S. Y., Ahn J., Tamai K., Taya Y. & Prives C., The human homologues of checkpoint kinase Chk1 and Cds1 (Chk2) phosphorylates p53 at multiple DNA damage-inducible sites. *Genes Dev.*, 2000, 14, 289-300.
- Smits V. A. & Medema R. H., Checking out the G2/M transition. *Biochim. Biophys. Acta*, 2001, 1519, 1-12.
- Stevens C., Smith L. & La Thangue N. B., Chk2 activates E2F1 in response to DNA damage. *Nat. Cell Biol.*, 2003, 5, 401-409.
- Susin S. A., Daugas E., Ravagnan L., Samejima K., Zamzami N., Loeffler M., Costantini P., Ferri K. F., Irinopoulou T., Prévost M. C., Brothers G., Mak T. W., Penninger J., Earnshaw W. C. & Kroemer G., Two distinct pathways leading to nuclear apoptosis. *J. Exp. Med.*, 2000, 192, 571-579.
- Susin S. A., Lorenzo H. K., Zamzami N., Marzo I., Snow B. E., Brothers G. M., Mangion J., Jacotot E., Costantini P., Loeffler M., Larochette N., Goodlett D. R., Aebersold R., Siderovski D. P., Penninger J. M. & Kroemer G., Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Nature*, 1999, 397, 441-446.

- Taylor W. R., DePrimo S. E., Agarwal A., Agarwal M. L., Schonthal A. H., Katula K. S. & Stark G. R., Mechanisms of G2 arrest in response to overexpression of p53. *Mol. Biol. Cell*, 1999, 10, 3607-3622.
- Taylor W. R. & Stark G. R., Regulation of the G2/M transition by p53. *Oncogene*, 2001, 20, 1803-1815.
- Tsvetkov L., Xu X., Li J. & Stern D. F., Polo-like kinase 1 and Chk2 interact and co-localize to centrosomes and the midbody. *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, 8468-8475.
- Vahteristo P., Bartkova J., Eerola H., Syrjakoski K., Ojala S., Kilpivaara O., Tamminen A., Kononen J., Aittomaki K., Heikkila P., Holli K., Blomqvist C., Bartek J., Kallioniemi O. P. & Nevanlinna H., A CHEK2 genetic variant contributing to a substantial fraction of familial breast cancer. *Am. J. Hum. Genet.*, 2002, 71, 432-438.
- Wu X., Webster S. R. & Chen J., Characterization of tumor-associated Chk2 mutations. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276, 2971-2974.
- Yang S., Kuo C., Bisi J. E. & Kim M. K., PML-dependent apoptosis after DNA damage is regulated by the checkpoint kinase hCds1/Chk2. *Nat. Cell. Biol.*, 2002, 4, 865-870.
- Yu Q., La Rose J., Zhang H., Takemura H., Kohn K. W. & Pommier Y., UCN-01 inhibits p53 up-regulation and abrogates gamma-radiation induced G(2)-M checkpoint independently of p53 by targeting both of the checkpoint kinase, Chk2 and Chk1. *Cancer Res.*, 2002, 62, 5743-5748.
- Yun J., Chae H. D., Choy H. E., Chung J., Yoo H. S., Han M. H. & Shin D. Y., p53 negatively regulates cdc2 transcription via the CCAAT-binding NF-Y transcription factor. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274, 29677-29682.
-

