



**HAL**  
open science

## Apoptose, sénescence cellulaire, vieillissement et mitochondries

Bernard Mignotte, Isabelle Guéna, Patrice X Petit, Jean-Luc Vayssière

### ► To cite this version:

Bernard Mignotte, Isabelle Guéna, Patrice X Petit, Jean-Luc Vayssière. Apoptose, sénescence cellulaire, vieillissement et mitochondries. L'année Gérologique 1995 (Facts And Research In Gerontology), Serdi Ed, 1995. hal-03721681

**HAL Id: hal-03721681**

**<https://hal.uvsq.fr/hal-03721681v1>**

Submitted on 12 Jul 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

L'année Gérontologique (Facts And Research In Gerontology).

J.L. Albarede & P. Vellas Eds. Serdi Pub. Sous Presse.

## APOPTOSE, SÉNESCENCE CELLULAIRE, VIEILLISSEMENT ET MITOCHONDRIES

B. Mignotte<sup>1,2</sup>, I. Gu enail<sup>1</sup>, P.X. Petit<sup>1</sup>, J.L. Vayssière<sup>1,2</sup>

1 : Centre de Génétique Moléculaire du CNRS,  
91198 Gif-sur-Yvette cedex, France.

2 : Université de Versailles-Saint-Quentin-en-Yvelines,  
45 avenue des Etats-Unis,  
78035 Versailles cedex, France.

Correspondance :

Bernard MIGNOTTE,  
Centre de Génétique Moléculaire du CNRS,  
F-91198 Gif-sur-Yvette cedex, France.

## Résumé

Chez les métazoaires, le contrôle de la prolifération cellulaire implique une combinaison de signaux positifs et négatifs très élaborée. En effet, les populations cellulaires doivent limiter leur croissance, voire disparaître, même dans des conditions nutritionnelles non limitantes. On peut mettre en évidence quatre types de contrôles au niveau cellulaire : la différenciation, la quiescence, la sénescence et la mort cellulaire programmée (apoptose). La sénescence et l'apoptose sont deux formes irréversibles d'arrêt de croissance cellulaire. Les cellules sénescents peuvent survivre plusieurs semaines dans un état proche de la quiescence (Go), à ceci près qu'elles sont incapables de répondre aux facteurs de croissance. L'apoptose est un phénomène beaucoup plus rapide, qui conduit à l'élimination de certaines cellules surnuméraires ou néfastes pour l'organisme. Elle joue un rôle fondamental au cours du développement. Un défaut dans le contrôle de l'apoptose pourrait être à l'origine de pathologies aussi diverses que cancer, SIDA et maladies neurodégénératives. Au moins une partie des signaux conduisant à la sénescence et à l'apoptose sont communs. Par exemple, la protéine p53 est impliquée dans les deux processus. Nous avons mis en évidence que des changements dans la biogenèse et l'activité des mitochondries sont des événements précoces et irréversibles de l'apoptose. Ces altérations mitochondriales sont sans doute liées à une production accrue de radicaux libres. Un tel rôle déterminant de dysfonctionnements mitochondriaux et des radicaux libres a souvent été évoqué comme un élément déterminant du vieillissement. Des dérèglements dans le contrôle du programme d'apoptose, peut-être liés à des anomalies mitochondriales, pourraient contribuer à maintenir en vie des cellules défectueuses ou au contraire à éliminer des cellules qui ne peuvent pas être renouvelées. De tels événements pourraient être impliqués dans le vieillissement normal ou pathologique.

Mots-clés : Apoptose, sénescence, vieillissement, mitochondries, radicaux libres.

## Summary

In metazoans, the control of cell proliferation involves a very elaborated combination of positive and negative signals. Therefore, cell populations have to limit their growth and, in some cases, to disappear even under non-limiting nutritional conditions. Four types of controls restraining the size of somatic cell populations can be studied at the cellular level : differentiation, quiescence, senescence and programmed cell death (apoptosis). Senescence and apoptosis are two forms of irreversible arrest of cell growth. Senescent cells can survive several weeks in a state close to quiescence (Go) but are unable to respond to growth factors. Apoptosis is a very much more rapid phenomena leading to the elimination of supernumerary cells or of cells detrimental to the organism. It plays a critical role during development and a defect in the control of the apoptosis program is probably at the origin of various pathologies including cancer, AIDS and neurodegenerative diseases. Some of the signals leading to senescence and apoptosis are identical. For example, the oncossuppressor p53 protein is involved in both processes. We have observed that changes in mitochondrial biogenesis and activity are early irreversible events in apoptosis. These mitochondrial alterations could be related to free radicals production. Mitochondrial dysfunctions and free radicals has often been suggested to be crucial events in aging. Thus, perturbations in the regulation of the apoptosis program, possibly mediated by mitochondrial dysfunctions, could lead to the maintenance of damaged cells or, alternatively, to the elimination of cells that cannot be replaced. Such events could be involved in normal or pathological aging.

Key-words : Apoptosis, senescence, aging, mitochondria, free radicals.

## Mort cellulaire programmée et développement

La mort cellulaire programmée apparaît comme un moyen mis en place au cours de l'évolution pour éliminer certaines cellules indésirables. Elle joue un rôle fondamental au cours du développement : de nombreuses cellules embryonnaires sont destinées à mourir [1]. Elle permet d'éliminer dans certains cas des cellules non nécessaires (ex : la palmure chez les vertébrés terrestres), et dans d'autres cas des structures dont le rôle physiologique n'est que transitoire (ex: la queue des têtards). Dans certains cas, les signaux inducteurs sont connus (ex: dégénérescence neuronale chez les vertébrés où l'absence de NGF est le signal qui provoque la mort des neurones ne formant pas de synapse). Chez *Caenorabditis elegans*, l'approche génétique a permis de montrer que les cellules condamnées expriment des gènes qui participent activement au processus d'apoptose (Ced-3, Ced-4). Si l'expression coordonnée de ces gènes est perturbée les cellules ne meurent pas. On a aussi mis en évidence un gène, Ced-9, capable de bloquer l'apoptose. On sait maintenant que Ced-9 est l'homologue de l'oncogène Bcl-2 qui appartient à une famille de gènes qui inhibent ou stimulent l'apoptose [2]. Ced-3 est l'homologue du gène ICE codant pour l'enzyme de conversion de l'interleukine I [3]. Ces observations soulignent l'origine évolutive lointaine du processus [4].

On distingue en général deux types de mort cellulaire sur des critères morphologiques : la nécrose et l'apoptose [5]. La nécrose est caractérisée par un éclatement de la cellule; elle est souvent considérée comme une mort provoquée par des agressions extérieures. L'apoptose présente des caractéristiques morphologiques (condensation de la cellule) et moléculaires (dégradation de la chromatine en fragments oligonucléosomiques) bien distinctes. Elle est souvent assimilée à la mort cellulaire programmée. Toutefois différents types de mort cellulaire programmée ont été décrits [6, 7].

## Mort cellulaire programmée et pathologies

La sélection du répertoire lymphocytaire exige que de nombreux thymocytes se détruisent [1]. Par conséquent, un blocage du programme de mort cellulaire pourrait être responsable de certaines maladies auto-immunes. Par ailleurs il est bien établi que l'apoptose joue un rôle fondamental à différentes étapes de la carcinogenèse [8, 9]. Par exemple la carcinogenèse chimique fait intervenir deux étapes successives : la première est appelée initiation tandis que la seconde est nommée promotion [10]. Les cellules ayant subi l'initiation (initiées) ont souvent une activité apoptotique qui compense une activité proliférative intense. Il en résulte une élimination de la plupart des cellules initiées. Une inhibition de l'apoptose pourrait être responsable de l'étape de promotion [11]. L'apoptose peut aussi être observée à d'autres stades de la progression tumorale. Dans les cellules néoplasiques et même dans certaines tumeurs malignes, les mitogènes continuent à contrôler la prolifération cellulaire et l'apoptose. Toutefois les deux phénomènes sont déséquilibrés. Certains gènes impliqués dans l'apparition des cancers agissent sur l'apoptose. La protéine

oncosuppressive p53 sauvage induit l'apoptose dans plusieurs types de lignées transformées [12, 13] . Cette action est apparemment la conséquence de dommages génétiques [14, 15] . Par ailleurs, plusieurs oncogènes (dont c-myc) semblent impliqués dans le déclenchement de l'apoptose [16] . Au contraire, l'oncogène Bcl-2 peut bloquer l'apoptose dans différentes situations. Cette propriété est probablement impliquée dans le développement du lymphome de Burkitt [17-19] .

D'autres pathologies peuvent être dues à un déclenchement inopportun de l'apoptose. Par exemple, l'infection par le HIV induit l'apoptose des cellules T et cette propriété pourrait être impliquée dans la pathologie du SIDA [20-22] . De même certaines maladies dégénératives du système nerveux impliquant une mort neuronale massive pourraient être dues à un suicide cellulaire. Ce pourrait être le cas pour les maladies d'Alzheimer et de Parkinson.

### Sénescence cellulaire et vieillissement

In vitro, les cellules animales ont le plus souvent un potentiel prolifératif limité. Après un certain nombre de générations elles cessent de se multiplier, acquièrent un phénotype sénescents et finissent par mourir [23, 24] . Les cellules sénescents ont une morphologie typique: elles sont très étalées et présentent de nombreuses fibres de stress formées de microfilaments d'actine (figure 1B). Elles sont capables de survivre plusieurs semaines, voire plusieurs mois dans la boîte de culture dans un état proche de la quiescence (G0), mais elles sont incapables de répondre à un signal prolifératif [25] . Le nombre de doublements de population que peut effectuer une culture cellulaire avant d'entrer dans la phase de sénescence dépend de l'âge du donneur et de l'espèce (pour revue voir par exemple [26] ). Il est corrélé négativement à l'âge du donneur : les fibroblastes d'un tissu embryonnaire humain peuvent effectuer environ 50 doublements contre une vingtaine pour des cellules extraites d'un tissu adulte. Les cellules issues de patients atteints de syndrome de vieillissement prématuré (ex : syndrome de Werner) effectuent quant à elles moins de dix doublements [27] . Le nombre de doublements effectués par la culture est généralement en rapport avec la durée de vie maximale de l'espèce étudiée: 20 à 40 doublements chez les rongeurs (durée de vie maximum de 3 à 5 ans), 50 à 60 chez l'homme (pour 100 à 120 ans) et 90 à 125 chez les tortues des Galapagos (pour 175 à 200 ans). L'ensemble de ces données a conduit à penser que le vieillissement des organismes pourrait au moins en partie être dû au vieillissement individuel des cellules qui les composent. Deux grandes théories s'affrontent pour expliquer la sénescence cellulaire : celle qui postule qu'elle est le résultat de l'accumulation d'erreurs ou de dommages, et celle qui admet au contraire que la sénescence est un événement génétiquement programmé. Une des approches utilisées pour aborder cette question est l'étude de cellules qui ont échappé à la sénescence.

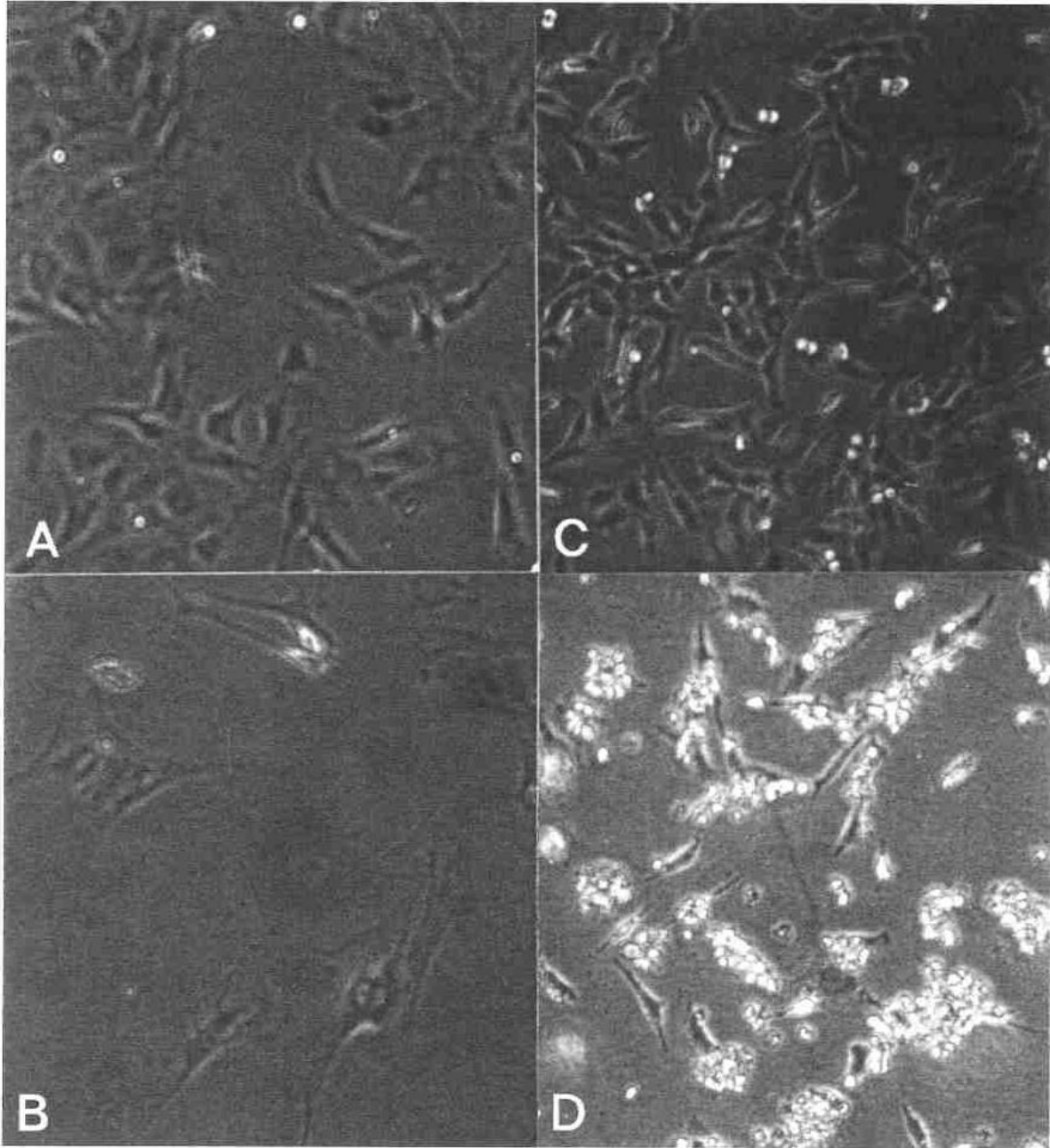


Figure 1 : Morphologie des cellules sénescents et apoptotiques. A et B : cellules embryonnaires de rat en culture primaire (A) ou en phase de sénescence (B). C et D : cellules immortalisées par un virus SV40 portant une mutation thermosensible dans le gène spécifiant l'antigène T à 33°C (C) et après transfert 24h à 39,5°C (D).

#### Immortalisation cellulaire et cancer

Certaines cellules peuvent acquérir la capacité de proliférer indéfiniment in vitro. On dit qu'elles sont établies en lignées, ou immortalisées. Trois types de cellules répondent à cette définition [28] : 1) les cellules qui ont échappé spontanément à la sénescence in vitro (ex : NIH3T3), 2) certaines cellules cancéreuses, 3) les cellules qui ont été immortalisées par introduction d'un oncogène tel que l'antigène T du virus SV40. Dans ce dernier cas, l'expression

de l'antigène T semble suffisante pour immortaliser les cellules de rongeurs [29-31] , tandis que l'immortalisation des cellules humaines nécessite un deuxième événement [32, 33] (voir figure 2). En accord avec ces observations, le phénotype immortel est le plus souvent récessif dans le cas des cellules humaines et 4 groupes de complémentation ont pu être définis [34, 35] . La première étape dans l'immortalisation des cellules humaines semble être l'inactivation par l'antigène T des protéines p53 et pRb (protéines oncosuppressives qui inhibent la transition G1/S lors de progression dans le cycle cellulaire). A la suite de cette inactivation les cellules échappent à la sénescence, effectuent une vingtaine de doublements supplémentaires avant d'entrer dans une phase appelée "crise" au cours de laquelle une proportion de plus en plus importante de cellules meurent (par apoptose?). Seules quelques cellules (à une fréquence d'environ  $3.10^{-7}$ ) vont donner naissance à une lignée de cellules immortalisée [36] . Au cours de cette phase, on observe une grande instabilité génétique qui pourrait être due au raccourcissement des séquences télomériques des chromosomes [37, 38] .

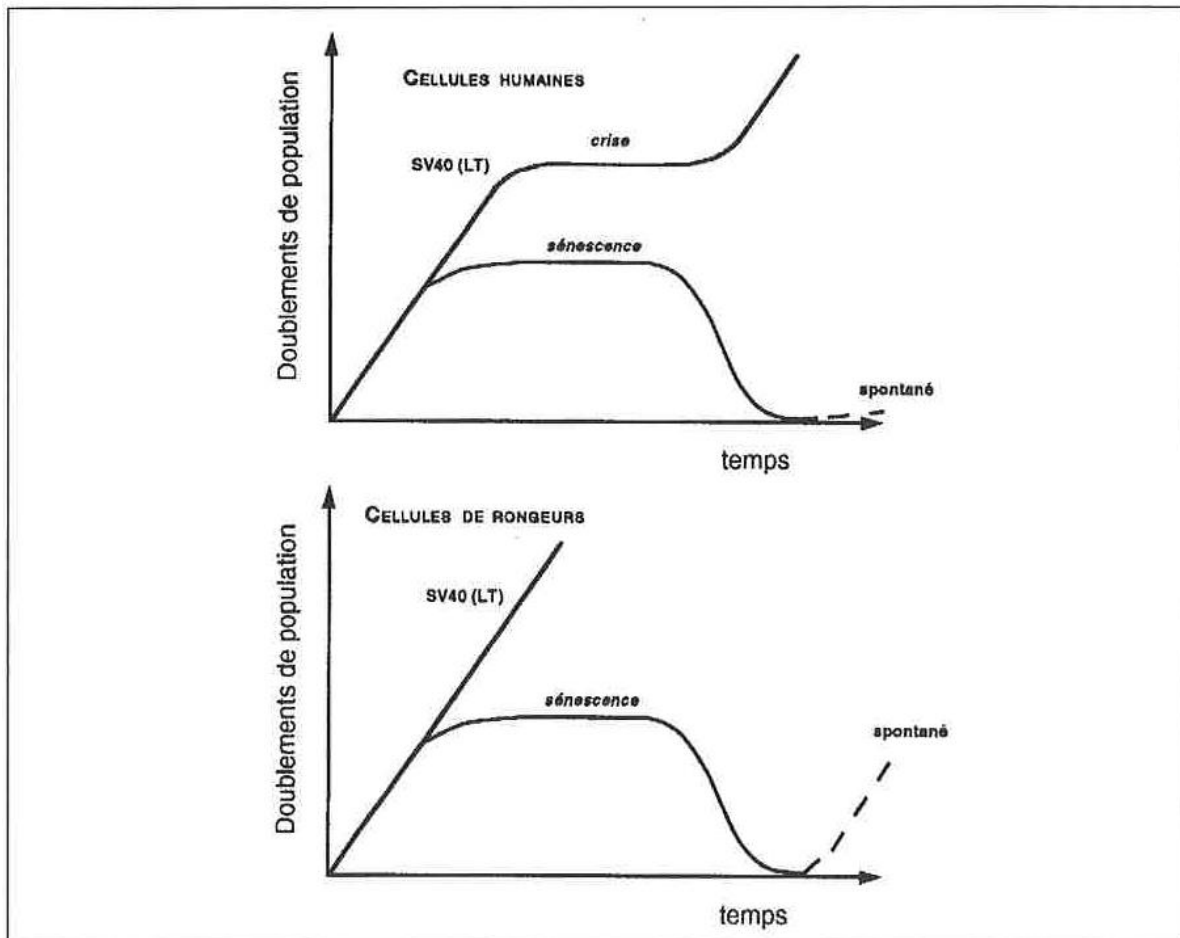


Figure 2 : Immortalisation des cellules humaines et de rongeurs. L'immortalisation des cellules humaines se déroule en deux étapes. La première étape (sénescence) est une perte de la capacité des cellules à répondre aux facteurs de croissance elle peut être supprimée par l'expression de l'antigène T de SV40. La deuxième étape correspond à une phase de mortalité cellulaire intense qui compense la prolifération. Dans le cas des fibroblastes de rongeurs l'expression de l'antigène T de SV40 est suffisante pour induire l'immortalisation. D'après Shay et al. [32] .



L'immortalisation cellulaire est souvent considérée comme une étape dans la progression tumorale [10] . Toutefois il convient de noter que toutes les cellules tumorales ne sont pas immortelles et toutes les cellules immortelles ne sont pas tumorales. On doit donc considérer l'immortalisation cellulaire plutôt comme un facteur de risque que comme une étape obligée dans la voie qui mène à la cancérisation [39] . Néanmoins, il faut souligner que l'acquisition de l'immortalité in vitro nécessite l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeur (p53 et Rb1) qui sont souvent mutés dans les cellules tumorales.

Contrairement à ce que l'on pourrait penser, la mortalité des cellules somatiques pourrait constituer un avantage pour l'organisme. Puisqu'elle est universelle, la mortalité des cellules somatiques est probablement une acquisition évolutive très ancienne, remontant à l'origine des métazoaires. Selon toute vraisemblance cette propriété représente un gain de fonction par rapport à l'immortalité qui caractérisait les ancêtres unicellulaires des métazoaires actuels [40] .

#### Sénescence ou apoptose?

En collaboration avec l'équipe de J. Feunteun (IGR, Villejuif) nous avons entrepris l'étude des événements responsables du maintien ou de la perte de l'état immortalisé. En utilisant des lignées immortalisées par un virus SV40 portant une mutation thermosensible dans le gène spécifiant l'antigène T, nous avons suivi les effets causés par la perte de l'état immortalisé lorsque l'antigène T est inactivé par élévation de la température à 39,5°C. Dans ces conditions les cellules arrêtent de proliférer mais leur morphologie (figure 1D) est différente de celle de cellules sénescents (figure 1B). Une analyse détaillée montre qu'elles s'engagent dans un processus d'apoptose [41] . L'apoptose est associée à la dissociation du complexe formé entre l'antigène T et la protéine onco-suppressive protéine p53 et l'activité de cette protéine peut alors s'exercer [41, 42] . Le maintien de l'état immortalisé passe donc par une inhibition de l'apoptose. Ainsi, l'antigène T de SV40, en inactivant la protéine p53 peut empêcher la sénescence cellulaire mais également l'apoptose. Pourquoi la libération la protéine p53 s'accompagne-t-elle de la mort de la cellule et non pas seulement d'un arrêt de prolifération, d'une entrée en sénescence? En effet, dans bon nombre de modèles cellulaires la surexpression de cette protéine se traduit uniquement par une inhibition de la progression dans le cycle cellulaire.

Un certain nombre de données suggèrent que l'apoptose peut résulter d'un conflit entre les signaux que reçoit la cellule (un signal de prolifération et un signal d'arrêt de prolifération) [43] . Ainsi, le facteur de transcription E2F (régulateur positif de l'entrée en phase S) et p53 coopèrent pour provoquer l'apoptose. Ces données permettent de supposer que l'entrée des cellules en apoptose à 39,5°C serait la conséquence de l'apparition d'un signal négatif (la protéine p53 libérée du complexe avec LT) tandis qu'un signal positif -déjà présent à 33°C-

serait maintenu. Il se pourrait aussi que ces cellules présentent certaines modifications physiologiques ou certains réarrangements génétiques perçus comme des dommages génétiques. En effet, il semble que la protéine p53 entraîne l'apoptose de cellules présentant des dommages génétiques [14, 15] . Quoi qu'il en soit, ces résultats montrent que l'immortalisation est associée non seulement à une stimulation dérégulée de la prolifération, mais aussi à une inhibition de l'apoptose. Cette inhibition de l'apoptose pourrait être nécessaire pour franchir la deuxième étape ("crise") décrite plus haut. Ce résultat permet aussi de suggérer que le caractère immortel de nombreuses cellules cancéreuses résulte de leur aptitude à échapper à l'apoptose qui est sélectionnée lors de la progression tumorale.

### Apoptose, sénescence, vieillissement et mitochondries

Nous avons observé que l'engagement dans l'apoptose s'accompagne d'un défaut de maturation des protéines mitochondriales synthétisées dans le cytoplasme [44] , d'un arrêt de la traduction mitochondriale et d'un découplage des phosphorylations oxydatives associés à une chute du potentiel de membrane mitochondrial (DYm) [45] . Cette chute de potentiel est un événement précoce du processus d'apoptose (figure 3). En collaboration avec l'équipe de M.L. Gougeon (Institut Pasteur), nous avons montré qu'au cours de l'apoptose de thymocytes immatures, modèle classique pour l'étude de l'apoptose, une chute du DYm s'observe aux phases précoces du processus [46] . Un résultat similaire a aussi été obtenu en étudiant l'apoptose de lymphocytes *in vivo* [47] . Par ailleurs, les données concernant l'oncogène Bcl-2 soulignent le rôle de la mitochondrie dans l'apoptose. Deux observations soutiennent cette hypothèse. En premier lieu, les propriétés anti-apoptotiques de Bcl-2 nécessitent son ancrage à la membrane mitochondriale externe [48] . En second lieu, la protéine Bcl-2 semblent agir en protégeant la cellule de l'action des radicaux libres produits par la mitochondrie [49, 50] . Une relation entre les radicaux libres et chute du DYm peut être établie dans la mesure où une accumulation de radicaux libres provoque une peroxydation des lipides membranaires mitochondriaux pouvant entraîner une chute du potentiel. Inversement, il est possible d'envisager que la chute de DYm s'accompagne de la production d'espèces oxydantes réactives. Cette dernière hypothèse est confortée par le fait que les inhibiteurs de la chaîne respiratoire peuvent induire la mort par apoptose de différentes cellules [51] .

Il a cependant été montré que Bcl-2 peut bloquer l'apoptose, induite par carence en facteurs de croissance, de cellules dépourvues d'ADN mitochondrial (cellules r0) [52] . Ces expériences montrent que dans ces cellules, qui ont subi une sélection complexe pour survivre en absence de respiration, l'activité anti-apoptotique de Bcl-2 peut toujours s'exercer. Cependant, elles n'excluent pas la possibilité que l'activité anti-apoptotique de Bcl-2 est liée au DYm. Nous avons obtenu et étudié des cellules r0. Bien qu'étant déficientes pour la respiration, elles contiennent des mitochondries qui maintiennent un DYm proche de la normale [53, 54] , probablement en important l'ATP fourni par la glycolyse grâce au translocateur

ATP/ADP. Par ailleurs, il a été montré que des cellules dépourvues de noyau peuvent elles aussi subir l'apoptose et être sauvées par Bcl-2 [55] et que les cellules dépourvues d'ADN mitochondrial deviennent résistantes à l'apoptose induite par le TNF [56]. Enfin, les gènes Ced-9 (homologue de Bcl-2) de *C. elegans* et *C. biggsae* sont transcrits sous la forme d'un messager polycistronique qui contient aussi le mRNA du cytochrome B560 [2]. Les gènes spécifiant Bcl-2 et le cytochrome B560 sont donc co-exprimés, ce qui suggère qu'il existe entre eux un lien fonctionnel. De plus, le cytochrome B560 appartient au complexe II qui est entièrement constitué de protéines codées par les gènes nucléaires. Ce cytochrome peut donc exister dans des mitochondries de cellules  $r_0$ . Il reste à déterminer si de telles mitochondries produisent des radicaux libres et si elles subissent une chute de  $\Delta\Psi_m$  pendant l'apoptose.

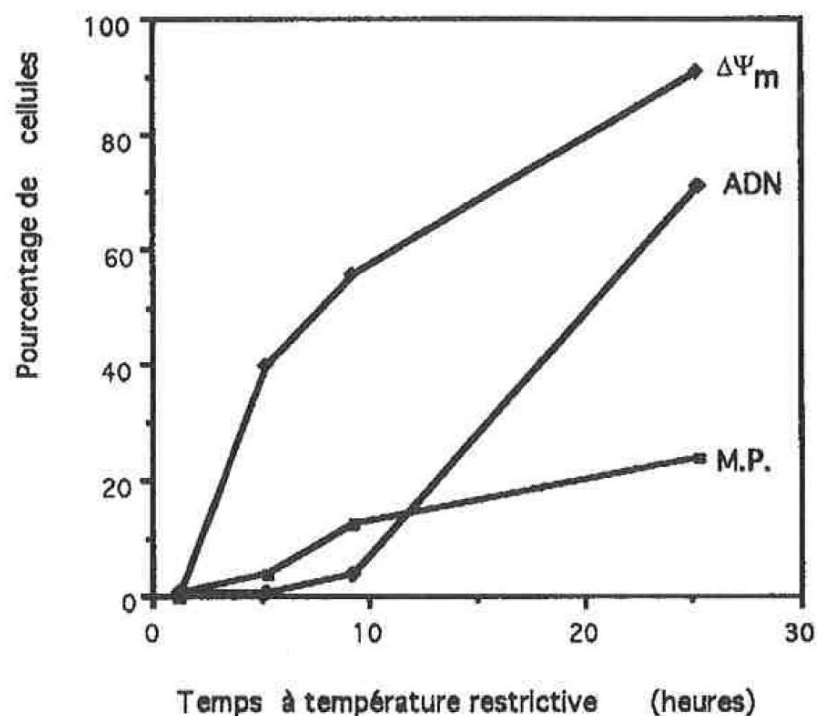


Figure 3 : Cinétique des événements observés au cours de l'apoptose de cellules immortalisées par un mutant thermosensible de l'antigène T de SV40.  $\Delta\Psi_m$  : chute du potentiel de membrane mitochondrial; ADN: fragmentation de l'ADN; M.P.: perte de l'intégrité de la membrane plasmique. D'après Vayssière et al. [45].

De nombreux travaux suggèrent que le vieillissement normal ou pathologique fait intervenir les radicaux libres et des altérations mitochondriales (voir par exemple [57-66]). Ces observations pourraient s'expliquer, au moins en partie, par une perturbation dans le contrôle du programme d'apoptose. Si des cellules endommagées ne peuvent plus entrer en apoptose, cela pourrait conduire au vieillissement de l'organisme. Inversement, une perte progressive par apoptose de certaines cellules (en particulier les cellules post-mitotiques) pourrait entraîner une dégénérescence du tissu, comme cela a été observé dans certaines maladies neurodégénératives (telle la maladie d'Alzheimer). La recherche d'agents capables de

moduler spécifiquement l'apoptose de certains types cellulaires apparaît donc maintenant comme une voie de recherche thérapeutique de première importance. Les mitochondries pourraient être une cible pour de tels agents.

En conclusion la sénescence et l'apoptose sont deux formes irréversibles d'arrêt de la prolifération cellulaire. Certains des signaux conduisant à ces deux processus sont communs. Des dérèglements du contrôle de l'apoptose pourraient être impliqués dans le vieillissement normal et pathologique.

#### Remerciements

Les auteurs remercient L. Belcour et H. Denis pour leur conseils et suggestions. Le travail réalisé au laboratoire bénéficie du soutien financier de l'ARC.

#### Références

1. Ellis R.E., Yuan J.Y. and Horvitz H.R. (1991) Mechanisms and Functions of Cell Death. *Annu Rev Cell Biol.* 7, 663-698.
2. Hengartner M.O. and Horvitz H.R. (1994) C-Elegans Cell Survival Gene Ced-9 Encodes a Functional Homolog of the Mammalian Proto-Oncogene Bcl 2. *Cell.* 76, 665-676.
3. Miura M., Zhu H., Rotello R., Hartwig E.A. and Yuan J.Y. (1993) Induction of apoptosis in fibroblasts by IL-1 beta-Converting enzyme, a mammalian homolog of the c.elegans cell death gene ced-3. *Cell.* 75, 653-660.
4. Denis H. and Mignotte B. (1994) L'apoptose dérive-t-elle de la mort nucléaire programmée mise en oeuvre par les protistes? *médecine/science.* 10, 687-695.
5. Wyllie A.H., Kerr J.K.R. and Currie A.R. (1980) Cell death: the significance of apoptosis. *Int. Rev. Cytol.* 68, 251-305.
6. Clarke P.G.H. (1990) Developmental cell death : morphological diversity and multiple mechanisms. *Anat. Embryol.* 181, 195-213.
7. Schwartz L.M., Smith S.W., Jones M.E.E. and Osborne B.A. (1993) Do all programmed cell deaths occur via apoptosis? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 90, 980-984.
8. Williams G.T. (1991) Programmed cell death : apoptosis and oncogenesis. *Cell.* 65, 1097-1098.
9. Bursch W., Oberhammer F. and Schulte-Hermann R. (1992) Cell death by apoptosis and its protective rôle against disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 13, 245-251.
10. Weinberg R.A. (1989) Oncogenes, antioncogenes, and the molecular bases of multistep carcinogenesis. *Cancer Res.* 49, 3713-3721.
11. Wright S.C., Zhong J. and Larrick J.W. (1994) Inhibition of apoptosis as a mechanism of tumor promotion. *FASEB J.* 8, 654-660.
12. Yonish-Rouach E., Resnitzky D., Lotem J., Sachs L., Kimchi A. and Oren M. (1991) Wild-Type p53 Induces Apoptosis of Myeloid Leukaemic Cells That Is Inhibited by Interleukin-6. *Nature.* 352, 345-347.
13. Shaw P., Bovey R., Tardy S., Sahli R., Sordat B. and Costa J. (1992) Induction of apoptosis by wild-type p53 in a human colon tumor-derived cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 89, 4495-4499.

14. Kuerbitz S.J., Plunkett B.S., Walsh W.V. and Kastan M.B. (1992) Wild-type p53 is a cell cycle checkpoint determinant following irradiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89, 7491-7495.
15. Lowe S.W., Schmitt E.M., Smith S.W., Osborne B.A. and Jacks T. (1993) p53 is required for Radiation-Induced apoptosis in mouse thymocytes. *Nature.* 362, 847-849.
16. Solary E., Bertrand R. and Pommier Y. (1993) Apoptosis function in oncogenesis and cancer treatment. *medecine/science.* 9, 667-675.
17. Hockenbery D., Nunez G., Millman C., Schreiber R.D. and Korsmeyer S.J. (1990) Bcl-2 is an inner mitochondrial protein that blocks programmed cell death. *Nature.* 348, 334-336.
18. Sentman C.L., Shutter J.R., Hockenbery D., Kanagawa O. and Korsmeyer S.J. (1991) bcl-2 Inhibits Multiple Forms of Apoptosis But Not Negative Selection in Thymocytes. *Cell.* 67, 879-888.
19. Strasser A., Harris A.W. and Cory S. (1991) bcl-2 Transgene Inhibits T-Cell Death and Perturbs Thymic Self-Censorship. *Cell.* 67, 889-899.
20. Gougeon M.L., Olivier R., Garcia S., Guetard D., Dragic T., Dauguet C. and Montagnier L. (1991) Evidence for an Engagement Process Towards Apoptosis in Lymphocytes of HIV-Infected Patients. *C R Acad Sci [III].* 312, 529-537.
21. Groux H., Monte D., Bourrez J.M., Capron A. and Ameisen J.C. (1991) A Mechanism for CD4+ T-Cell Dysfunction and Depletion in AIDS - Activation-Induced Programmed Cell Death by Apoptosis. *C R Acad Sci [III].* 312, 599-606.
22. Meyaard L., Otto S.A., Jonker R.R., Mijnter M.J., Keet R.P.M. and Miedema F. (1992) Programmed Death of T-Cells in HIV-1 Infection. *Science.* 257, 217-219.
23. Hayflick L. and Moorhead P.S. (1961) The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* 25, 585-621.
24. Hayflick L. (1970) Aging under glass. *Exp. Gerontol.* 5, 291-303.
25. Stein G.H., Drullinger L.F., Robetorye R.S., Pereiras O.M. and Smith J.R. (1991) Senescent Cells Fail to Express cdc2, cycA, and cycB in Response to Mitogen Stimulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA).* 88, 11012-11016.
26. Barret J.C. and Preston G. (1994) Apoptosis and cellular senescence : two forms of irreversible growth arrest. *Apoptosis II : the molecular basis of apoptosis in disease.* Tomei and Cope ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. pp253-281
27. Faragher R.G.A., Kill I.R., Hunter J.A.A., Pope F.M., Tannock C. and Shall S. (1993) The gene responsible for Werner syndrome may be a cell division "counting" gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 90, 12030-12034.
28. Feunteun J. (1991) L'immortalisation cellulaire : du concept aux applications. *medecine/science.* 7, XV-XVII.
29. Petit C.A., Gardes M.Y. and Feunteun J. (1983) Immortalization of rodent embryo fibroblast by SV40 is maintained by the A gene. *Virology.* 127, 74-82.
30. Jat P.S. and Sharp P.A. (1989) Cell lines established by a temperature sensitive Simian Virus 40 large-T-antigen are growth restricted at the nonpermissive temperature. *Mol. Cell. Biol.* 9, 1672-1681.
31. Jacquemin-Sablon H., Ganz L. and Feunteun J. (1990) Transfert of immortality by transfection of genomic DNA from SV40 established cell lines into rat embryo fibroblasts. *Biol. Cell.* 68, 227-230.
32. Shay J.W., Whright W.E. and Werbin H. (1991) Defining the molecular mechanisms of human cell immortalisation. *Biochem. Biophys. Acta.* 1072, 1-7.
33. Wright W.E. and Shay J.W. (1992) The 2-Stage Mechanism Controlling Cellular Senescence and Immortalization. *Exp. Gerontol.* 27, 383-389.

34. PereiraSmith O. and Smith J.R. (1988) Genetic analysis of indefinite division in human cells : identification of four complementation groups. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*. 85, 6042-6046.
35. Pereirasmith O.M. and Ning Y. (1992) Molecular genetic studies of cellular senescence. *Exp Gerontol*. 27, 519-522.
36. Shay J.W. and Wright W.E. (1989) Quantitation of the frequency of immortalisation of normal human diploid fibroblasts by SV40 large T antigen. *Exp. Cell Res.* 184, 109-118.
37. Counter C.M., Avillon A.A., LeFeuvre C.E., Stewart N.G., Greider C.W., Harley C.B. and Bacchetti S. (1992) Telomere shortening associated with chromosome instability is arrested in immortal cells which express telomerase activity. *EMBO J.* 11, 1921-1929.
38. Harley C.B., Vaziri H., Counter C.M. and Allsopp R.C. (1992) The Telomere Hypothesis of Cellular Aging. *Exp. Gerontol.* 27, 375-382.
39. Strauss M. and Griffin B.E. (1990) Cellular immortalization - an essential step or merely a risk factor in DNA virus induced transformation? *Cancer Cells.* 2, 360-365.
40. Denis H. and Lacroix J.C. (1993) The dichotomy between germ line and somatic line, and the origin of cell mortality. *Trends Genet.* 9, 7-11.
41. Zheng D.Q., Vayssière J.L., Lecoœur H., Petit P.X., Spatz A., Mignotte B. and Feunteun J. (1994) Apoptosis is antagonized by Large T antigens in the pathway to immortalization by polyomaviruses. *Oncogene.* 9, 3345-3351.
42. Yanai N. and Obinata M. (1994) Apoptosis Is Induced at Nonpermissive Temperature by a Transient Increase in p53 in Cell Lines Immortalized with Temperature-Sensitive SV40 Large T-Antigen Gene. *Exp Cell Res.* 211, 296-300.
43. Hibner U. and Coutinho A. (1994) Signal antagonism : a mechanism for apoptosis induction. *Cell Death and Diff.* 1, 33-37.
44. Mignotte B., Larcher J.C., Zheng D.Q., Esnault C., Coulaud D. and Feunteun J. (1990) SV40 induced cellular immortalization : phenotypic changes associated with the loss of proliferative capacity in a conditionally immortalized cell line. *Oncogene.* 5, 1529-1533.
45. Vayssière J.L., Petit P.X., Risler Y. and Mignotte B. (1994) Commitment to apoptosis is associated with changes in mitochondrial biogenesis and activity in cell lines conditionally immortalized with Simian Virus 40. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91, In press.
46. Petit P.X., Lecoœur H., Zorn E., Dauguet C., Mignotte B. and Gougeon M.L. Mitochondrial alterations are early events during apoptosis of immature mouse thymocytes. Submitted.
47. Zamzami N., Marchetti P., Castedo M., Zanin C., Frechin N., Tarazona R., Martinez-A C., Vayssière J.L., Petit P.X. and Kroemer G. Reduction in mitochondrial potential constitutes an early irreversible step of programmed lymphocyte death in vivo. Submitted.
48. Nguyen M., Branton P.E., Walton P.A., Oltvai Z.N., Korsmeyer S.J. and Shore G.C. (1994) Role of membrane anchor domain of Bcl-2 in suppression of apoptosis caused by E1B-defective adenovirus. *J Biol Chem.* 269, 16521-16524.
49. Hockenbery D.M., Oltvai Z.N., Yin X.M., Milliman C.L. and Korsmeyer S.J. (1993) Bcl-2 functions in an antioxidant pathway to prevent apoptosis. *Cell.* 75, 241-251.
50. Kane D.J., Sarafian T.A., Anton R., Hahn H., Gralla E.B., Valentine J.S., Ord T. and Bredesen D.E. (1993) Bcl-2 inhibition of neural death - decreased generation of reactive oxygen species. *Science.* 262, 1274-1277.
51. Wolvetang E.J., Johnson K.L., Krauer K., Ralph S.J. and Linnane A.W. (1994) Mitochondrial Respiratory Chain Inhibitors Induce Apoptosis. *FEBS Lett.* 339, 40-44.
52. Jacobson M.D., Burne J.F., King M.P., Miyashita T., Reed J.C. and Raff M.C. (1993) Bcl-2 blocks apoptosis in cells lacking mitochondrial DNA. *Nature.* 361, 365-369.
53. Skowronek P., Haferkamp O. and Rodel G. (1992) A Fluorescence-Microscopic and Flow-Cytometric study of HeLa cells with an experimentally induced respiratory deficiency. *Biochem Biophys Res Commun.* 187, 991-998.

54. Vayssière J.L. and Petit P.X. Résultats non publiés.
55. Jacobson M.D., Burne J.F. and Raff M.C. (1994) Programmed Cell Death and Bcl-2 Protection in the Absence of a Nucleus. *EMBO J.* 13, 1899-1910.
56. Schulze-Osthoff K., Beyaert R., Vandevoorde V., Haegeman G. and Fiers W. (1993) Depletion of the mitochondrial electron transport abrogates the cytotoxic and Gene-Inductive effects of TNF. *EMBO J.* 12, 3095-3104.
57. Ragusa N., Turpeennoja L., Magri G., Lähdesmäki P. and Stella A.M.G. (1989) Age-dependent modifications of mitochondrial proteins in cerebral cortex and striatum of rat brain. *Neurochem. Res.* 14, 415-418.
58. Corbisier P. and Remacle J. (1990) Involvement of mitochondria in cell degeneration. *Eur. J. Cell. Biol.* 51, 173182.
59. Byrne E., Dennett X. and Trounce I. (1991) Oxidative Energy Failure in Post-Mitotic Cells - A Major Factor in Senescence. *Rev Neurol.* 147, 532-535.
60. Miquel J. (1992) An update on the Mitochondrial-DNA mutation hypothesis of cell aging. *Mutat Res.* 275, 209-216.
61. Fleming J.E., Reveillaud I. and Niedzwiecki A. (1992) Role of oxidative stress in drosophila aging. *Mutation Res.* 275, 267-279.
62. Cortopassi G.A., Shibata D., Soong N.W. and Arnheim N. (1992) A pattern of accumulation of a somatic deletion of mitochondrial DNA in aging human tissues. *Proc Natl Acad Sci USA.* 89, 7370-7374.
63. Treton J. and Courtois Y. (1992) Mitochondries et vieillissement. *L'année gérontologique 1992.* Albarède and Villas ed. Serdi. Paris.
64. Ku H.H., Brunk U.T. and Sohal R.S. (1993) Relationship between mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide production and longevity of mammalian species. *Free Radical Biol Med.* 15, 621-627.
65. Schächter F., Cohen D. and Kirkwood T. (1993) Prospects for the genetics of human longevity. *Hum. Gent.* 91, 519-526.
66. Parker W.D., Parks J., Filley C.M. and Kleinschmith-Demasters B.K. (1994) Electron transport chain defects in Alzheimer disease brain. *Neurology.* 44, 1090-1096.