

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE-LILLE I

THESE

Pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE
EN SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE**

présentée et soutenue publiquement

par

David BERNARD

le 6 septembre 2001

**ETUDE DU FACTEUR DE TRANSCRIPTION C-REL DANS
L'APOPTOSE ET LA PROLIFERATION**

Président :	Pr Xavier DESBIENS
Rapporteurs :	Dr Pierre HAINAUT
	Dr Olivier TOUSSAINT
Examineur :	Dr Corinne ABBADIE
Directeur de thèse :	Dr Bernard VANDENBUNDER

AVANT-PROPOS

Le proto-oncogène *c-rel* code un facteur de transcription de la famille Rel/NF- κ B. Les membres de cette famille sont exprimés de façon ubiquitaire mais ils sont, le plus souvent, inactifs parce que séquestrés dans le cytoplasme par une famille de protéines inhibitrices I κ B. Leur activité transcriptionnelle dépendra essentiellement de leur relocalisation dans le noyau où ils pourront alors contrôler l'expression de leurs gènes cibles.

Lors de mon arrivée au laboratoire, en 1997, des corrélations avaient été établies entre l'expression de *c-rel* et la survenue de l'apoptose. Après ces études descriptives, des études fonctionnelles de c-Rel ont été initiées. Etudes *in vivo* dans le modèle de l'embryon de poulet actuellement en cours et études *in vitro* qui ont constitué mon projet de thèse.

Nous nous sommes particulièrement intéressés aux fonctions de c-Rel dans la prolifération et l'apoptose dans des modèles cellulaires humains normaux et transformés de différentes origines.

La première partie de ce mémoire sera une introduction sur la famille Rel/NF- κ B, avec une attention particulière sur les fonctions des facteurs Rel/NF- κ B dans le contrôle de l'apoptose et de la prolifération. Le sujet étant particulièrement vaste, j'ai essayé de choisir dans la littérature les exemples qui m'ont semblé les plus significatifs pour illustrer les différents points abordés.

Les résultats obtenus pendant ma thèse sont présentés sous forme d'articles publiés, acceptés, soumis ou en préparation. Les articles déjà rédigés en anglais sont directement présentés et précédés d'un résumé. Les autres résultats sont présentés en français avec une introduction rapide, la présentation des résultats et une brève conclusion. Je me suis attaché à présenter l'évolution des conclusions et les choix qui en ont résultés au fur et à mesure des articles.

Enfin, je terminerai ce mémoire par une conclusion et discussion dans laquelle j'essaierai de présenter la contribution de ce travail à la compréhension des fonctions et mécanismes engagés par les facteurs Rel/NF- κ B dans la prolifération et l'apoptose.

SOMMAIRE

Abréviations	1
INTRODUCTION	3
1. Fonctionnement moléculaire des facteurs Rel/NF-κB	4
1.1. Généralités sur la famille Rel/NF- κ B	4
1.2. Structure des protéines Rel/NF- κ B	5
1.2.1. Le RHD	5
1.2.2. Les domaines transactivateurs	6
1.2.3. Les domaines ankyrines	6
1.3. Activation et inhibition des facteurs Rel/NF- κ B	7
1.3.1. Les protéines inhibitrices I κ B	7
1.3.2. Mécanismes moléculaires d'inhibition des facteurs Rel/NF- κ B par I κ B α	8
1.3.3. Mécanismes moléculaires d'activation des facteurs Rel/NF- κ B	8
1.3.4. Activation inductible transitoire ou persistante des facteurs Rel/NF- κ B	10
1.3.5. Activité Rel/NF- κ B constitutive	10
1.4. Contrôle transcriptionnel	11
2. Implication des facteurs Rel/NF-κB dans l'apoptose et la prolifération	13
2.1. Les facteurs Rel/NF- κ B dans l'apoptose	15
2.1.1. Des facteurs anti-apoptotiques	15
2.1.2. Des facteurs pro-apoptotiques	16
2.1.3. Mécanismes d'action des facteurs Rel/NF- κ B dans l'apoptose	17
2.2. Les facteurs Rel/NF- κ B dans la prolifération	21

RESULTATS	23
1. Contexte en 1997 et démarche initiale	24
2. Les effets anti-prolifératif, anti-apoptotique et pro-apoptotique de c-Rel peuvent survenir dans les mêmes cellules via l'induction de la MnSOD	26
3. c-Rel induit des altérations mitochondriales qui corrèlent avec l'arrêt de prolifération	31
4. Implication des facteurs Rel/NF-κB dans la sénescence de cellules épithéliales normales : les kératinocytes	34
5. La surexpression de c-Rel induit la sénescence prématurée de fibroblastes via l'induction de la cyclooxygénase 2	37
5.1. Introduction	37
5.2. Résultats	37
5.2.1. Surexpression de c-Rel dans les fibroblastes	37
5.2.2. Modifications morphologiques et diminution de la prolifération induites par c-Rel	38
5.2.3. Apparition du marqueur de sénescence SA- β -Gal dans les fibroblastes surexprimant c-Rel	38
5.2.4. Les fibroblastes sénescents et surexprimant c-Rel accumulent la COX2	39
5.2.5. L'inhibition de l'activité COX2 abolit la sénescence induite par c-Rel	40
5.3. Conclusion	40
6. Les facteurs Rel/NF-κB protègent de l'apoptose induite par TRAIL en induisant l'expression de DcR1	42
7. Analyse des gènes cibles de c-Rel par array dans les kératinocytes	45
7.1. Introduction	45
7.2. Résultats	45
7.2.1. Analyse des gènes régulés par c-Rel dans les kératinocytes primaires humains	45

7.2.2. Confirmation des gènes induits et réprimés dans les cellules surexprimant c-Rel	46
7.3. Discussion	47
7.3.1. Implication de c-Rel dans le contrôle des réponses immunitaire et inflammatoire dans l'épiderme ?	47
7.3.2. Implication de c-Rel dans la différenciation de l'épiderme ?	48
DISCUSSION et CONCLUSION	50
1. c-Rel peut entraîner la cellule vers un arrêt de prolifération couplé à une résistance à l'apoptose	51
2. c-Rel peut entraîner la cellule vers un arrêt de prolifération couplé à l'apparition d'altérations morphologiques	52
3. L'arrêt de prolifération, la résistance à l'apoptose et les altérations morphologiques induits par c-Rel pourraient correspondre à de la sénescence	53
4. Les médiateurs des effets de c-Rel sur l'apoptose	55
5. Les médiateurs des effets de c-Rel sur la prolifération	56
BIBLIOGRAPHIE	59

INTRODUCTION

1. Fonctionnement moléculaire des facteurs Rel/NF- κ B

La famille des facteurs de transcription Rel/NF- κ B a été définie sur la base d'homologies dans un large domaine amino-terminal appelé le RHD (« Rel Homology Domain »). Les dimères Rel/NF- κ B sont exprimés de façon ubiquiste mais ils sont le plus souvent inactifs parce que associés aux protéines inhibitrices de la famille I κ B qui vont contrôler leur localisation sub-cellulaire et leur liaison à l'ADN. C'est seulement après la dégradation de l'inhibiteur I κ B que les dimères Rel/NF- κ B pourront pénétrer dans le noyau et contrôler l'expression de toute une série de gènes cibles. Néanmoins, cette induction est généralement transitoire puisque ces facteurs comptent parmi leurs gènes cibles des protéines de la famille I κ B.

1.1. Généralités sur la famille Rel/NF- κ B

La famille des facteurs de transcription Rel/NF- κ B comprend 6 membres chez les vertébrés : c-Rel et son homologue viral v-Rel, RelA ou p65, RelB, p105/p50 ou NF- κ B1, p100/p52 ou NF- κ B2.

v-Rel, isolé du rétrovirus aviaire REV-T qui induit une réticuloendothéliose, est le premier membre de la famille à avoir été décrit. V-Rel est une forme tronquée et mutée du proto-oncogène codant c-Rel : il lui manque une partie de l'extrémité carboxy-terminale, il présente des mutations ponctuelles et il est fusionné aux 11 premiers acides aminés de la protéine virale Env (1, 2).

Le facteur communément appelé NF- κ B est un facteur de transcription dimérique comprenant les 2 sous-unités p50 et RelA. Il a d'abord été décrit comme un facteur nucléaire spécifique des cellules B qui lie un motif spécifique à l'intérieur d'un enhancer du gène codant les chaînes légères κ des immunoglobulines (3), puis il s'est révélé ubiquiste (4).

Ce n'est qu'après le clonage des ADN complémentaires de RelA et p50 que l'on s'est aperçu des homologies de séquences avec c-Rel et v-Rel (5-7). Ces facteurs, constituant la famille Rel/NF- κ B, possèdent dans la moitié amino-terminale un domaine conservé d'environ 300 acides aminés appelé le RHD.

Comme le montre la figure 1, cette famille peut être séparée en 2 sous-familles. La première sous-famille comprend c-Rel, v-Rel, RelA et RelB. Tous ces facteurs possèdent, en plus du domaine conservé RHD, un domaine transactivateur du côté carboxy-terminal. La

deuxième sous famille comprend la p105 et la p100; ces protéines ne possèdent pas de domaine transactivateur mais à sa place, du côté carboxy-terminal, un domaine à répétition ankyrine. Ces protéines p100 et p105 sont des précurseurs qui sont coupés protéolytiquement pour donner respectivement la p52 et la p50 dépourvues du domaine ankyrine (pour revue voir (8-13)).

1.2. Structure des protéines Rel/NF- κ B

1.2.1. Le RHD

Le RHD, domaine conservé de la famille, comprend un domaine de liaison à l'ADN, un domaine de dimérisation, une région d'interaction avec les protéines inhibitrices I κ B et un signal de localisation nucléaire (NLS) (fig.2).

Le domaine de liaison à l'ADN a d'abord été localisé par des expériences de délétion et de mutagenèse dirigée dans le RHD (14-17). En 1995, des études structurales, par cristallographie, ont confirmé ces données obtenues par des études biochimiques. Chaque dimère contient 2 séries de feuillets β qui forment le domaine terminal N' (NTD) et le domaine terminal C' (CTD) du RHD (fig.3). Le NTD établit des contacts spécifiques avec les bases et aspécifiques avec les groupes phosphates du squelette d'ADN, alors que le CTD, qui contient également l'interface de dimérisation, établit des contacts aspécifiques avec les groupes phosphates du squelette d'ADN (18, 19).

Comme nous venons de le voir, le domaine de dimérisation est localisé du côté C-terminal du RHD (15, 17, 20) et est essentiellement formé de feuillets β (18, 19). Même s'il participe par interaction non spécifique à la liaison à l'ADN, il est essentiellement impliqué dans la dimérisation des facteurs Rel/NF- κ B. Ces facteurs peuvent s'homo- ou s'hétéro-dimériser, toutes les combinaisons de dimères semblant possibles (20-24), excepté pour RelB qui ne peut s'associer qu'avec p50 ou p52 (25, 26). Bien sûr, seuls les hétéro- ou homo-dimères contenant au moins une protéine de la sous-famille 1, c'est à dire possédant un domaine transactivateur, peuvent directement activer la transcription. Par contre les homo- ou hétéro-dimères contenant uniquement p50 et/ou p52 sont incapables d'activer la transcription, ils sont même capables de l'inhiber (21, 27-30). Ils peuvent quand même activer la transcription dans un cas particulier : quand ils sont liés à Bcl-3, une protéine atypique de la famille I κ B (31-34).

Le RHD dans son ensemble était connu pour être impliqué dans l'interaction avec l'inhibiteur I κ B. Des études structurales ont permis de proposer un modèle tri-dimensionnel de l'interaction de I κ B α avec les RHD du complexe p50/p65 (fig.4). Les 6 répétitions ankyrines de I κ B α lient de façon asymétrique l'hétérodimère p50/p65, la plupart des contacts s'effectuant entre I κ B α et p65. Ces études montrent que I κ B α retient les facteurs Rel/NF- κ B dans le cytoplasme en masquant le NLS présent à l'extrémité carboxy-terminale du RHD (35-37).

1.2.2. Les domaines transactivateurs

Les parties carboxy-terminales de c-Rel, ν -Rel, RelA et RelB possèdent la capacité d'activer la transcription de toute une série de gènes cibles. Néanmoins, il existe des différences entre ces membres. Le principal domaine de transactivation de RelA est constitué d'une séquence de résidus acides (28, 38, 39), même si d'autres domaines ayant des capacités transactivatrices ont été mis en évidence (40). C-Rel présente lui aussi un domaine transactivateur acide ainsi qu'une autre région ayant des capacités transactivatrices (41-44). En comparaison, ν -Rel qui ne possède pas ces domaines transactivateurs peut quand même activer la transcription dans quelques cas particuliers (42, 45-47). RelB présente également un domaine transactivateur du côté carboxy-terminal dont l'activité est renforcée par un « Leucine Zipper » situé à l'extrémité amino-terminale de la protéine (voir fig.1) (48).

1.2.3. Les domaines ankyrines

Les parties carboxy-terminales de la p100 et de la p105 sont composées de 7 répétitions ankyrines, lesquelles sont des séquences d'une trentaine d'acides aminés permettant des interactions protéines-protéines. Ces répétitions permettent d'interagir avec les autres membres de la famille Rel/NF- κ B et de les séquestrer dans le cytoplasme (49, 50). Des séquences riches en glycine intercalées entre le RHD et les répétitions ankyrines semblent jouer un rôle dans la maturation des précurseurs p105 et p100 en p50 et p52 respectivement (51, 52). La séquence PEST, séquence de destabilisation protéique, pourrait être aussi impliquée dans la dégradation de la partie C-terminale de la p100 et de la p105 (53, 54).

Pendant cette description rapide des membres de la famille Rel/NF- κ B, la présence et l'importance des protéines inhibitrices de la famille I κ B dans la régulation de l'activité Rel/NF- κ B ont été plusieurs fois soulignée. La prochaine partie de l'introduction sera une présentation des mécanismes de contrôle de l'activité Rel/NF- κ B, avec, comme il se doit, une place centrale pour la famille I κ B.

1.3. Activation et inhibition des facteurs Rel/NF- κ B

1.3.1. Les protéines inhibitrices I κ B

Les protéines de la famille I κ B (fig.5) sont constituées de répétitions ankyrines qui leur permettent d'interagir avec les dimères Rel/NF- κ B et ainsi d'inhiber leur activité. Ces protéines peuvent être classées en 2 sous-familles. La première, constituée de la p100 et de la p105 (55), contient en plus des répétitions ankyrines, un RHD comme nous l'avons vu précédemment. Les protéines de la deuxième sous-famille contiennent uniquement des séquences ankyrines. Cette sous-famille comprend I κ B α , qui en est le membre le plus étudié (56), I κ B β (57, 58), I κ B γ , qui est identique à la partie C-terminale de la p105 (59, 60), I κ B ϵ (61) et Bcl-3 (62, 63). Ces protéines I κ B présentent des affinités différentes pour toutes les combinaisons de dimères Rel/NF- κ B. Par exemple, I κ B α et I κ B β fixent préférentiellement c-Rel ou RelA, alors que Bcl-3 fixe uniquement des dimères composés de p50 et p52 (31, 57, 64) et I κ B ϵ uniquement des dimères contenant c-Rel ou RelA (61). En comparaison, la p100 et la p105 présentent peu de spécificité puisqu'elles peuvent lier c-Rel, RelA, p50, p52 (55, 65) et RelB, lequel inversement ne peut lier que la p100 ou la p105 (66).

Dans la suite de l'exposé je parlerai essentiellement de I κ B α parce qu'il est le membre pour lequel on a le plus de données, de I κ B β qui peut être à la fois activateur ou inhibiteur de l'activité Rel/NF- κ B et de Bcl-3 puisqu'il semble être activateur de certains dimères Rel/NF- κ B.

1.3.2. Mécanismes moléculaires d'inhibition des facteurs Rel/NF- κ B par I κ B α

Nous venons de voir que les protéines I κ B peuvent interagir avec les dimères Rel/NF- κ B. Maintenant nous allons voir comment, par cette interaction, I κ B α exerce ses effets inhibiteurs sur les facteurs de transcription Rel/NF- κ B.

Le premier mécanisme par lequel I κ B α inhibe l'activité Rel/NF- κ B est la rétention dans le cytoplasme de ces derniers. En fait, l'interface d'interaction entre l'inhibiteur et le dimère masque les NLS du dimère. Ceci a été démontré par co-cristallographie de I κ B α avec les RHD de l'hétérodimère p50/p65 (35, 36). Chaque répétition ankyrine de I κ B α est formée de 2 hélices α interne et externe reliées par une boucle. Les 6 répétitions sont reliées entre elles par un tour β (fig.6). C'est l'ensemble de cette structure qui lie l'hétérodimère p50/p65 et les 2 premières répétitions ankyrines qui masquent le NLS de l'hétérodimère.

Le second mécanisme d'inhibition par I κ B α de l'activité des facteurs Rel/NF- κ B est le déplacement de ces dimères de l'ADN où ils contrôlent la transcription de leurs gènes cibles. La protéine I κ B α libre est capable d'entrer dans le noyau grâce à sa capacité à interagir avec une protéine non identifiée possédant un NLS (67). Dans le noyau I κ B α pourra interagir avec les dimères p50/p65 (fig.4), et déstabiliser l'interaction ADN-p50/p65. En effet, I κ B α , par sa séquence acide PEST, induit une large rotation du NTD du RHD de p65 impliqué dans l'interaction avec l'ADN, et déplace ainsi les dimères p50/p65 de l'ADN (35-37).

Le troisième mécanisme d'inhibition de l'activité Rel/NF- κ B par I κ B α est l'exportation du noyau des complexes I κ B α -p50/p65 formés, après levée de l'interaction ADN-p50/p65. En effet, une séquence d'exportation nucléaire (NES) a été identifiée dans la partie C-terminale de I κ B α (68, 69).

1.3.3. Mécanismes moléculaires d'activation des facteurs Rel/NF- κ B

De nombreux agents induisent une activité Rel/NF- κ B. Nous citerons entre autres de nombreuses cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β ...), les radiations ionisantes, de nombreuses protéines bactériennes (LPS...) et virales (LMP-1...)... (pour revue voir (70)). Une bonne partie d'entre eux agissent en induisant la dégradation des protéines I κ B.

Cette dégradation de I κ B dépend de sa phosphorylation sur 2 résidus serine localisés du côté N-terminal. Par exemple, les protéines I κ B α et I κ B β sont phosphorylées sur les

résidus serine 32 et 36 et sur les résidus serine 19 et 23 respectivement (pour revue voir (8, 71, 72)). Ces 2 résidus phosphorylés sont un signal pour l'ubiquitination de résidus lysine situés à proximité, via l'E3 ubiquitine ligase (73, 74). IκB phosphorylé et ubiquitiné est ensuite spécifiquement dégradé par le protéasome 26S, démasquant le NLS des dimères Rel/NF-κB (74).

Nous venons de voir que la phosphorylation de IκB est l'élément initiateur pour sa dégradation et par conséquent l'activation des facteurs Rel/NF-κB. Pour comprendre la transduction du signal qui aboutit à l'induction d'une activité Rel/NF-κB, un élément clé a été l'identification des kinases qui phosphorylent IκB.

Un premier pas a été franchi en 1996 lorsqu'a été décrite la phosphorylation de IκBα par un complexe kinasique de haut poids moléculaire d'environ 700kDa (75). L'année suivante, 2 groupes ont identifié 2 kinases actives dans ce complexe, IKKα et IKKβ, qui peuvent s'homo- ou s'hétéro-dimériser. Ces kinases phosphorylent directement IκBα et IκBβ sur les 2 résidus serine connus pour être normalement phosphorylés. Un troisième élément de ce complexe a été cloné par différents groupes et nommé : NEMO pour « NF-κB Essential Modulator » (76), IKKAP-1 pour « IKK Associated Protein-1 » (77), ou IKKγ (78). NEMO, présent à plusieurs exemplaires dans un même complexe, est une protéine sans activité kinase propre mais essentielle à l'activité kinase du complexe. IKKα et IKKβ interagissent via leur domaine d'interaction « Helix-Loop-Helix » et interagissent avec NEMO via leur « Leucine Zipper » (fig.7). Ce complexe composé de IKKα, IKKβ et NEMO est communément appelé « IKK signalsome ». La complexité s'est accrue depuis qu'une autre kinase, appelée IKKε, a été décrite; néanmoins celle-ci ne participe pas à l'activation de l' « IKK signalsome » par le TNF-α, l'IL-1β et les LPS. L'IKKε serait spécifique de la voie activée par le PMA (79). Une autre protéine appelée Act, pour « NF-κB Activator 1 », ou CIKS, pour « Connection to IKK and SAPK », peut interagir avec NEMO et activer l' « IKK signalsome »; de plus, cette protéine active la voie SAPK/JNK. Ainsi elle ferait le lien entre les voies IKK et SAPK/JNK montrant l'existence de points de croisements entre les différentes voies de signalisation (80, 81). A noter que les IKKs pourraient catalyser, en plus de la phosphorylation des IκBs, la phosphorylation de p65 dans un domaine transactivateur, sur le résidu sérine 536. Cette phosphorylation pourrait accroître l'activité transcriptionnelle de RelA (voir paragraphe 1.4.) (82).

1.3.4. Activation inductible transitoire ou persistante des facteurs Rel/NF- κ B

Comme cela a été précisé précédemment, les facteurs Rel/NF- κ B sont ubiquistes mais le plus souvent ils sont inactifs parce que retenus dans le cytoplasme par les protéines I κ B. Parmi les nombreux stimuli qui peuvent induire l'activité des facteurs Rel/NF- κ B, le TNF- α est celui dont le mécanisme a été le plus étudié. Le TNF- α , par sa fixation à son récepteur, va induire l'agrégation et l'activation des protéines (TRADD, RIP, TRAF et NIK) conduisant à l'activation des I κ B kinases de l'« IKK signalsome » et donc à la relocalisation rapide des dimères Rel/NF- κ B dans le noyau, où ceux-ci pourront activer la transcription de leurs gènes cibles. Les facteurs Rel/NF- κ B comptent parmi leurs gènes cibles certains inhibiteurs de la famille I κ B : la p105 (83), la p100 (84) et I κ B α (85-87). Dans le cas d'I κ B α , la protéine néo-synthétisée pourra pénétrer dans le noyau via son NLS, déplacer les dimères Rel/NF- κ B de l'ADN et exporter ces dimères du noyau vers le cytoplasme via son NES (fig.8). Ce mécanisme est le prototype d'une induction transitoire de l'activité Rel/NF- κ B.

Néanmoins, cette induction peut être persistante. Par exemple dans des cellules pré-B, les LPS ainsi que l'IL-1 β induisent la dégradation de I κ B α et de I κ B β , avec une cinétique plus lente pour I κ B β , alors que le PMA induit seulement la dégradation de I κ B α . Dans ces cellules stimulées aux LPS et à l'IL-1 β , l'activité Rel/NF- κ B persiste même après la néo-synthèse de I κ B α . En fait, I κ B β est lui aussi néo-synthétisé après l'induction de l'activité Rel/NF- κ B, par un mécanisme encore inconnu, mais il reste hypophosphorylé. I κ B β sous sa forme hypophosphorylée peut toujours se lier aux dimères Rel/NF- κ B, mais il est incapable de masquer leur NLS et d'empêcher leur liaison à l'ADN; en plus il protège ces dimères Rel/NF- κ B de l'inhibition par I κ B α (fig.9) (88-91). La différence dans la cinétique de dégradation de I κ B α et de I κ B β pourrait être due à l'interaction spécifique de I κ B β , quand il est sous forme de complexe avec les dimères Rel/NF- κ B, avec 2 protéines d'une sous-classe de la famille Ras, κ B-ras1 et κ B-ras2. L'interaction de la séquence PEST de I κ B β avec les protéines κ B-ras diminue leur taux de dégradation par le protéasome (92).

1.3.5. Activité Rel/NF- κ B constitutive

Comme nous venons de le voir une activité Rel/NF- κ B peut être induite de façon transitoire, c'est le mécanisme le plus souvent décrit, ou de façon persistante. Néanmoins, il

existe dans certaines cellules une activité Rel/NF- κ B constitutive. C'est ce qui se passe durant la maturation des cellules B. Il est intéressant de noter que durant cette maturation il y a des changements dans la composition des dimères actifs (93, 94). Une activité constitutive a également été mise en évidence dans des thymocytes (95, 96) et dans des monocytes/macrophages (97-99). Une activité constitutive a également été mise en évidence dans des sous-catégories de neurones de l'hippocampe et du cortex cérébral (100, 101). Durant la spermatogenèse, une activité constitutive est observée dans les spermatocytes juste avant la division méiotique et dans les spermatides juste après la méiose, ainsi que dans les cellules de Sertoli qui supportent les cellules germinales en développement (102). Plus récemment, une activité constitutive a été mise en évidence dans l'épiderme, dans quelques cellules de la couche basale, probablement dans les cellules qui s'engagent vers la différenciation terminale (103) et dans les cellules qui sont sorties de cette couche et qui sont déjà engagées dans la différenciation terminale (104). Nous citerai enfin un dernier exemple d'activité Rel/NF- κ B constitutive, parce qu'elle est différente des cas précédents qui impliquaient tous des dimères Rel/NF- κ B contenant au moins une sous-unité transactivatrice. Dans les tumeurs mammaires, une activité constitutive a été décrite, mais elle concernerait essentiellement les dimères p50/p52 transcriptionnellement actifs parce que liés à Bcl-3 (105).

Les mécanismes conduisant à cette activité constitutive ne sont pas toujours connus. Néanmoins dans les cellules B il a été montré qu'I κ B α est beaucoup moins stable que dans d'autres cellules où cette activité constitutive n'existe pas. I κ B α serait dégradé dans ces cellules par un mécanisme indépendant de l'activité du protéasome (106, 107).

Après avoir passé en revue les données principales sur la structure des dimères Rel/NF- κ B, leur inhibition et leur activation, nous allons examiner comment ces facteurs contrôlent la transcription de leurs gènes cibles.

1.4. Contrôle transcriptionnel

Les dimères Rel/NF- κ B, une fois libérés de leurs inhibiteurs, peuvent pénétrer dans le noyau et se fixer sur des séquences d'ADN spécifiques : des séquences décarnériques, représentant un quasi-palindrome, dont le consensus est 5'-GGGRNYYYCC-3' où R est une

purine, Y une pyrimidine et N un nucléotide quelconque. Même si les dimères Rel/NF- κ B sont globalement capables de reconnaître les mêmes séquences, ils présentent des affinités différentes pour chaque variant de la séquence consensus, sans oublier qu'ils peuvent dans certains cas fixer des séquences relativement éloignées de ce consensus (24, 29, 108-112).

Une fois fixés à l'ADN, ces dimères vont interagir avec d'autres facteurs : des co-facteurs qui font généralement le lien avec la machinerie transcriptionnelle basale ou directement des éléments de cette machinerie. Il semble, même si cela a été rarement décrit, que ces interactions nécessitent des modifications post-traductionnelles, au moins sur p65 dans le dimère p50/p65. La sous-unité catalytique de la protéine kinase A (PKAc) peut s'associer au complexe I κ B α -p50/p65. C'est seulement après la dégradation de I κ B α que la PKAc va phosphoryler, de manière dépendante de l'AMPc, p65 au niveau de la serine 276. La phosphorylation de cette serine augmente l'activité transcriptionnelle du dimère en facilitant l'interaction avec les co-activateurs transcriptionnels CBP (« CREB binding protein ») et p300 (113). Une autre étude a montré que la PI-3 kinase, en réponse à l'IL-1 β , phosphoryle p65 sur un résidu non identifié, indépendamment, cette fois-ci, de la dégradation de I κ B α . Cette phosphorylation augmente le pouvoir transcriptionnel de p65 (114). Une dernière étude a montré que p65 est phosphorylé sur son résidu serine 529 après une activation par le TNF- α . Cette phosphorylation est indépendante de la phosphorylation sur le résidu serine 276, puisque la mutation de cette serine 276 n'affecte pas la phosphorylation de la serine 529. Cette phosphorylation n'affecte ni la translocation, ni la liaison à l'ADN des dimères contenant RelA, mais semble accroître l'activité transcriptionnelle de ce dimère (115, 116). La serine 529 est située dans le domaine transactivateur acide de p65, lequel domaine est impliqué dans l'interaction avec la TBP (« TATA-binding protein ») et avec certains TAF (« TBP-associated factor »), ou avec certains facteurs généraux de la transcription. Il est donc possible que la phosphorylation de la serine 529 facilite les contacts avec toutes ces protéines. A noter que c-Rel peut lui aussi interagir avec une partie de ces protéines via son domaine transactivateur acide (39, 117-122).

Les dimères p50/p65 peuvent également interagir avec des co-répresseurs transcriptionnels tels que SMRT (« Silencing mediator of retinoic acid transcription ») qui réprime la transcription par son activité histone-déacetylase (123). La p65 peut également interagir avec un autre co-répresseur nommé AES (« Amino-terminal enhancer of split ») ce qui conduit à la répression de gènes dépendants de p50/p65, tel que l'IL-6 (124).

Après cette présentation générale, non exhaustive, sur le fonctionnement des facteurs Rel/NF- κ B, nous allons maintenant nous intéresser à ce qui concerne directement mon travail de thèse, à savoir l'implication de ces facteurs dans le contrôle de l'apoptose et de la prolifération.

2. Implication des facteurs Rel/NF- κ B dans l'apoptose et la prolifération

L'apoptose ou mort cellulaire programmée se caractérise par une suite d'événements rapides : condensation cellulaire, invagination, fragmentation de protéines, condensation de la chromatine, dégradation de l'ADN, formation de corps apoptotiques... suivis de la phagocytose de cette cellule mourante par les cellules voisines. Le programme apoptotique met en jeu l'activation de cystéine protéases nommées caspases. La famille des caspases peut être subdivisée en 2 sous catégories : les caspases en amont ou caspases effectrices et les caspases en aval ou caspases exécutoires. Les caspases en amont vont essentiellement servir à transduire et amplifier le signal apoptotique vers les caspases en aval, celles qui clivent spécifiquement de nombreux substrats. Par exemple, le clivage de I-CAD (inhibitory of caspase-activated Dnase) par la caspase 3 permet la libération de la nucléase CAD (caspase-activated Dnase) qui coupe l'ADN génomique entre les nucléosomes. L'initiation du processus apoptotique a essentiellement lieu au niveau de 2 sites cellulaires, la membrane par les récepteurs à domaine de mort ou les mitochondries. Ces 2 voies peuvent indépendamment induire l'apoptose, néanmoins la voie mitochondriale renforce régulièrement la voie activée par les récepteurs à domaine de mort via un intermédiaire moléculaire, Bid, qui est activé par clivage par la caspase 8, caspase activée par les récepteurs à domaine de mort. Le processus apoptotique met en jeu de nombreux acteurs moléculaires qui agissent positivement ou négativement sur l'activation des caspases. De nombreuses protéines vont inhiber l'activation des caspases : c-Flip, les IAPs, les membres anti-apoptotiques de la famille Bcl-2... D'autres vont au contraire activer les caspases : les membres pro-apoptotiques de la famille Bcl-2, de nombreuses protéines mitochondriales quand elles seront relarguées dans le cytoplasme comme Apaf1, le cyt.c, les AIF, Smac... L'apoptose est impliquée dans de nombreux processus normaux tels que la morphogenèse de différents organes, la sélection négative de cellules indésirables telles que les neurones ayant établis de mauvaises connexions ou des thymocytes reconnaissant des peptides du soi. Une mauvaise régulation du processus apoptotique conduira à l'apparition de nombreuses pathologies telles que des défauts pendant

le développement, des maladies auto-immunes, neuro-dégénératives ou à l'apparition de cancer (pour revue voir (125-132)).

La prolifération cellulaire est sous le contrôle de nombreuses protéines. La progression de la cellule dans toutes les phases du cycle cellulaire dépend essentiellement de l'activation de complexes CDK-cycline spécifiques. L'activité de ces complexes CDK-cycline est inhibée par la présence de CKI. Il existe 2 familles de CKI : la 1^{ère} inhibe un large spectre de complexes CDK-cycline (p21, p27 et p57) alors que la 2^{ème} est spécifique du complexe CDK4-cyclineD (p14, p15, p16 et p18). D'une façon générale on reconnaît 2 voies de contrôle du cycle cellulaire : la voie Rb et la voie p53. De façon très succincte, p16 en inhibant l'activité du complexe CDK4-cyclineD inhibe la phosphorylation de Rb et permet donc de maintenir Rb sous sa forme hypophosphorylée, forme permettant la rétention sous forme inactive de E2F, facteur de transcription induisant l'expression de protéines nécessaires à la prolifération des cellules. D'autre part, p14 participe à la stabilisation de p53, qui induit p21, lequel inhibe l'activité de complexes CDK-cycline. Des protéines impliquées dans le contrôle de la prolifération, telles que p53 et E2F pourront également participer au processus apoptotique. Comme pour l'apoptose, un dysfonctionnement dans le contrôle de la prolifération conduira à l'apparition de pathologies comme les cancers. Bien sûr, des dysfonctionnements, et dans le contrôle de l'apoptose (diminuer), et dans le contrôle de la prolifération (augmenter) agiront en synergie pour augmenter la croissance cellulaire favorisant ainsi l'apparition de cancer (pour revue voir (133-143)).

Un ensemble de données suggère une implication des facteurs Rel/NF- κ B dans la survenue de cancer donc dans le contrôle de l'apoptose et de la prolifération. D'abord v-Rel, l'homologue viral de c-Rel, provoque l'apparition de tumeurs chez le poulet. De plus, des régions génomiques codant certains facteurs Rel/NF- κ B présentent des réarrangements et amplifications dans plusieurs cancers humains (pour revue voir (144-146)). Une activation constitutive Rel/NF- κ B a été mise en évidence dans des processus de transformation induit par LMP1 (147), dans la carcinogénèse de la peau (148), dans des cancers mammaires (105, 149), dans des carcinomes hépatiques (150), ainsi que dans des lymphomes (151). De nombreuses études destinées à caractériser le rôle des facteurs Rel/NF- κ B dans l'apoptose et la prolifération ont été réalisées, menant parfois à des résultats cohérents, parfois à des résultats qui le sont moins. Deux grands types de stratégies ont été utilisés, l'inhibition des facteurs Rel/NF- κ B ou au contraire l'induction d'une activité Rel/NF- κ B transitoire ou

constitutive, et l'analyse des phénotypes résultants. Ces 2 stratégies ont été réalisées *in vitro* et/ou *in vivo* selon les cas.

2.1. Les facteurs Rel/NF- κ B dans l'apoptose

2.1.1. Des facteurs anti-apoptotiques

La délétion chez la souris de *rela* a des effets majeurs sur l'apoptose puisque les embryons *rela* *-/-* meurent entre E15 et E16 à cause d'une apoptose massive dans le foie. Ces résultats suggèrent que RelA est nécessaire à la survie des cellules hépatiques (152). La délétion de c-Rel ou de NF- κ B1 a un effet plus discret sur l'apoptose. En effet, la délétion de l'un ou l'autre de ces membres induit une augmentation d'apoptose des lymphocytes B stimulés par des agents mitogènes (153). Néanmoins, la délétion de différents autres membres de la famille Rel/NF- κ B ou I κ B induit peu d'effets sur l'apoptose (154-157). Dans la plupart des cas on pense que la redondance fonctionnelle entre les facteurs Rel/NF- κ B explique pourquoi la délétion de la plupart des membres n'induit aucun phénotype majeur sur l'apoptose. Cette hypothèse est confortée par le phénotype des embryons déficients à la fois en RelA et c-Rel, qui meurent encore plus précocement (E13.5) par apoptose massive du foie (158). L'inactivation des différents composants de l'« IKK signalsome », qui contrôle la dégradation de I κ B, a fourni d'autres informations sur le rôle des facteurs Rel/NF- κ B. La délétion de *ikkb* induit, comme précédemment, la mort de l'embryon par apoptose massive du foie entre E12.5 et E14. Le TNF- α ou l'IL-1 α ne peuvent induire une activité Rel/NF- κ B dans des fibroblastes dérivés de ces embryons, confirmant la perte d'activité inductible Rel/NF- κ B (159). Par contre, la délétion de *ikka* n'induit ni cette létalité embryonnaire, ni cette apoptose massive du foie. Mais les fibroblastes dérivés de ces embryons présentent toujours une activation des facteurs Rel/NF- κ B en réponse au TNF- α , à l'IL-1 β ou au LPS (103, 160). Ceci indique, et cela a été confirmé par une autre étude, que IKK α n'est pas nécessaire à l'activation des facteurs Rel/NF- κ B en réponse à ces agents proinflammatoires (161). La délétion de *nemo*, la sous unité non catalytique de l'« IKK signalsome », induit également une létalité embryonnaire entre E12.5 et E13 par apoptose massive du foie, et les fibroblastes dérivés de ces embryons ne présentent aucune activité Rel/NF- κ B en réponse à ces différentes cytokines (162). L'ensemble de ces données montre que IKK β et NEMO sont nécessaires à la stimulation d'une activité Rel/NF- κ B en réponse à des cytokines

inflammatoires et que cette activité est nécessaire à la survie de l'embryon et en particulier à la survie des cellules hépatiques. Les fibroblastes dérivés des souris RelA^{-/-} présentent une sensibilité accrue à l'apoptose induite par le TNF- α (163). Les embryons RelA^{-/-}-TNF^{-/-} ou TNFR1^{-/-}-IKK β ^{-/-}, résultant des croisements entre souris RelA^{+/-} et TNF^{-/-} ou TNFR1^{-/-} et IKK β ^{+/-} respectivement, sont viables sans apoptose des cellules du foie (159, 164). L'ensemble de ces résultats montre l'importance de l'activité Rel/NF- κ B inductible par le TNF- α , dans la résistance des cellules hépatiques contre l'effet cytotoxique du TNF- α , pendant le développement embryonnaire.

Dans le même esprit, la surexpression ciblée de I κ B α dans l'épiderme montre l'implication des facteurs Rel/NF- κ B dans la survie des kératinocytes. En effet, l'inhibition de l'activité Rel/NF- κ B dans l'épiderme conduit à une augmentation de l'apoptose spontanée des kératinocytes (165).

Parallèlement à ces magnifiques travaux *in vivo*, de nombreuses études *in vitro* ont montré et confirmé cette fonction anti-apoptotique des facteurs Rel/NF- κ B. Tout d'abord de nombreux agents, tels que l'insuline dans des CHO, Akt dans des fibroblastes, l'intégrine α 5 β 3 dans les cellules endothéliales, ou les LPS dans des cellules dérivées d'un lymphome exercent leur activité anti-apoptotique via l'induction d'une activité Rel/NF- κ B (166-169). De plus, la surexpression directe de c-Rel ou RelA protège de l'apoptose induite par le TNF- α et par le FasL dans les cellules HeLa (170, 171). L'inhibition des facteurs Rel/NF- κ B, obtenue en surexprimant un I κ B α super-répresseur, c'est-à-dire non phosphorylable et donc non dégradable, ou par traitement par des inhibiteurs pharmacologiques, induit une sensibilisation des cellules B, de cellules dérivées de fibrosarcomes ou de cellules épithéliales, à différents traitements pro-apoptotiques (172-175).

2.1.2. Des facteurs pro-apoptotiques

Comme nous venons de le voir, de nombreuses études montrent que les facteurs Rel/NF- κ B sont des facteurs anti-apoptotiques. Cependant, il est également établi que les facteurs Rel/NF- κ B peuvent aussi se comporter comme des facteurs pro-apoptotiques. Ce rôle a été suggéré en 1993 au laboratoire avant même que les effets anti-apoptotiques aient été démontrés. En effet, l'induction et l'activation de *c-rel* est associée à la survenue de l'apoptose, et sa surexpression peut induire l'apoptose dans des cellules dérivées de la moelle osseuse. Cet effet est spécifique du type cellulaire puisqu'il n'est pas observé dans des

fibroblastes embryonnaires (176, 177). La surexpression de RelA induit également l'apoptose de lignées cellulaires pro-B (178).

L'induction d'une activité Rel/NF- κ B peut induire l'apoptose dans de nombreuses situations. Par exemple, les facteurs Rel/NF- κ B sont impliqués dans l'apoptose induite par la privation de sérum dans des cellules B et des cellules 293 (179, 180), par une ischémie cérébrale focale (181) et par le facteur de transcription p53 dans des cellules dérivées d'ostéosarcome (182).

D'autre part, l'inhibition de l'activité Rel/NF- κ B protège de l'apoptose induite par différents agents. L'inhibition de l'activité Rel/NF- κ B par la p38 MAPK protège de l'apoptose induite par les UV dans des mélanocytes (183). L'inhibition de l'activité Rel/NF- κ B par l'acide salicylique protège de l'apoptose induite par le glutamate dans des neurones (184) ou bien l'inhibition de cette activité par l'inhibiteur pharmacologique PDTC protège de l'apoptose induite par l'étoposide ou par l'arabinofuranosylcytosine dans des promyélocytes (185). Enfin, les souris dépourvues de IKK α présentent une diminution de l'apoptose au niveau du mésenchyme interdigital, suggérant que les facteurs Rel/NF- κ B dans ce tissu et à ce stade de développement exercent un effet pro-apoptotique (160).

L'ensemble de ces données montre que les facteurs Rel/NF- κ B sont impliqués dans l'apoptose mais avec des effets complètement opposés puisqu'ils peuvent être pro- ou anti-apoptotiques, en fonction de mécanismes inconnus.

2.1.3. Mécanismes d'action des facteurs Rel/NF- κ B dans l'apoptose

Les membres de la famille Rel/NF- κ B sont des facteurs de transcription. Tout naturellement pour comprendre les mécanismes cellulaires engagés par ces facteurs dans le contrôle de l'apoptose, l'on a recherché les gènes dont ils régulent l'expression. Plusieurs gènes cibles impliqués dans la fonction anti-apoptotique ont été décrits; par contre, beaucoup moins ont été clairement impliqués dans la fonction pro-apoptotique.

Comme nous l'avons vu précédemment, les facteurs Rel/NF- κ B sont particulièrement impliqués dans la protection contre l'apoptose induite par le TNF- α . Celui-ci active son récepteur, le TNFR1, qui contient un domaine d'interaction protéine-protéine appelé le domaine de mort dans sa partie intra-cytoplasmique. Il a déjà été montré que les facteurs Rel/NF- κ B protègent de l'apoptose quand celle-ci est initiée par différents récepteurs à

domaine de mort : TRAILR, TNFR et Fas (170, 175, 186, 187). Le TNFR activé va recruter les protéines TRADD et FADD, deux autres protéines à domaine de mort. FADD possède un 2^{ème} domaine d'interaction protéine-protéine appelé DED pour « death effector domain » qui lui permet de recruter et d'activer la caspase-8. La caspase-8 activée va ensuite cliver et activer les caspases en aval et/ou va activer Bid en le clivant, un membre pro-apoptotique de la famille Bcl-2. La relocalisation dans la mitochondrie de Bid clivé entraîne la libération du cytochrome c et la cascade d'événements qui s'ensuit. Les récepteurs à domaine de mort, tels que TRAILR et Fas, induisent l'apoptose via les mêmes intermédiaires moléculaires (125, 188-190). Les facteurs Rel/NF- κ B pourront exercer leurs effets anti-apoptotiques à différents niveaux dans la voie de transduction du signal apoptotique, du récepteur jusqu'aux effecteurs de l'apoptose et avec 2 sites d'action privilégiés : au niveau du récepteur où la première caspase est activée ou au niveau mitochondrial où le signal est intégré et amplifié.

L'expression des protéines c-IAP1, c-IAP2 et XIAP (« Inhibitor of Apoptosis Protein ») peut être induite par les facteurs Rel/NF- κ B après activation de ceux-ci par le TNF- α et ainsi exercer un effet anti-apoptotique (191-194). L'expression des protéines TRAF1 et TRAF2 (« TNF Receptor Associated Factor ») peut également être induite par les facteurs Rel/NF- κ B en réponse au TNF- α et exercer un effet anti-apoptotique (193, 195). Les protéines c-IAP1, c-IAP2, TRAF1 et TRAF2 pourraient agir de façon synergique pour bloquer l'activation de la caspase-8, caspase en amont de la cascade de caspases, au niveau du TNFR (193). Les protéines IAP peuvent également directement lier et inhiber l'activité de certaines caspases (la 3, la 7 et la 9), plutôt les caspases en aval de la cascade de caspase (pour revue voir (196)). L'expression de la protéine A20 induite par les facteurs Rel/NF- κ B peut également exercer un effet anti-apoptotique. Les propriétés anti-apoptotiques de A20 sont illustrées par le fait que les souris déficientes en A20 présentent une hypersensibilité au TNF- α (197-199). La plupart de ces protéines peuvent interagir entre elles, directement ou indirectement, au niveau du récepteur. Il a été montré par exemple que le TNFR peut interagir avec TRAF2 et TRAF1 (200, 201), avec les IAP (200) ou avec A20 (202), TRAF2 peut interagir avec les IAP (200, 203) ou avec A20 (204, 205). Toutes ces protéines interférant avec la transduction du signal à partir du TNFR vont donc en plus de leur effet anti-apoptotique modifier positivement ou négativement l'activation des facteurs Rel/NF- κ B en réponse au TNF- α (190, 192, 199, 205, 206-208). Cela suggère l'existence de boucles de régulation positives et négatives entre ces différentes protéines et l'activité Rel/NF- κ B.

Outre le site d'induction du signal pro-apoptotique au niveau du TNFR où les facteurs Rel/NF- κ B peuvent exercer un premier effet anti-apoptotique, il semble qu'ils puissent également exercer un effet anti-apoptotique au niveau de la mitochondrie. En effet, l'expression de protéines de la famille Bcl-2, Bcl-2 lui-même, Bcl-x_L ou Bfl1/A1, peut être induite par les facteurs Rel/NF- κ B et ainsi exercer un effet anti-apoptotique, notamment pour protéger de l'apoptose induite par le TNF- α (209-215). Il semble, le plus souvent, que seules quelques unes de ces protéines anti-apoptotiques sont induites dans un contexte donné (193, 195, 216). Les facteurs Rel/NF- κ B pourraient aussi agir par d'autres mécanismes, par exemple une activité Rel/NF- κ B induirait l'expression de p21, laquelle serait nécessaire à l'effet anti-apoptotique des facteurs Rel/NF- κ B contre l'apoptose induite par le TNF- α (217). De façon surprenante, les facteurs Rel/NF- κ B pourraient également avoir un effet anti-apoptotique indépendamment de leur activité transcriptionnelle (218).

L'activation des caspases pendant le processus apoptotique pourrait induire l'inactivation des facteurs Rel/NF- κ B soit par clivage de I κ B α et formation d'un inhibiteur non dégradé et donc constitutif, ou soit par clivage de p65 et p50 et formation de mutants dominants négatifs. L'apoptose pourrait alors se dérouler parce qu'elle ne serait plus inhibée par les facteurs Rel/NF- κ B actifs (219-221).

Très peu de gènes cibles pro-apoptotiques régulés par les facteurs Rel/NF- κ B ont été caractérisés. Les inhibiteurs de topoisomérase II, l'étoposide et le téniposide, induisent l'apoptose de lignées T. Cette apoptose nécessite l'expression du FasL, laquelle est contrôlée par les facteurs Rel/NF- κ B (222, 223). L'expression de Fas, le récepteur du FasL, pourrait aussi être régulée par les facteurs Rel/NF- κ B (224). Paradoxalement, les facteurs Rel/NF- κ B possèdent la capacité de protéger de l'apoptose induite par le FasL (170).

Les autres mécanismes par lesquels les facteurs Rel/NF- κ B pourraient induire l'apoptose sont encore très discutés. Les facteurs Rel/NF- κ B pourraient induire l'apoptose dans des cellules pro-B en réprimant l'expression du gène de survie Bcl-2 (225) mais d'autres données suggèrent que les facteurs Rel/NF- κ B protégeraient les cellules B de l'apoptose en induisant l'expression de Bcl-2 (209). Bcl-2 pourrait exercer une partie de son activité anti-apoptotique en régulant l'activité Rel/NF- κ B. Bcl-2 réprimerait l'activité Rel/NF- κ B en diminuant le potentiel transactivateur de p65, suggérant un effet pro-apoptotique des facteurs Rel/NF- κ B (180). De façon contradictoire, Bcl-2 pourrait exercer une partie de son action

anti-apoptotique en déstabilisant $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ et en induisant les facteurs Rel/NF- κB , suggérant un effet anti-apoptotique des facteurs Rel/NF- κB (226).

La p53, protéine qui participe au contrôle de l'apoptose, et les facteurs Rel/NF- κB peuvent être en relation. D'abord, un ensemble de données suggère que p53 peut être induit transcriptionnellement ou stabilisé selon les cas, par les facteurs Rel/NF- κB (227, 228). A l'inverse, p53 pourrait induire une activité Rel/NF- κB (182). Dans d'autres cas, ces facteurs pourraient s'inhiber mutuellement, soit par compétition pour les cofacteurs transcriptionnels CBP/p300, soit par interaction protéine-protéine directe (229-231). Sur un plan fonctionnel, on retrouve ces contradictions. En effet, lors d'une induction d'apoptose p53-dépendante par la doxorubicine, p53 médierait son effet pro-apoptotique via l'induction d'une activité Rel/NF- κB , alors que lors d'une induction d'apoptose p53-dépendante par des radiations aux rayons X, p53 médierait son effet pro-apoptotique via l'inhibition d'une activité Rel/NF- κB (182, 232).

A travers ce paragraphe, nous avons vu que les facteurs Rel/NF- κB agissent clairement sur l'apoptose. Néanmoins, de nombreuses contradictions et questions soulignées subsistent. Dans le vaste monde Rel/NF- κB , il y a un consensus pour dire que de nombreuses drogues anti-cancéreuses telles que la camptothécine, la daunomycine, l'étoposide, le cisplatine, le taxol... vont induire une activité Rel/NF- κB (233-235). Par contre, il y a de nombreuses contradictions pour savoir si cette induction des facteurs Rel/NF- κB se traduit par un effet anti- ou pro-apoptotique, avec pour finalité de cette discussion savoir, comme cela est envisagé par certains, si l'inhibition de l'activité Rel/NF- κB renforcerait l'effet de ces drogues en chimio-thérapie (236). Par exemple, un premier groupe montre qu'une activité Rel/NF- κB serait nécessaire à l'apoptose induite par le taxol (237) alors qu'un second montre que l'inhibition de l'activité Rel/NF- κB sensibiliserait certaines cellules à l'apoptose induite par ce même taxol (238). De façon tout aussi paradoxale, les facteurs Rel/NF- κB peuvent présenter des effets pro-apoptotiques, anti-apoptotiques ou n'avoir aucun effet, en réponse à certaines de ces drogues, comme les inhibiteurs de topoisomérase. En effet, celles-ci induiraient l'apoptose via l'induction d'une activité Rel/NF- κB (222). Pourtant, l'inhibition d'activité Rel/NF- κB n'a pas d'effet sur la survie des cellules traitées par ces drogues anti-cancéreuses (239), voire même sensibilise les cellules à l'apoptose induite par ces différentes drogues (240, 241).

2.2. Les facteurs Rel/NF- κ B dans la prolifération

Comme pour l'apoptose, les données sur les effets des facteurs Rel/NF- κ B sur le contrôle de la prolifération sont contradictoires puisque les facteurs Rel/NF- κ B peuvent avoir des effets anti- ou pro-prolifératifs.

Par exemple, les cellules B et T matures, issues de souris c-Rel^{-/-}, n'auront plus la capacité de répondre à divers stimuli mitogéniques suggérant une action pro-proliférative de c-Rel dans ce cas particulier (153, 157). Mais de façon opposée, des souris qui expriment un mutant dominant négatif de c-Rel (la protéine c-Rel dans laquelle le domaine transactivateur a été tronqué) présentent une hyperplasie des cellules lymphoïdes (242). L'induction d'une activité Rel/NF- κ B après une hépatectomie serait nécessaire à la régénération du foie, par son action positive sur le cycle cellulaire, cet effet pro-prolifératif s'ajoutant à un effet anti-apoptotique (243). De la même façon, les facteurs Rel/NF- κ B pourraient présenter un effet anti-apoptotique et pro-prolifératif sur des cellules dérivant de tumeur de Hodgkin (lymphome) (151). D'une manière plus générale, les facteurs Rel/NF- κ B semblent impliqués dans des phénomènes de transformation induits par Raf, Ras dans des hépatocytes ou LMP-1 dans des fibroblastes (147, 244, 245). L'expression stable de I κ B α dans les cellules HeLa ou dans des fibroblastes primaires ralentit la prolifération de ces cellules (246, 247). Parallèlement à ces études, il a été montré que la cycline D1, laquelle est impliquée dans la progression à l'intérieur de la phase G1, pouvait être une cible transcriptionnelle des facteurs Rel/NF- κ B dans des myoblastes et des fibroblastes (246, 248, 249).

En parallèle de ces études qui suggèrent un rôle pro-prolifératif des facteurs Rel/NF- κ B, d'autres montrent au contraire, essentiellement dans des cellules épithéliales, une action anti-proliférative des facteurs Rel/NF- κ B. En effet, les embryons déficients en IKK α présentent une hyperplasie de l'épiderme que l'on peut corrélérer à une absence d'activité Rel/NF- κ B constitutive dans les kératinocytes en cours de différenciation (103, 160). Les embryons *nemo*^{-/-} meurent pendant le développement embryonnaire (162), par contre les embryons *nemo*^{+/-} sont viables et présentent également une hyperplasie de l'épiderme avec une augmentation de la prolifération des kératinocytes (250). Pour confirmer cette action anti-proliférative des facteurs Rel/NF- κ B, d'autres ont montré *in vivo* comme *in vitro* que la surexpression de I κ B α induit une hyperplasie de l'épiderme alors que la surexpression de p50 ou RelA induit une hypoplasie de l'épiderme (104, 251). L'hyperplasie induite par la surexpression de I κ B α peut s'accompagner de la formation spontanée de carcinomes (252).

En culture, les kératinocytes surexprimant RelA ou p50 prolifèrent moins vite et accumulent p21 (sans induction ni stabilisation de p53) (104, 251). La surexpression de c-Rel dans des cellules HeLa bloque la prolifération de ces cellules avec stabilisation de p53 et induction de p21 (228); par contre la surexpression de c-Rel dans des cellules pro-B n'a aucun effet, alors que la surexpression de RelA dans ces cellules bloque la prolifération mais sans accumulation des protéines p53 ou p21 (178).

Ces effets antagonistes (pro et/ou anti) des facteurs Rel/NF- κ B sur l'apoptose et la prolifération sont peu compris. De nombreux auteurs ont regardé pendant longtemps les effets de ces facteurs, uniquement sur la prolifération ou sur l'apoptose. Le point de départ de mon travail a été l'étude, dans un même modèle cellulaire, des effets de la surexpression d'un membre transcriptionnellement actif de la famille Rel/NF- κ B, c-Rel, à la fois sur la prolifération et l'apoptose.

DISCUSSION et CONCLUSION

L'objectif de ce travail était de caractériser les effets de c-Rel sur la prolifération et l'apoptose puis d'essayer de mettre en évidence les mécanismes par lesquels c-Rel pouvait agir sur ces processus.

L'ensemble de nos résultats font ressortir un certain nombre de notions nouvelles quant aux fonctions biologiques de c-Rel.

1. c-Rel peut entraîner la cellule vers un arrêt de prolifération couplé à une résistance à l'apoptose

Les résultats décrits dans le chapitre précédent montrent que c-Rel peut induire dans les cellules épithéliales à la fois un arrêt de prolifération et une résistance à l'apoptose et que ces deux effets sont dûs à l'induction de la MnSOD. L'induction de la MnSOD conduit à l'accumulation de H_2O_2 , lequel participe à l'effet anti-prolifératif de c-Rel. Ces démonstrations ont été obtenues dans les cellules HeLa et nous supposons que ces mêmes événements peuvent survenir dans les kératinocytes puisque la MnSOD y est également induite. Comment H_2O_2 exerce son effet anti-prolifératif n'est pas clair. Néanmoins cet effet pourrait être dû à l'induction de dommages oxydants, notamment sur les macromolécules comme l'ADN nucléaire et mitochondrial. Ces dommages au niveau du noyau pourraient activer des inhibiteurs du cycle cellulaire comme p53 et p21 (268, 291). Néanmoins, dans nos conditions expérimentales, p53 et p21 ne semblent pas impliqués dans l'effet anti-prolifératif de c-Rel (voir paragraphe 5). Le site de production de H_2O_2 par la MnSOD étant la mitochondrie, il est possible que l' H_2O_2 ainsi produit agisse principalement sur la mitochondrie et notamment sur l'ADN et les protéines mitochondriales. Ainsi, H_2O_2 pourrait altérer l'activité mitochondriale, laquelle est nécessaire à la prolifération cellulaire puisqu'elle est le centre de production de l'énergie de la cellule (292, 293).

Dans les cellules HeLa, l'effet anti-apoptotique de la MnSOD après induction de l'apoptose par le TNF- α a été clairement mis en évidence. Il est probable qu'elle participe à cet effet également dans les kératinocytes puisque, dans la littérature, il a été montré que la MnSOD protège de la toxicité du TNF- α dans d'autres types cellulaires (254, 294). La MnSOD seule n'est pas suffisante pour médier l'effet anti-apoptotique contre l'apoptose induite par TRAIL, puisque la seule élimination du récepteur leurre DcR1 suffit à rendre les cellules sensibles à TRAIL. Néanmoins ces résultats n'excluent pas la possibilité que la MnSOD puisse participer, en collaboration avec DcR1, à l'effet protecteur contre l'apoptose

induite par TRAIL. De plus, l'induction de DcR1 semble tissu-spécifique puisqu'elle n'est pas observée dans les kératinocytes, d'après les résultats obtenus par DNA array. L'ensemble de ces données suggère que l'induction de la MnSOD est importante pour l'effet protecteur contre l'apoptose induite par le TNF- α . Nous n'avons pas déterminé pour le moment son rôle éventuel de protection contre d'autres agents pro-apoptotiques producteurs ou non de ROS, et en particulier d' O_2^- .

Ainsi c-Rel, via la MnSOD, pourrait réguler les niveaux de 2 types de ROS dans les mitochondries, l' O_2^- et l' H_2O_2 . La capacité des cellules exprimant c-Rel à éliminer plus efficacement l' O_2^- pourrait les protéger des agents pro-apoptotiques exerçant une partie de leur toxicité via la production d' O_2^- , comme le TNF- α (295, 296), mais l'augmentation d' H_2O_2 bloquerait la prolifération de ces cellules.

2. c-Rel peut entraîner la cellule vers un arrêt de prolifération couplé à l'apparition d'altérations morphologiques

Dans le chapitre précédent nous avons également montré que l'arrêt de prolifération induit par c-Rel ou ses effecteurs (MnSOD et H_2O_2) corrèle avec l'apparition d'altérations morphologiques dans les cellules HeLa.

En effet, c-Rel induit via la MnSOD et H_2O_2 l'oxydation de protéines probablement essentiellement mitochondriales. Les mitochondries oxydées se relocaliseront autour du noyau où elles pourraient être autophagocytées par les lysosomes. Néanmoins l' H_2O_2 toujours produit par les mitochondries oxydées en cours d'autophagocytose pourrait altérer l'activité des enzymes lytiques des lysosomes. Ces structures oxydées non dégradables pourraient former des granules de lipofuscine. D'ailleurs il a été montré que dans des fibroblastes qui présentent une accumulation de protéines oxydées, au cours de la sénescence, il y a une inhibition de l'activité des protéines lysosomales mais aussi du protéasome qui pourrait également participer à la dégradation des protéines oxydées. Cette accumulation de protéines oxydées aboutit à l'accumulation de lipofuscine (297).

L'ensemble de ces résultats suggère que l'induction de la MnSOD, par c-Rel, dans les cellules épithéliales rend compte des effets anti-prolifératif et anti-apoptique et de l'apparition des altérations morphologiques. L'induction de cette enzyme anti-oxydante peut donc rendre compte de la multifonctionnalité de ce facteur de transcription. Les effets anti-prolifératif et les altérations morphologiques de c-Rel semblent dûs à l'accumulation de H_2O_2 . La survenue

de ces événements pourrait donc dépendre de l'équipement anti-oxydant des cellules, et particulièrement du statut d'expression des enzymes chargées de l'élimination de H_2O_2 . Certaines lignées cellulaires présentant une activité Rel/NF- κ B constitutive sans que celle-ci ne semble avoir d'effets anti-prolifératif ont été décrites (150, 151); il serait intéressant d'examiner l'équipement anti-oxydant de ces cellules.

3. L'arrêt de prolifération, la résistance à l'apoptose et les altérations morphologiques induits par c-Rel pourraient correspondre à de la sénescence

Les cellules HeLa nous ont permis de caractériser différentes facettes de c-Rel : anti-apoptotique et anti-prolifératif. Ces effets sur l'apoptose et la prolifération s'accompagnent de modifications intra-cellulaires telles qu'une relocalisation des mitochondries et l'accumulation de lipofuscine. Nombre de ces phénotypes apparaissant durant la sénescence cellulaire, nous nous sommes demandés si c-Rel pouvait y participer. Pour cela nous avons réalisé des études sur des cellules primaires humaines épithéliales (kératinocytes) et sur des fibroblastes primaires humains. Nous avons montré que la surexpression de c-Rel induit la sénescence prématurée des 2 types cellulaires.

La sénescence normale des kératinocytes s'accompagne d'une augmentation d'activité Rel/NF- κ B avec augmentation de l'expression de la MnSOD. c-Rel, via la MnSOD, dans les cellules épithéliales transformées HeLa, induit plusieurs processus caractéristiques de la sénescence à savoir un arrêt de prolifération, une résistance à l'apoptose induite et une accumulation de lipofuscine. Nous proposons donc que les facteurs Rel/NF- κ B participent à la sénescence des kératinocytes via, au moins en partie, l'induction de la MnSOD. Cette induction exercerait un effet anti-apoptotique et entrainerait l'accumulation d' H_2O_2 .

Par contre, bien que la surexpression de c-Rel induise la sénescence prématurée des fibroblastes, les facteurs Rel/NF- κ B ne participent pas à la sénescence normale de ces cellules. Néanmoins, la COX2, qui est induite par c-Rel, est aussi accumulée, par un mécanisme non caractérisé, dans les fibroblastes sénescents. La COX2 participe à la sénescence prématurée induite par c-Rel et donc pourrait participer à la sénescence normale de ces cellules.

L'ensemble de ces résultats montre que dans les 2 cas c-Rel pourrait induire la sénescence via la production d'un stress oxydant. En effet, l'induction de la MnSOD et le déséquilibre entre les SODs et GPX/catalase qui en résulte, ou l'induction de l'enzyme pro-

oxydante COX2, pourraient aboutir à la production de ROS. De même, durant la sénescence normale des kératinocytes et des fibroblastes, où s'accumulent respectivement la MnSOD et la COX2, l'accumulation de ROS pourrait être un facteur clé de la sénescence. D'ailleurs, il est bien connu que des traitements par des oxydants induisent une sénescence prématurée (268, 291, 298, 299), alors qu'au contraire des anti-oxydants peuvent prolonger la durée de vie de cellules en culture (300).

L'accumulation de dommages oxydants participerait également au vieillissement des organismes. Il a été mis en évidence une corrélation entre la durée de vie des mammifères et leur capacité à résister à différents stress dont les stress oxydants. En effet, des fibroblastes dérivés d'organismes variés résistent mieux au stress quand ils proviennent d'espèces qui ont une durée de vie longue (301). Chez *Caenorhabditis elegans*, un traitement par des mimétiques des SOD/catalase accroît la durée de vie. J'insiste sur le fait que ces composés ont une activité SOD et catalase, ne perturbant pas ainsi l'équilibre entre les SODs et le système GPX/catalase (302). D'ailleurs, des cellules dérivées d'individus atteints d'un syndrome de vieillissement prématuré, qu'est le syndrome de Down, présentent une augmentation de l'activité Cu/ZnSOD et donc un déséquilibre entre les SODs et le système GPX/catalase. Ces cellules en culture sénescent plus rapidement que les cellules dérivées d'individus contrôles (291). Chez la souris, des études de transcriptome montrent que des cerveaux issus de souris âgées accumulent des transcrits impliqués dans la réponse immunitaire et le stress oxydant (289). Pour appuyer toutes ces données, des souris *p66shc^{-/-}* ont une durée de vie accrue d'environ 30%; or des cellules dérivées de ces souris présentent une meilleure résistance à l'H₂O₂ (303). Il semble donc bien que l'accumulation de ROS soit impliquée aussi bien dans la sénescence cellulaire que dans le vieillissement.

La sénescence cellulaire et le vieillissement ont donc en commun l'accumulation de ROS, et cette accumulation semble participer activement à ces 2 processus. c-Rel induit la sénescence cellulaire probablement par l'accumulation de ROS, est-ce que ces facteurs peuvent participer au vieillissement ? Peu de données associant les facteurs Rel/NF- κ B au vieillissement sont disponibles actuellement. Néanmoins, quelques études ont montré une corrélation entre l'activité Rel/NF- κ B et le vieillissement de certains organes. Le vieillissement du foie, du cœur, du cerveau et de la muqueuse gastrique s'accompagne d'une augmentation d'activité Rel/NF- κ B (267, 304-306). Dans le rein il a été montré que cette augmentation d'activité Rel/NF- κ B s'accompagnait d'une augmentation d'expression de l'enzyme pro-oxydante COX2 (307).

Ainsi, les facteurs Rel/NF- κ B pourraient participer au vieillissement cellulaire *in vitro* et *in vivo* en induisant un stress oxydant. Il reste à investiguer clairement, notamment dans la peau, l'éventuelle participation des facteurs Rel/NF- κ B dans le vieillissement et la participation des ROS. Un modèle d'étude intéressant pourrait être le vieillissement prématuré induit par les UV appelé « photoaging ». En effet, les UV sont connus pour induire un vieillissement prématuré de la peau, lequel impliquerait la production de ROS. Comme les UV sont connus pour activer les facteurs Rel/NF- κ B, l'implication de ces facteurs dans le « photoaging » pourrait être étudié (308-311).

4. Les médiateurs des effets de c-Rel sur l'apoptose

La surexpression de c-Rel induit des effets antagonistes sur l'apoptose des cellules épithéliales transformées (HeLa) et des cellules épithéliales normales (kératinocytes), puisque c-Rel exerce à la fois des effets pro- et anti-apoptotique dans ces 2 types cellulaires. L'effet anti-apoptotique a été observé après induction d'apoptose par le TNF- α et TRAIL dans les cellules HeLa, ou après induction d'apoptose par le TNF- α dans les kératinocytes.

Des gènes pro- et anti-apoptotiques dont l'expression pouvait être augmentée par les facteurs Rel/NF- κ B ont été examinés dans les cellules HeLa et/ou les kératinocytes, en ARN et/ou en protéine (Tableau 1). Bien sûr, les résultats obtenus par DNA Array ont permis d'évaluer l'induction en ARN d'un nombre relativement important de gènes pro- et anti-apoptotiques, même si ces expériences n'ont pas été réalisées dans de très bonnes conditions dans les cellules HeLa (mise au point de la technique).

Ainsi, dans les cellules épithéliales, c-Rel pourrait exercer son effet anti-apoptotique à plusieurs niveaux dans la cascade d'événements conduisant à l'apoptose. Il peut agir en empêchant l'activation du TRAILR par compétition pour la liaison de TRAIL, en induisant l'expression d'un récepteur leurre DcR1 dans les cellules HeLa. Il pourrait également agir en inhibant l'activation de la caspase-8 au niveau du récepteur activé en induisant TRAF1 et A20 (193, 199). Enfin, il peut agir au niveau mitochondrial en induisant la MnSOD. Fonctionnellement, nous avons testé uniquement l'implication de la MnSOD et de DcR1 contre l'apoptose induite par le TNF- α ou TRAIL respectivement, dans les cellules HeLa.

Ces résultats montrent également qu'un certain nombre de gènes anti-apoptotiques cibles connus des facteurs Rel/NF- κ B comme TRAF2, Bcl-2, Bfl1/A1, Bcl-x_L ou c-IAP2, ne sont pas induits par c-Rel dans les cellules testées. Cela suggère que ces gènes cibles anti-

apoptotiques sont induits de façon tissu-spécifique, comme d'autres l'ont déjà suggéré (193, 195, 216) ou qu'ils sont contrôlés par des facteurs Rel/NF- κ B autres que c-Rel. Néanmoins, Bfl1/A1 et Bcl-x_L ont été décrits pour être induits par la surexpression de c-Rel dans les cellules HeLa (212, 215), ne confortant aucune de ces 2 hypothèses. Il serait important de comprendre dans quelles situations certains des gènes anti-apoptotiques sont induits et pas les autres : la régulation de l'expression de ces gènes par les facteurs Rel/NF- κ B dépend-elle de modifications épigénétiques et/ou de l'existence de co-facteurs spécifiques et/ou de la composition des dimères Rel/NF- κ B et/ou du type d'activité Rel/NF- κ B (transitoire/constitutif)...

Peu de données dans la littérature présentent clairement des cibles pro-apoptotiques des facteurs Rel/NF- κ B. p53 pourrait être un candidat ; il en effet induit dans les cellules HeLa, mais pas dans les kératinocytes dont le taux d'apoptose augmente pourtant après surexpression de c-Rel. Nos résultats suggèrent plutôt un rôle prépondérant de la MnSOD. En effet, l'induction de la MnSOD par c-Rel, au moins dans les cellules HeLa, aboutit à l'accumulation d'H₂O₂. L'accumulation de dommages oxydants pourrait ainsi conduire les cellules vers l'apoptose. Néanmoins, il reste à confirmer définitivement l'implication de la MnSOD dans l'effet pro-apoptotique de c-Rel. Il serait intéressant d'évaluer sa participation dans l'apoptose induite dans d'autres systèmes expérimentaux, telle que l'apoptose induite par RelA dans des cellules pro-B (178).

5. Les médiateurs des effets de c-Rel sur la prolifération

Nous avons montré que la surexpression de c-Rel induit une diminution de la prolifération de tous les types cellulaires étudiés : les cellules HeLa, les kératinocytes et les fibroblastes. Néanmoins les mécanismes aboutissant à cet effet semblent différents selon les types cellulaires. Les gènes impliqués dans la prolifération dont l'expression est régulée par c-Rel dans les différents types cellulaires sont présentés dans le tableau 2.

Il existe peu de données dans la littérature sur les effets anti-prolifératifs des facteurs Rel/NF- κ B et donc encore moins sur les modes d'action. Néanmoins, 2 autres groupes ont proposé des mécanismes moléculaires. Le premier propose que la surexpression de c-Rel dans les cellules HeLa stabilise p53 qui va ensuite induire p21 et donc induire un arrêt de prolifération de ces cellules (228). Le second a montré que la surexpression de p50 ou p65 peut induire l'expression de p21 dans des kératinocytes humains primaires sans que le statut

de p53 ne soit modifié (251). Dans nos conditions expérimentales, bien que p53 soit stabilisé par c-Rel dans les cellules HeLa, l'induction de p21 n'a jamais été observée clairement. En effet, nous observons une induction de p21 tardive et seulement dans une minorité de cellules dans les cellules transfectées par pEGFP/cRel, alors que nous n'observons pas cette induction dans ces mêmes cellules infectées par AdRel. Dans les kératinocytes et les fibroblastes, nous n'observons aucune induction de p53 ou de p21 quand c-Rel est surexprimé.

Nous avons montré que l'effet anti-prolifératif induit par c-Rel dans les cellules HeLa est dû à l'induction de la MnSOD. Comme la MnSOD est également induite dans les kératinocytes, nous pensons que l'effet anti-prolifératif de c-Rel dans les kératinocytes serait également dû à la MnSOD. De plus, les kératinocytes sénescents présentent une augmentation d'activité Rel/NF- κ B et d'expression de la MnSOD, ce qui suggère que la MnSOD sous le contrôle des facteurs Rel/NF- κ B pourrait participer aussi à l'arrêt de prolifération ayant lieu lors de la sénescence.

Dans les fibroblastes, la MnSOD est induite mais faiblement par rapport à son induction dans les cellules épithéliales. Par contre la COX2 est induite, et des données fonctionnelles montrent qu'elle est impliquée dans l'effet anti-prolifératif de c-Rel dans ces cellules. Bien que l'enzyme impliquée soit différente entre les cellules épithéliales et les fibroblastes, nous pensons que l'effecteur final pourrait être commun : un stress oxydant.

Dans les kératinocytes, en plus de l'augmentation de la MnSOD, nous observons, d'après les résultats DNA Array confirmés ensuite par RT-PCR semi-quantitative, une diminution de l'expression de p55cdc. Or l'expression de cette protéine est associée à la prolifération alors que son inhibition est associée à l'arrêt de la prolifération (288). Donc c-Rel pourrait avoir un effet anti-prolifératif dans les kératinocytes en induisant l'expression de la MnSOD et en réprimant l'expression de p55cdc. Dans la littérature, nous trouvons peu d'exemples de gènes réprimés par les facteurs Rel/NF- κ B. Cette répression pourrait s'exercer par interaction entre les facteurs Rel/NF- κ B avec un co-répresseur transcriptionnel comme cela a déjà été décrit dans le paragraphe 1.4. de l'introduction (124, 225).

En conclusion, cette étude sur le rôle du facteur de transcription c-Rel dans l'apoptose et la prolifération nous a permis de mettre en évidence la capacité de c-Rel à induire des phénotypes variés et parfois opposés dans les cellules épithéliales : des effets anti-prolifératif, anti-apoptotique et pro-apoptotique. La MnSOD semble impliquée dans ces différents effets.

Nous avons également décrit l'implication de la COX2 dans l'effet anti-prolifératif de c-Rel dans les fibroblastes. Nous avons montré l'implication des facteurs Rel/NF- κ B dans la sénescence cellulaire probablement, via l'induction d'un stress oxydant. Enfin, nous avons décrit un nouveau gène cible anti-apoptotique des facteurs Rel/NF- κ B, DcR1.

BIBLIOGRAPHIE

1. Wilhelmsen, K. C., Eggleton, K. & Temin, H. M. (1984) Nucleic acid sequences of the oncogene v-rel in reticuloendotheliosis virus strain T and its cellular homolog, the proto-oncogene c-rel. *J Virol* **52**, 172-82.
2. Capobianco, A. J., Simmons, D. L. & Gilmore, T. D. (1990) Cloning and expression of a chicken c-rel cDNA : unlike p59v-rel, p68c-rel is a cytoplasmic protein in chicken embryo fibroblasts. *Oncogene* **5**, 257-265.
3. Sen, R. & Baltimore, D. (1986) Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. *Cell* **46**, 705-16.
4. Lenardo, M. J. & Baltimore, D. (1989) NF-kappa B: a pleiotropic mediator of inducible and tissue-specific gene control. *Cell* **58**, 227-9.
5. Nolan, G. P., Ghosh, S., Liou, H. C., Tempst, P. & Baltimore, D. (1991) DNA binding and I kappa B inhibition of the cloned p65 subunit of NF-kappa B, a rel-related polypeptide. *Cell* **64**, 961-9.
6. Ghosh, S., Gifford, A. M., Riviere, L. R., Tempst, P., Nolan, G. P. & Baltimore, D. (1990) Cloning of the p50 DNA binding subunit of NF-kappa B: homology to rel and dorsal. *Cell* **62**, 1019-29.
7. Kieran, M., Blank, V., Logeat, F., Vandekerckhove, J., Lottspeich, F., Le Bail, O., Urban, M. B., Kourilsky, P., Baeuerle, P. A. & Israel, A. (1990) The DNA binding subunit of NF-kappa B is identical to factor KBF1 and homologous to the rel oncogene product. *Cell* **62**, 1007-18.
8. Ghosh, S., May, M. J. & Kopp, E. B. (1998) NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol* **16**, 225-60.
9. Miyamoto, S. & Verma, I. M. (1995) REL/NF- κ B/I κ B story. *Adv. Cancer Research* **66**, 255-292.
10. Finco, T. & Baldwin, A. S. (1995) Mechanistic aspects of NF- κ B regulation : the emerging role of phosphorylation and proteolysis. *Immunity* **3**, 263-272.
11. Chytil, M. & Verdine, G. L. (1996) The Rel family of eukaryotic transcription factors. *Current Opinion in Structural Biology* **6**, 91-100.
12. Verma, I. M., Stevenson, J. K., Schwartz, E. M., Antwerp, D. V. & Miyamoto, S. (1995) Rel/NF- κ B/I κ B family: intimates tales of association and dissociation. *Genes and Development* **9**, 2723-2735.
13. May, M. J. & Ghosh, S. (1997) Rel/NF-kappa B and I kappa B proteins: an overview. *Semin Cancer Biol* **8**, 63-73.
14. Toledano, M. B., Ghosh, D., Trinh, F. & Leonard, W. J. (1993) N-terminal DNA-binding domains contribute to differential DNA-binding specificities of NF-kappa B p50 and p65. *Mol Cell Biol* **13**, 852-60.
15. Logeat, F., Israel, N., Ten, R., Blank, V., Le Bail, O., Kourilsky, P. & Israel, A. (1991) Inhibition of transcription factors belonging to the rel/NF-kappa B family by a transdominant negative mutant. *Embo J* **10**, 1827-32.
16. Coleman, T. A., Kunsch, C., Maher, M., Ruben, S. M. & Rosen, C. A. (1993) Acquisition of NFKB1-selective DNA binding by substitution of four amino acid residues from NFKB1 into RelA. *Mol Cell Biol* **13**, 3850-9.
17. Bressler, P., Brown, K., Timmer, W., Bours, V., Siebenlist, U. & Fauci, A. S. (1993) Mutational analysis of the p50 subunit of NF-kappa B and inhibition of NF-kappa B activity by trans-dominant p50 mutants. *J Virol* **67**, 288-93.
18. Muller, C. W., Rey, F. A., Sodeoka, M., Verdine, G. L. & Harrison, S. C. (1995) Structure of the NF-kappa B p50 homodimer bound to DNA [see comments]. *Nature* **373**, 311-7.

19. Ghosh, G., van Duyne, G., Ghosh, S. & Sigler, P. B. (1995) Structure of NF-kappa B p50 homodimer bound to a kappa B site [see comments]. *Nature* **373**, 303-10.
20. Ganchi, P. A., Sun, S. C., Greene, W. C. & Ballard, D. W. (1993) A novel NF-kappa B complex containing p65 homodimers: implications for transcriptional control at the level of subunit dimerization. *Mol Cell Biol* **13**, 7826-35.
21. Kang, S. M., Tran, A. C., Grilli, M. & Lenardo, M. J. (1992) NF-kappa B subunit regulation in nontransformed CD4+ T lymphocytes. *Science* **256**, 1452-6.
22. Hansen, S. K., Baeuerle, P. A. & Blasi, F. (1994) Purification, reconstitution, and I kappa B association of the c-Rel-p65 (RelA) complex, a strong activator of transcription. *Mol Cell Biol* **14**, 2593-603.
23. Molitor, J. A., Walker, W. H., Doerre, S., Ballard, D. W. & Greene, W. C. (1990) NF-kappa B: a family of inducible and differentially expressed enhancer-binding proteins in human T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **87**, 10028-32.
24. Parry, G. C. & Mackman, N. (1994) A set of inducible genes expressed by activated human monocytic and endothelial cells contain kappa B-like sites that specifically bind c-Rel-p65 heterodimers. *J Biol Chem* **269**, 20823-5.
25. Ryseck, R. P., Novotny, J. & Bravo, R. (1995) Characterization of elements determining the dimerization properties of RelB and p50. *Mol Cell Biol* **15**, 3100-9.
26. Ryseck, R. P., Bull, P., Takamiya, M., Bours, V., Siebenlist, U., Dobrzanski, P. & Bravo, R. (1992) RelB, a new Rel family transcription activator that can interact with p50-NF-kappa B. *Mol Cell Biol* **12**, 674-84.
27. Brown, A. M., Linhoff, M. W., Stein, B., Wright, K. L., Baldwin, A. S., Jr., Basta, P. V. & Ting, J. P. (1994) Function of NF-kappa B/Rel binding sites in the major histocompatibility complex class II invariant chain promoter is dependent on cell-specific binding of different NF-kappa B/Rel subunits. *Mol Cell Biol* **14**, 2926-35.
28. Schmitz, M. L. & Baeuerle, P. A. (1991) The p65 subunit is responsible for the strong transcription activating potential of NF-kappa B. *Embo J* **10**, 3805-17.
29. Lernbecher, T., Muller, U. & Wirth, T. (1993) Distinct NF-kappa B/Rel transcription factors are responsible for tissue-specific and inducible gene activation. *Nature* **365**, 767-70.
30. Plaksin, D., Baeuerle, P. A. & Eisenbach, L. (1993) KBF1 (p50 NF-kappa B homodimer) acts as a repressor of H-2Kb gene expression in metastatic tumor cells. *J Exp Med* **177**, 1651-62.
31. Nolan, G. P., Fujita, T., Bhatia, K., Huppi, C., Liou, H. C., Scott, M. L. & Baltimore, D. (1993) The bcl-3 proto-oncogene encodes a nuclear I kappa B-like molecule that preferentially interacts with NF-kappa B p50 and p52 in a phosphorylation-dependent manner. *Mol Cell Biol* **13**, 3557-66.
32. Fujita, T., Nolan, G. P., Liou, H. C., Scott, M. L. & Baltimore, D. (1993) The candidate proto-oncogene bcl-3 encodes a transcriptional coactivator that activates through NF-kappa B p50 homodimers. *Genes Dev* **7**, 1354-63.
33. Franzoso, G., Bours, V., Park, S., Tomita-Yamaguchi, M., Kelly, K. & Siebenlist, U. (1992) The candidate oncoprotein Bcl-3 is an antagonist of p50/NF-kappa B-mediated inhibition. *Nature* **359**, 339-42.
34. Bours, V., Franzoso, G., Azarenko, V., Park, S., Kanno, T., Brown, K. & Siebenlist, U. (1993) The oncoprotein Bcl-3 directly transactivates through kappa B motifs via association with DNA-binding p50B homodimers. *Cell* **72**, 729-39.
35. Huxford, T., Huang, D. B., Malek, S. & Ghosh, G. (1998) The crystal structure of the IkappaBalpha/NF-kappaB complex reveals mechanisms of NF-kappaB inactivation [see comments]. *Cell* **95**, 759-70.

36. Jacobs, M. D. & Harrison, S. C. (1998) Structure of an IkappaBalpha/NF-kappaB complex [see comments]. *Cell* **95**, 749-58.
37. Chen, F. E. & Ghosh, G. (1999) Regulation of DNA binding by Rel/NF-kappaB transcription factors: structural views. *Oncogene* **18**, 6845-52.
38. Ballard, D. W., Dixon, E. P., Peffer, N. J., Bogerd, H., Doerre, S., Stein, B. & Greene, W. C. (1992) The 65-kDa subunit of human NF-kappa B functions as a potent transcriptional activator and a target for v-Rel-mediated repression. *Proc Natl Acad Sci U S A* **89**, 1875-9.
39. Blair, W. S., Bogerd, H. P., Madore, S. J. & Cullen, B. R. (1994) Mutational analysis of the transcription activation domain of RelA: identification of a highly synergistic minimal acidic activation module. *Mol Cell Biol* **14**, 7226-34.
40. Moore, P. A., Ruben, S. M. & Rosen, C. A. (1993) Conservation of transcriptional activation functions of the NF-kappa B p50 and p65 subunits in mammalian cells and *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* **13**, 1666-74.
41. Bull, P., Morley, K. L., Hoekstra, M. F., Hunter, T. & Verma, I. M. (1990) The mouse c-rel protein has an N-terminal regulatory domain and a C-terminal transcriptional transactivation domain. *Mol Cell Biol* **10**, 5473-85.
42. Ishikawa, H., Asano, M., Kanda, T., Kumar, S., Gelinas, C. & Ito, Y. (1993) Two novel functions associated with the Rel oncoproteins: DNA replication and cell-specific transcriptional activation. *Oncogene* **8**, 2889-96.
43. Kamens, J., Richardson, P., Mosialos, G., Brent, R. & Gilmore, T. (1990) Oncogenic transformation by vrel requires an amino-terminal activation domain. *Mol Cell Biol* **10**, 2840-7.
44. Sarkar, S. & Gilmore, T. D. (1993) Transformation by the vRel oncoprotein requires sequences carboxy-terminal to the Rel homology domain. *Oncogene* **8**, 2245-52.
45. Hrdlickova, R., Nehyba, J. & Humphries, E. H. (1994) v-rel induces expression of three avian immunoregulatory surface receptors more efficiently than c-rel. *J Virol* **68**, 308-19.
46. Inuzuka, M., Ishikawa, H., Kumar, S., Gelinas, C. & Ito, Y. (1994) The viral and cellular Rel oncoproteins induce the differentiation of P19 embryonal carcinoma cells. *Oncogene* **9**, 133-40.
47. Walker, W. H., Stein, B., Ganchi, P. A., Hoffman, J. A., Kaufman, P. A., Ballard, D. W., Hannink, M. & Greene, W. C. (1992) The v-rel oncogene: insights into the mechanism of transcriptional activation, repression, and transformation. *J Virol* **66**, 5018-29.
48. Dobrzanski, P., Ryseck, R. P. & Bravo, R. (1993) Both N- and C-terminal domains of RelB are required for full transactivation: role of the N-terminal leucine zipper-like motif. *Mol Cell Biol* **13**, 1572-82.
49. Henkel, T., Zabel, U., van Zee, K., Muller, J. M., Fanning, E. & Baeuerle, P. A. (1992) Intramolecular masking of the nuclear location signal and dimerization domain in the precursor for the p50 NF-kappa B subunit. *Cell* **68**, 1121-33.
50. Heron, E., Deloukas, P. & van Loon, A. P. (1995) The complete exon-intron structure of the 156-kb human gene NFKB1, which encodes the p105 and p50 proteins of transcription factors NF-kappa B and I kappa B-gamma: implications for NF-kappa B-mediated signal transduction. *Genomics* **30**, 493-505.
51. Betts, J. C. & Nabel, G. J. (1996) Differential regulation of NF-kappaB2(p100) processing and control by amino-terminal sequences. *Mol Cell Biol* **16**, 6363-71.
52. Lin, L. & Ghosh, S. (1996) A glycine-rich region in NF-kappaB p105 functions as a processing signal for the generation of the p50 subunit. *Mol Cell Biol* **16**, 2248-54.

53. Rechsteiner, M. (1990) PEST sequences are signals for rapid intracellular proteolysis. *Semin Cell Biol* **1**, 433-40.
54. MacKichan, M. L., Logeat, F. & Israel, A. (1996) Phosphorylation of p105 PEST sequence via a redox-insensitive pathway up-regulates processing of p50 NF-kappaB. *J Biol Chem* **271**, 6084-91.
55. Mercurio, F., DiDonato, J. A., Rosette, C. & Karin, M. (1993) p105 and p98 precursor proteins play an active role in NF-kappa B-mediated signal transduction. *Genes Dev* **7**, 705-18.
56. Zabel, U. & Baeuerle, P. A. (1990) Purified human I kappa B can rapidly dissociate the complex of the NF-kappa B transcription factor with its cognate DNA. *Cell* **61**, 255-65.
57. Diehl, J. A., McKinsey, T. A. & Hannink, M. (1993) Differential pp40I kappa B-beta inhibition of DNA binding by rel proteins. *Mol Cell Biol* **13**, 1769-78.
58. Kretzschmar, M., Meisterernst, M., Scheidereit, C., Li, G. & Roeder, R. G. (1992) Transcriptional regulation of the HIV-1 promoter by NF-kappa B in vitro. *Genes Dev* **6**, 761-74.
59. Inoue, J., Kerr, L. D., Kakizuka, A. & Verma, I. M. (1992) I kappa B gamma, a 70 kd protein identical to the C-terminal half of p110 NF-kappa B: a new member of the I kappa B family. *Cell* **68**, 1109-20.
60. Grumont, R. J. & Gerondakis, S. (1994) Alternative splicing of RNA transcripts encoded by the murine p105 NF-kappa B gene generates I kappa B gamma isoforms with different inhibitory activities. *Proc Natl Acad Sci U S A* **91**, 4367-71.
61. Whiteside, S. T., Epinat, J. C., Rice, N. R. & Israel, A. (1997) I kappa B epsilon, a novel member of the I kappa B family, controls RelA and cRel NF-kappa B activity. *Embo J* **16**, 1413-26.
62. Kerr, L. D., Duckett, C. S., Wamsley, P., Zhang, Q., Chiao, P., Nabel, G., McKeithan, T. W., Baeuerle, P. A. & Verma, I. M. (1992) The proto-oncogene bcl-3 encodes an I kappa B protein. *Genes Dev* **6**, 2352-63.
63. Wulczyn, F. G., Naumann, M. & Scheidereit, C. (1992) Candidate proto-oncogene bcl-3 encodes a subunit-specific inhibitor of transcription factor NF-kappa B. *Nature* **358**, 597-9.
64. Baeuerle, P. A. & Baltimore, D. (1989) A 65-kappaD subunit of active NF-kappaB is required for inhibition of NF-kappaB by I kappaB. *Genes Dev* **3**, 1689-98.
65. Rice, N. R., MacKichan, M. L. & Israel, A. (1992) The precursor of NF-kappa B p50 has I kappa B-like functions. *Cell* **71**, 243-53.
66. Dobrzanski, P., Ryseck, R. P. & Bravo, R. (1995) Specific inhibition of RelB/p52 transcriptional activity by the C-terminal domain of p100. *Oncogene* **10**, 1003-7.
67. Turpin, P., Hay, R. T. & Dargemont, C. (1999) Characterization of IkappaBalpha nuclear import pathway. *J Biol Chem* **274**, 6804-12.
68. Zabel, U., Henkel, T., Silva, M. S. & Baeuerle, P. A. (1993) Nuclear uptake control of NF-kappa B by MAD-3, an I kappa B protein present in the nucleus. *Embo J* **12**, 201-11.
69. Arenzana-Seisdedos, F., Turpin, P., Rodriguez, M., Thomas, D., Hay, R. T., Virelizier, J. L. & Dargemont, C. (1997) Nuclear localization of I kappa B alpha promotes active transport of NF-kappa B from the nucleus to the cytoplasm. *J Cell Sci* **110**, 369-78.
70. Pahl, H. L. (1999) Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors. *Oncogene* **18**, 6853-6866.
71. Baldwin, A. S., Jr. (1996) The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol* **14**, 649-83.

72. May, M. J. & Ghosh, S. (1999) IkappaB kinases: kinsmen with different crafts [comment]. *Science* **284**, 271-3.
73. Alkalay, I., Yaron, A., Hatzubai, A., Orian, A., Ciechanover, A. & Ben-Neriah, Y. (1995) Stimulation-dependent I kappa B alpha phosphorylation marks the NF-kappa B inhibitor for degradation via the ubiquitin-proteasome pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* **92**, 10599-603.
74. Chen, Z., Hagler, J., Palombella, V. J., Melandri, F., Scherer, D., Ballard, D. & Maniatis, T. (1995) Signal-induced site-specific phosphorylation targets I kappa B alpha to the ubiquitin-proteasome pathway. *Genes Dev* **9**, 1586-97.
75. Chen, Z. J., Parent, L. & Maniatis, T. (1996) Site-specific phosphorylation of IkappaBalpha by a novel ubiquitination-dependent protein kinase activity. *Cell* **84**, 853-62.
76. Yamaoka, S., Courtois, G., Bessia, C., Whiteside, S. T., Weil, R., Agou, F., Kirk, H. E., Kay, R. J. & Israel, A. (1998) Complementation cloning of NEMO, a component of the IkappaB kinase complex essential for NF-kappaB activation. *Cell* **93**, 1231-40.
77. Mercurio, F., Murray, B. W., Shevchenko, A., Bennett, B. L., Young, D. B., Li, J. W., Pascual, G., Motiwala, A., Zhu, H., Mann, M. & Manning, A. M. (1999) IkappaB kinase (IKK)-associated protein 1, a common component of the heterogeneous IKK complex. *Mol Cell Biol* **19**, 1526-38.
78. Rothwarf, D. M., Zandi, E., Natoli, G. & Karin, M. (1998) IKK-gamma is an essential regulatory subunit of the IkappaB kinase complex [see comments]. *Nature* **395**, 297-300.
79. Peters, R. T., Liao, S. M. & Maniatis, T. (2000) IKKepsilon is part of a novel PMA-inducible IkappaB kinase complex. *Mol Cell* **5**, 513-22.
80. Leonardi, A., Chariot, A., Claudio, E., Cunningham, K. & Siebenlist, U. (2000) CIKS, a connection to Ikappa B kinase and stress-activated protein kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**, 10494-9.
81. Li, X., Commane, M., Nie, H., Hua, X., Chatterjee-Kishore, M., Wald, D., Haag, M. & Stark, G. R. (2000) Act1, an NF-kappa B-activating protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**, 10489-93.
82. Sakurai, H., Chiba, H., Miyoshi, H., Sugita, T. & Toriumi, W. (1999) IkappaB kinases phosphorylate NF-kappaB p65 subunit on serine 536 in the transactivation domain. *J Biol Chem* **274**, 30353-6.
83. Ten, R. M., Paya, C. V., Israel, N., Le Bail, O., Mattei, M. G., Virelizier, J. L., Kourilsky, P. & Israel, A. (1992) The characterization of the promoter of the gene encoding the p50 subunit of NF-kappa B indicates that it participates in its own regulation. *Embo J* **11**, 195-203.
84. Lombardi, L., Ciana, P., Cappellini, C., Trecca, D., Guerrini, L., Migliazza, A., Maiolo, A. T. & Neri, A. (1995) Structural and functional characterization of the promoter regions of the NFkB2 gene. *Nucleic Acids Res* **23**, 2328-36.
85. Le Bail, O., Schmidt-Ullrich, R. & Israel, A. (1993) Promoter analysis of the gene encoding the I kappa B-alpha/MAD3 inhibitor of NF-kappa B: positive regulation by members of the rel/NF-kappa B family. *Embo J* **12**, 5043-9.
86. Ito, C. Y., Kazantsev, A. G. & Baldwin, A. S., Jr. (1994) Three NF-kappa B sites in the I kappa B-alpha promoter are required for induction of gene expression by TNF alpha. *Nucleic Acids Res* **22**, 3787-92.
87. Sun, S. C., Ganchi, P. A., Ballard, D. W. & Greene, W. C. (1993) NF-kappa B controls expression of inhibitor I kappa B alpha: evidence for an inducible autoregulatory pathway. *Science* **259**, 1912-5.

88. Link, E., Kerr, L. D., Schreck, R., Zabel, U., Verma, I. & Baeuerle, P. A. (1992) Purified I kappa B-beta is inactivated upon dephosphorylation. *J Biol Chem* **267**, 239-46.
89. Suyang, H., Phillips, R., Douglas, I. & Ghosh, S. (1996) Role of unphosphorylated, newly synthesized I kappa B beta in persistent activation of NF-kappa B. *Mol Cell Biol* **16**, 5444-9.
90. Tran, K., Merika, M. & Thanos, D. (1997) Distinct functional properties of IkappaB alpha and IkappaB beta. *Mol Cell Biol* **17**, 5386-99.
91. Weil, R., Laurent-Winter, C. & Israel, A. (1997) Regulation of IkappaBbeta degradation. Similarities to and differences from IkappaBalpha. *J Biol Chem* **272**, 9942-9.
92. Fenwick, C., Na, S. Y., Voll, R. E., Zhong, H., Im, S. Y., Lee, J. W. & Ghosh, S. (2000) A subclass of Ras proteins that regulate the degradation of IkappaB. *Science* **287**, 869-73.
93. Grumont, R. J. & Gerondakis, S. (1994) The subunit composition of NF-kappa B complexes changes during B-cell development. *Cell Growth Differ* **5**, 1321-31.
94. Liou, H. C., Sha, W. C., Scott, M. L. & Baltimore, D. (1994) Sequential induction of NF-kappa B/Rel family proteins during B-cell terminal differentiation. *Mol Cell Biol* **14**, 5349-59.
95. Korner, M., Tarantino, N. & Debre, P. (1991) Constitutive activation of NF-kB in human thymocytes. *Biochem Biophys Res Commun* **181**, 80-6.
96. Slater, A. F., Kimland, M., Jiang, S. A. & Orrenius, S. (1995) Constitutive nuclear NF kappa B/rel DNA-binding activity of rat thymocytes is increased by stimuli that promote apoptosis, but not inhibited by pyrrolidine dithiocarbamate. *Biochem J* **312**, 833-8.
97. Griffin, G. E., Leung, K., Folks, T. M., Kunkel, S. & Nabel, G. J. (1989) Activation of HIV gene expression during monocyte differentiation by induction of NF-kappa B [see comments]. *Nature* **339**, 70-3.
98. Collart, M. A., Baeuerle, P. & Vassalli, P. (1990) Regulation of tumor necrosis factor alpha transcription in macrophages: involvement of four kappa B-like motifs and of constitutive and inducible forms of NF-kappa B. *Mol Cell Biol* **10**, 1498-506.
99. Frankenberger, M., Pforte, A., Sternsdorf, T., Passlick, B., Baeuerle, P. A. & Ziegler-Heitbrock, H. W. (1994) Constitutive nuclear NF-kappa B in cells of the monocyte lineage. *Biochem J* **304**, 87-94.
100. Kaltschmidt, C., Kaltschmidt, B., Neumann, H., Wekerle, H. & Baeuerle, P. A. (1994) Constitutive NF-kappa B activity in neurons. *Mol Cell Biol* **14**, 3981-92.
101. Schmidt-Ullrich, R., Memet, S., Lilienbaum, A., Feuillard, J., Raphael, M. & Israel, A. (1996) NF-kappaB activity in transgenic mice: developmental regulation and tissue specificity. *Development* **122**, 2117-28.
102. Delfino, F. & Walker, W. H. (1998) Stage-specific nuclear expression of NF-kappaB in mammalian testis. *Mol Endocrinol* **12**, 1696-707.
103. Takeda, K., Takeuchi, O., Tsujimura, T., Itami, S., Adachi, O., Kawai, T., Sanjo, H., Yoshikawa, K., Terada, N. & Akira, S. (1999) Limb and skin abnormalities in mice lacking IKK α . *Science* **284**, 313-6.
104. Seitz, C. S., Lin, Q., Deng, H. & Khavari, P. A. (1998) Alterations in NF- κ B function in transgenic epithelial tissue demonstrate a growth inhibitory role for NF- κ B. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**, 2307-2312.
105. Cogswell, P. C., Guttridge, D. C., Funkhouser, W. K. & Baldwin Jr, A. S. (2000) Selective activation of NF-kappa B subunits in human breast cancer: potential roles for NF-kappa B2/p52 and for Bcl-3. *Oncogene* **19**, 1123-31.

106. Miyamoto, S., Chiao, P. J. & Verma, I. M. (1994) Enhanced I kappa B alpha degradation is responsible for constitutive NF-kappa B activity in mature murine B-cell lines. *Mol Cell Biol* **14**, 3276-82.
107. Miyamoto, S., Seufzer, B. J. & Shumway, S. D. (1998) Novel IkappaB alpha proteolytic pathway in WEHI231 immature B cells. *Mol Cell Biol* **18**, 19-29.
108. Urban, M. B., Schreck, R. & Baeuerle, P. A. (1991) NF-kappa B contacts DNA by a heterodimer of the p50 and p65 subunit. *Embo J* **10**, 1817-25.
109. Kunsch, C., Ruben, S. M. & Rosen, C. A. (1992) Selection of optimal kappa B/Rel DNA-binding motifs: interaction of both subunits of NF-kappa B with DNA is required for transcriptional activation. *Mol Cell Biol* **12**, 4412-21.
110. Kunsch, C. & Rosen, C. A. (1993) NF-kappa B subunit-specific regulation of the interleukin-8 promoter. *Mol Cell Biol* **13**, 6137-46.
111. Grimm, S. & Baeuerle, P. A. (1993) The inducible transcription factor NF-kappa B: structure-function relationship of its protein subunits. *Biochem J* **290**, 297-308.
112. Lin, R., Gewert, D. & Hiscott, J. (1995) Differential transcriptional activation in vitro by NF-kappa B/Rel proteins. *J Biol Chem* **270**, 3123-31.
113. Zhong, H., Voll, R. E. & Ghosh, S. (1998) Phosphorylation of NF-kappa B p65 by PKA stimulates transcriptional activity by promoting a novel bivalent interaction with the coactivator CBP/p300. *Mol Cell* **1**, 661-71.
114. Sizemore, N., Leung, S. & Stark, G. R. (1999) Activation of phosphatidylinositol 3-kinase in response to interleukin-1 leads to phosphorylation and activation of the NF-kappaB p65/RelA subunit. *Mol Cell Biol* **19**, 4798-805.
115. Wang, D., Westerheide, S. D., Hanson, J. L. & Baldwin, A. S., Jr. (2000) Tumor necrosis factor alpha-induced phosphorylation of RelA/p65 on Ser529 is controlled by casein kinase II. *J Biol Chem* **275**, 32592-7.
116. Wang, D. & Baldwin, A. S., Jr. (1998) Activation of nuclear factor-kappaB-dependent transcription by tumor necrosis factor-alpha is mediated through phosphorylation of RelA/p65 on serine 529. *J Biol Chem* **273**, 29411-6.
117. Yamit-Hezi, A., Nir, S., Wolstein, O. & Dikstein, R. (2000) Interaction of TAFII105 with selected p65/RelA dimers is associated with activation of subset of NF-kappa B genes. *J Biol Chem* **275**, 18180-7.
118. Schmitz, M. L., Stelzer, G., Altmann, H., Meisterernst, M. & Baeuerle, P. A. (1995) Interaction of the COOH-terminal transactivation domain of p65 NF-kappa B with TATA-binding protein, transcription factor IIB, and coactivators. *J Biol Chem* **270**, 7219-26.
119. Guermah, M., Malik, S. & Roeder, R. G. (1998) Involvement of TFIID and USA components in transcriptional activation of the human immunodeficiency virus promoter by NF-kappaB and Sp1. *Mol Cell Biol* **18**, 3234-44.
120. Schmitz, M. L., Dos Santos Silva, M. A., Altmann, H., Czisch, M., Holak, T. A. & Baeuerle, P. A. (1994) Structural and functional analysis of the NF-kB p65 C-terminus. *The journal of biochemical chemistry* **269**, 25613-25620.
121. Xu, X., Prorock, C., Ishikawa, H., Maldonado, E., Ito, Y. & Gelinas, C. (1993) Functional interaction of the v-Rel and c-Rel oncoproteins with the TATA-binding protein and association with transcription factor IIB. *Molecular and Cellular Biology* **13**, 6733-6741.
122. Schmitz, M. L., Bacher, S. & Kracht, M. (2001) IkappaB-independent control of NF-kappaB activity by modulatory phosphorylations. *Trends Biochem Sci* **26**, 186-90.
123. Lee, S. K., Kim, J. H., Lee, Y. C., Cheong, J. & Lee, J. W. (2000) Silencing mediator of retinoic acid and thyroid hormone receptors, as a novel transcriptional corepressor

- molecule of activating protein-1, nuclear factor-kappaB, and serum response factor. *J Biol Chem* **275**, 12470-4.
124. Tetsuka, T., Uranishi, H., Imai, H., Ono, T., Sonta, S., Takahashi, N., Asamitsu, K. & Okamoto, T. (2000) Inhibition of nuclear factor-kappaB-mediated transcription by association with the amino-terminal enhancer of split, a Groucho-related protein lacking WD40 repeats. *J Biol Chem* **275**, 4383-90.
 125. Nagata, S. (1997) Apoptosis by death factor. *Cell* **88**, 355-65.
 126. Vaux, D. L. & Korsmeyer, S. J. (1999) Cell death in development. *Cell* **96**, 245-54.
 127. Yuan, J. & Yankner, B. A. (2000) Apoptosis in the nervous system. *Nature* **407**, 802-9.
 128. Meier, P., Finch, A. & Evan, G. (2000) Apoptosis in development. *Nature* **407**, 796-801.
 129. Krammer, P. H. (2000) CD95's deadly mission in the immune system. *Nature* **407**, 789-95.
 130. Savill, J. & Fadok, V. (2000) Corpse clearance defines the meaning of cell death. *Nature* **407**, 784-8.
 131. Rich, T., Allen, R. L. & Wyllie, A. H. (2000) Defying death after DNA damage. *Nature* **407**, 777-83.
 132. Hengartner, M. O. (2000) The biochemistry of apoptosis. *Nature* **407**, 770-6.
 133. Morgan, D. O. (1995) Principles of CDK regulation. *Nature* **374**, 131-4.
 134. Edgar, B. A. & Lehner, C. F. (1996) Developmental control of cell cycle regulators: a fly's perspective. *Science* **274**, 1646-52.
 135. King, R. W., Deshaies, R. J., Peters, J. M. & Kirschner, M. W. (1996) How proteolysis drives the cell cycle. *Science* **274**, 1652-9.
 136. Stillman, B. (1996) Cell cycle control of DNA replication. *Science* **274**, 1659-64.
 137. Elledge, S. J. (1996) Cell cycle checkpoints: preventing an identity crisis. *Science* **274**, 1664-72.
 138. Sherr, C. J. (1996) Cancer cell cycles. *Science* **274**, 1672-7.
 139. Levine, A. J. (1997) p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* **88**, 323-31.
 140. Canman, C. E., Gilmer, T. M., Coutts, S. B. & Kastan, M. B. (1995) Growth factor modulation of p53-mediated growth arrest versus apoptosis. *Genes Dev* **9**, 600-11.
 141. Dynlacht, B. D. (1997) Regulation of transcription by proteins that control the cell cycle. *Nature* **389**, 149-52.
 142. Hunter, T. (1997) Oncoprotein networks. *Cell* **88**, 333-46.
 143. Hanahan, D. & Weinberg, R. A. (2000) The hallmarks of cancer. *Cell* **100**, 57-70.
 144. Baldwin, A. S. (2001) Control of oncogenesis and cancer therapy resistance by the transcription factor NF-kappaB. *J Clin Invest* **107**, 241-246.
 145. Gilmore, T. D., Koedood, M., Piffat, K. A. & White, D. W. (1996) Rel/NF-kB/IkB proteins and cancer. *Oncogene* **13**, 1367-1378.
 146. Rayet, B. & Gelinis, C. (1999) Aberrant rel/nfkb genes and activity in human cancer. *Oncogene* **18**, 6938-6947.
 147. He, Z., Xin, B., Yang, X., Chan, C. & Cao, L. (2000) Nuclear factor-kappaB activation is involved in LMP1-mediated transformation and tumorigenesis of rat-1 fibroblasts. *Cancer Res* **60**, 1845-8.
 148. Budunova, I. V., Perez, P., Vaden, V. R., Spiegelman, V. S., Slaga, T. J. & Jorcano, J. L. (1999) Increased expression of p50-NF-kappaB and constitutive activation of NF-kappaB transcription factors during mouse skin carcinogenesis. *Oncogene* **18**, 7423-31.

149. Nakshatri, H., Bhat-Nakshatri, P., Martin, D. A., Goulet, R. J. & Sledge, G. W. (1997) Constitutive activation of NF- κ B during progression of breast cancer to hormone-independent growth. *Molecular and Cellular Biology* **17**, 3629-3639.
150. Tai, D. I., Tsai, S. L., Chang, Y. H., Huang, S. N., Chen, T. C., Chang, K. S. & Liaw, Y. F. (2000) Constitutive activation of nuclear factor kappaB in hepatocellular carcinoma. *Cancer* **89**, 2274-81.
151. Bargou, C. R., Emmerich, F., Krappmann, D., Bommert, K., Mapara, M. Y., Arnold, W., Royer, H. D., Grinstein, E., Greiner, A., Scheidereit, C. & Dörken, B. (1997) Constitutive NF- κ B-RelA activation is required for proliferation and survival of Hodgkin's disease tumor cells. *J. Clin. Invest.* **100**, 2961-2969.
152. Beg, A. A., Sha, W. C., Bronson, R. T., Ghosh, S. & Baltimore, D. (1995) Embryonic lethality and liver degeneration in mice lacking the RelA component of NF- κ B. *Nature* **376**, 167-170.
153. Grumont, R. J., Rourke, I. J., O'Reilly, L. A., Strasser, A., Miyake, K., Sha, W. & Gerondakis, S. (1998) B lymphocytes differentially use the Rel and Nuclear Factor κ B1 (NF- κ B1) transcription factors to regulate cell cycle progression and apoptosis in quiescent and mitogen-activated cells. *J. Exp. Med.* **187**, 663-674.
154. Sha, W. C., Liou, H. C., Tuomanen, E. I. & Baltimore, D. (1995) Targeted disruption of the p50 subunit of NF-kappa B leads to multifocal defects in immune responses. *Cell* **80**, 321-30.
155. Beg, A. A., Sha, W. C., Bronson, R. T. & Baltimore, D. (1995) Constitutive NF-kappa B activation, enhanced granulopoiesis, and neonatal lethality in I kappa B alpha-deficient mice. *Genes Dev* **9**, 2736-46.
156. Weih, F., Carrasco, D., Durham, S. K., Barton, D. S., Rizzo, C. A., Ryseck, R. P., Lira, S. A. & Bravo, R. (1995) Multiorgan inflammation and hematopoietic abnormalities in mice with a targeted disruption of RelB, a member of the NF-kappa B/Rel family. *Cell* **80**, 331-40.
157. Kontgen, F., Grumont, R. J., Strasser, A., Metcalf, D., Li, R., Tarlinton, D. & Geronkadis, S. (1995) Mice lacking the c-rel proto-oncogene exhibit defects in lymphocyte proliferation, humoral immunity, and interleuin-2 expression. *Gene & Development* **9**, 1965-1977.
158. Grossmann, M., Metcalf, D., Merryfull, J., Beg, A., Baltimore, D. & Gerondakis, S. (1999) The combined absence of the transcription factors Rel and RelA leads to multiple hemopoietic cell defects. *Proc Natl Acad Sci U S A* **96**, 11848-53.
159. Li, Q., Van Antwerp, D., Mercurio, F., Lee, K. F. & Verma, I. M. (1999) Severe liver degeneration in mice lacking the I κ B kinase 2 gene. *Science* **284**, 321-5.
160. Hu, Y., Baud, V., Delhase, M., Zhang, P., Deerinck, T., Ellisman, M., Johnson, R. & Karin, M. (1999) Abnormal morphogenesis but intact IKK activation in mice lacking the IKK α subunit of I κ B kinase. *Science* **284**, 316-20.
161. Delhase, M., Hayakawa, M., Chen, Y. & Karin, M. (1999) Positive and negative regulation of IkappaB kinase activity through IKKbeta subunit phosphorylation [see comments]. *Science* **284**, 309-13.
162. Rudolph, D., Yeh, W. C., Wakeham, A., Rudolph, B., Nallainathan, D., Potter, J., Elia, A. J. & Mak, T. W. (2000) Severe liver degeneration and lack of NF-kappaB activation in NEMO/IKKgamma-deficient mice. *Genes Dev* **14**, 854-62.
163. Beg, A. B. & Baltimore, D. (1996) An essential role for NF- κ B in preventing TNF α -induced cell death. *Science* **274**, 782-784.
164. Doi, T. S., Marino, M. W., Takahashi, T., Yoshida, T., Sakakura, T., Old, L. J. & Obata, Y. (1999) Absence of tumor necrosis factor rescues RelA-deficient mice from embryonic lethality. *Proc Natl Acad Sci U S A* **96**, 2994-9.

165. Seitz, C. S., Freiberg, R. A., Hinata, K. & Khavari, P. A. (2000) NF-kappaB determines localization and features of cell death in epidermis. *J Clin Invest* **105**, 253-60.
166. Madrid, L. V., Wang, C. Y., Guttridge, D. C., Schottelius, A. J., Baldwin, A. S., Jr. & Mayo, M. W. (2000) Akt suppresses apoptosis by stimulating the transactivation potential of the RelA/p65 subunit of NF-kappaB. *Mol Cell Biol* **20**, 1626-38.
167. Bertrand, F., Atfi, A., Cadoret, A., L'Allemain, G., Robin, H., Lascols, O., Capeau, J. & Cherqui, G. (1998) A role for Nuclear Factor κ B in the antiapoptotic function of insulin. *The Journal of the Biological Chemistry* **273**, 2931-2938.
168. Scatena, M., Almeida, M., Chaisson, M. L., Fausto, N., Nicosia, R. F. & Giachelli, C. M. (1998) NF- κ B mediates α 5 β 3 integrin-induced endothelial cell survival. *The Journal of Cell Biology* **141**, 1083-1093.
169. Manna, S. K. & Aggarwal, B. B. (1999) Lipopolysaccharide inhibits TNF-induced apoptosis: role of NF- κ B activation and reactive oxygen intermediates. *J. Immunol.* **162**, 1510-8.
170. Zong, W. X., Bash, J. & Gelinas, C. (1998) Rel blocks both anti-Fas- and TNF α -induced apoptosis and an intact Rel transactivation domain is essential for this effect. *Cell Death Differ* **5**, 963-72.
171. Liu, Z.-G., Hsu, H., V.Goeddel, D. & Karin, M. (1996) Dissection of TNF Receptor 1 effector functions: JNK activation is not linked to apoptosis while NF- κ B activation prevents cell death. *Cell* **87**, 565-576.
172. Arsura, M., Wu, M. & Sonenshein, G. E. (1996) TGF- β 1 inhibits NF- κ B/Rel activity inducing apoptosis of B cells: transcriptional activation of I κ B α . *Immunity* **5**, 31-40.
173. Wu, M., Lee, H., Bellas, R. E., Schauer, S. L., Arsura, M., Katz, D., Fitzgerald, M. J., Rothstein, T. L., Sherr, D. H. & Sonenshein, G. E. (1996) Inhibition of NF- κ B/Rel induces apoptosis of murine B cells. *EMBO J.* **15**, 4682-4690.
174. Wang, C. Y., Mayo, M. W. & Baldwin Jr, A. S. (1996) TNF- and cancer therapy-induced apoptosis: potentiation by inhibition of NF- κ B. *Science* **274**, 784-786.
175. Keane, M. M., Rubinstein, Y., Cuello, M., Ettenberg, S. A., Banerjee, P., Nau, M. M. & Lipkowitz, S. (2001) Inhibition of NF-kappaB activity enhances TRAIL mediated apoptosis in breast cancer cell lines. *Breast Cancer Res Treat* **64**, 211-9.
176. Abbadie, C., Kabrun, N., Bouali, F., Smardova, J., Stehelin, D., Vandebunder, B. & Enrietto, P. J. (1993) High level of c-rel expression are associated with programmed cell death in the developing avian embryo and in bone marrow cells in vitro. *Cell* **75**, 899-912.
177. Huguet, C., Mattot, V., Bouali, F., Stehelin, D., Vandebunder, B. & Abbadie, C. (1997) The avian transcription factor c-rel is induced and translocates into the nucleus of thymocytes undergoing apoptosis. *Cell Death and Differ* **4**, 1-10.
178. Sheehy, A. M. & Schlissel, M. S. (1999) Overexpression of RelA causes G1 arrest and apoptosis in a pro-B cell line. *J Biol Chem* **274**, 8708-16.
179. Sohur, U. S., Chen, C. L., Hicks, D. J., Yull, F. E. & Kerr, L. D. (2000) Nuclear factor-kappaB/Rel is apoptogenic in cytokine withdrawal-induced programmed cell death. *Cancer Res* **60**, 1202-5.
180. Grimm, S., Bauer, M. K. A., Baeuerle, P. A. & Schulze-Osthoff, K. (1996) Bcl-2 down-regulates the activity of transcription factor NF-kappaB induced upon apoptosis. *The journal of Cell Biology* **134**, 13-23.
181. Schneider, A., Martin-Villalba, A., Weih, F., Vogel, J., Wirth, T. & Schwaninger, M. (1999) NF- κ B is activated and promotes cell death in focal cerebral ischemia. *Nat Med* **5**, 554-9.

182. Ryan, K. M., Ernst, M. K., Rice, N. R. & Vousden, K. H. (2000) Role of NF-kappaB in p53-mediated programmed cell death [In Process Citation]. *Nature* **404**, 892-7.
183. Ivanov, V. N. & Ronai, Z. (2000) p38 protects human melanoma cells from UV-induced apoptosis through down-regulation of NF-kappaB activity and Fas expression. *Oncogene* **19**, 3003-12.
184. Grilli, M., Pizzi, M., Memo, M. & Spano, P. (1996) Neuroprotection by aspirin and sodium salicylate through blockade of NF-kB activation. *Science* **274**, 1383-1385.
185. Bessho, R., Matsubara, K., Kubota, M., Kuwakado, K., Hirota, H., Wakazono, Y., Lin, Y. W., Okuda, A., Kawai, M., Nishikomori, R. & Heike, T. (1994) Pyrrolidine dithiocarbamate, a potent inhibitor of nuclear factor kB (NF-kB) activation, prevents apoptosis in human promyelocytic leukemia HL-60 cells and thymocytes. *Biochemical Pharmacology* **48**, 1883-1889.
186. Kothny-Wilkes, G., Kulms, D., Poppelmann, B., Luger, T. A., Kubin, M. & Schwarz, T. (1998) Interleukin-1 protects transformed keratinocytes from tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand. *J Biol Chem* **273**, 29247-53.
187. Kothny-Wilkes, G., Kulms, D., Luger, T. A., Kubin, M. & Schwarz, T. (1999) Interleukin-1 protects transformed keratinocytes from tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand- and CD95-induced apoptosis but not from ultraviolet radiation-induced apoptosis. *J Biol Chem* **274**, 28916-21.
188. Schneider, P. & Tschopp, J. (2000) Apoptosis induced by death receptors. *Pharm Acta Helv* **74**, 281-6.
189. Luo, X., Budihardjo, I., Zou, H., Slaughter, C. & Wang, X. (1998) Bid, a Bcl2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors. *Cell* **94**, 481-90.
190. Hsu, H., Shu, H. B., Pan, M. G. & Goeddel, D. V. (1996) TRADD-TRAF2 and TRADD-FADD interactions define two distinct TNF receptor 1 signal transduction pathways. *Cell* **84**, 299-308.
191. Stehlik, C., De Martin, R., Kumabashiri, I., Schmid, J. A., Binder, B. R. & Lipp, J. (1998) NF-kB-regulated XIAP gene expression protects endothelial cells from TNF α -induced apoptosis. *J. Exp. Med.* **188**, 211-216.
192. Chu, Z. L., McKinsey, T. A., Liu, L., Gentry, J. J., Malim, M. H. & Ballard, D. W. (1997) Suppression of tumor necrosis factor-induced cell death by inhibitor of apoptosis c-IAP2 is under NF-kappaB control. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**, 10057-62.
193. Wang, C. Y., Mayo, M. W., Korneluk, R. G., Goeddel, D. V. & Baldwin, A. S., Jr. (1998) NF-kB antiapoptosis: induction of TRAF1 and TRAF2 and c-IAP1 and c-IAP2 to suppress caspase-8 activation. *Science* **281**, 1680-3.
194. Ueda, T., Akiyama, N., Sai, H., Oya, N., Noda, M., Hiraoka, M. & Kizaka-Kondoh, S. (2001) c-IAP2 is induced by ionizing radiation through NF-kappaB binding sites. *FEBS Lett* **491**, 40-44.
195. Bertrand, F., Desbois-Mouthon, C., Cadoret, A., Prunier, C., Robin, H., Capeau, J., Atfi, A. & Cherqui, G. (1999) Insulin antiapoptotic signaling involves insulin activation of the NF-kB-dependent survival genes encoding TRAF2 and MnSOD. *J. Biol. Chem.* **274**, 30596-30602.
196. Deveraux, Q. L. & Reed, J. C. (1999) IAP family proteins--suppressors of apoptosis. *Genes Dev.* **13**, 239-52.
197. Laherty, C. D., Hu, H. M., Opipari, A. W., Wang, F. & Dixit, V. M. (1992) The Epstein-Barr virus LMP1 gene product induces A20 zinc finger protein expression by activating nuclear factor kappa B. *J Biol Chem* **267**, 24157-60.

198. Krikos, A., Laherty, C. D. & Dixit, V. M. (1992) Transcriptional activation of the tumor necrosis factor alpha-inducible zinc finger protein, A20, is mediated by kappa B elements. *J Biol Chem* **267**, 17971-6.
199. Lee, E. G., Boone, D. L., Chai, S., Libby, S. L., Chien, M., Lodolce, J. P. & Ma, A. (2000) Failure to regulate TNF-induced NF-kappaB and cell death responses in A20-deficient mice. *Science* **289**, 2350-4.
200. Shu, H. B., Takeuchi, M. & Goeddel, D. V. (1996) The tumor necrosis factor receptor 2 signal transducers TRAF2 and c-IAP1 are components of the tumor necrosis factor receptor 1 signaling complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**, 13973-8.
201. Rothe, M., Wong, S. C., Henzel, W. J. & Goeddel, D. V. (1994) A novel family of putative signal transducers associated with the cytoplasmic domain of the 75 kDa tumor necrosis factor receptor. *Cell* **78**, 681-92.
202. Zhang, S. Q., Kovalenko, A., Cantarella, G. & Wallach, D. (2000) Recruitment of the IKK signalosome to the p55 TNF receptor: RIP and A20 bind to NEMO (IKKgamma) upon receptor stimulation. *Immunity* **12**, 301-11.
203. Rothe, M., Pan, M. G., Henzel, W. J., Ayres, T. M. & Goeddel, D. V. (1995) The TNFR2-TRAF signaling complex contains two novel proteins related to baculoviral inhibitor of apoptosis proteins. *Cell* **83**, 1243-52.
204. Heyninck, K., De Valck, D., Vanden Berghe, W., Van Crielinge, W., Contreras, R., Fiers, W., Haegeman, G. & Beyaert, R. (1999) The zinc finger protein A20 inhibits TNF-induced NF-kappaB-dependent gene expression by interfering with an RIP- or TRAF2-mediated transactivation signal and directly binds to a novel NF-kappaB-inhibiting protein ABIN. *J Cell Biol* **145**, 1471-82.
205. Song, H. Y., Rothe, M. & Goeddel, D. V. (1996) The tumor necrosis factor-inducible zinc finger protein A20 interacts with TRAF1/TRAF2 and inhibits NF-kappaB activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**, 6721-5.
206. Rothe, M., Sarma, V., Dixit, V. M. & Goeddel, D. V. (1995) TRAF2-mediated activation of NF-kappa B by TNF receptor 2 and CD40. *Science* **269**, 1424-7.
207. Hofer-Warbinek, R., Schmid, J. A., Stehlik, C., Binder, B. R., Lipp, J. & de Martin, R. (2000) Activation of NF-kappa B by XIAP, the X chromosome-linked inhibitor of apoptosis, in endothelial cells involves TAK1. *J Biol Chem* **275**, 22064-8.
208. Levkau, B., Garton, K. J., Ferri, N., Kloke, K., Nofer, J. R., Baba, H. A., Raines, E. W. & Breithardt, G. (2001) xIAP Induces Cell-Cycle Arrest and Activates Nuclear Factor-kappaB : New Survival Pathways Disabled by Caspase-Mediated Cleavage During Apoptosis of Human Endothelial Cells. *Circ Res* **88**, 282-290.
209. Grossmann, M., O'Reilly, L. A., Gugasyan, R., Strasser, A., Adams, J. M. & Gerondakis, S. (2000) The anti-apoptotic activities of rel and RelA required during B-cell maturation involve the regulation of bcl-2 expression [In Process Citation]. *Embo J* **19**, 6351-60.
210. Tsukahara, T., Kannagi, M., Ohashi, T., Kato, H., Arai, M., Nunez, G., Iwanaga, Y., Yamamoto, N., Ohtani, K., Nakamura, M. & Fujii, M. (1999) Induction of bcl-x(L) expression by human T-cell leukemia virus type 1 Tax through NF-kB in apoptosis-resistant T-cell transfectants with Tax. *J. Virol.* **73**, 7981-7.
211. Wang, C.-Y., Guttridge, D. C., Mayo, M. W. & Baldwin Jr, A. S. (1999) NF-kB induces expression of the Bcl-2 homologue A1/Bfl-1 to preferentially suppress chemotherapy-induced apoptosis. *Mol. Cell. Biol.* **19**, 5923-5929.
212. Zong, W. X., Edelstein, L. C., Chen, C., Bash, J. & Gelinas, C. (1999) The prosurvival Bcl-2 homolog Bfl-1/A1 is a direct transcriptional target of NF-kB that blocks TNFalpha-induced apoptosis. *Genes Dev.* **13**, 382-7.

213. Grumont, R. J., Rourke, I. J. & Gerondakis, S. (1999) Rel-dependent induction of A1 transcription is required to protect B cells from antigen receptor ligation-induced apoptosis. *Genes Dev.* **13**, 400-11.
214. Lee, H. H., Dadgostar, H., Cheng, Q., Shu, J. & Cheng, G. (1999) NF- κ B-mediated up-regulation of Bcl-x and Bfl-1/A1 is required for CD40 survival signaling in B lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 9136-41.
215. Chen, C., Edelstein, L. C. & Gelinas, C. (2000) The Rel/NF-kappaB family directly activates expression of the apoptosis inhibitor Bcl-x(L). *Mol Cell Biol* **20**, 2687-95.
216. Cahir-McFarland, E. D., Davidson, D. M., Schauer, S. L., Duong, J. & Kieff, E. (2000) NF-kappa B inhibition causes spontaneous apoptosis in Epstein-Barr virus-transformed lymphoblastoid cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**, 6055-60.
217. Javelaud, D., Wietzerbin, J., Delattre, O. & Besancon, F. (2000) Induction of p21Waf1/Cip1 by TNFalpha requires NF-kappaB activity and antagonizes apoptosis in Ewing tumor cells. *Oncogene* **19**, 61-8.
218. Kajino, S., Suganuma, M., Teranishi, F., Takahashi, N., Tetsuka, T., Ohara, H., Itoh, M. & Okamoto, T. (2000) Evidence that de novo protein synthesis is dispensable for anti-apoptotic effects of NF-kappaB. *Oncogene* **19**, 2233-9.
219. Barkett, M., Xue, D., Horvitz, H. R. & Gilmore, T. D. (1997) Phosphorylation of IkappaB-alpha inhibits its cleavage by caspase CPP32 in vitro. *The Journal of Biological Chemistry* **272**, 29419-29422.
220. Levkau, B., Scatena, M., Giachelli, C. M., Ross, R. & Raines, E. W. (1999) Apoptosis overrides survival signals through a caspase-mediated dominant-negative NF-kappa B loop. *Nat Cell Biol* **1**, 227-33.
221. Ravi, R., Bedi, A., Fuchs, E. J. & Bedi, A. (1998) CD-95 (Fas)-induced caspase-mediated proteolysis of NF-kB. *Cancer Research* **58**, 882-886.
222. Kasibhatla, S., Brunner, T., Genestier, L., Echeverri, F., Mahboubi, A. & Green, D. R. (1998) DNA damaging agents induce expression of Fas ligand and subsequent apoptosis in T lymphocytes via the activation of NF-kB and AP-1. *Molecular Cell* **1**, 543-551.
223. Kasibhatla, S., Genestier, L. & Green, D. R. (1999) Regulation of Fas ligand expression during activation-induced cell death in T lymphocytes via NF-kB. *J Biol Chem* **274**, 987-92.
224. Chan, H., Bartos, D. P. & Owen-Schaub, L. B. (1999) Activation-dependent transcriptional regulation of the human Fas promoter requires NF-kappaB p50-p65 recruitment. *Mol Cell Biol* **19**, 2098-108.
225. Sohur, U. S., Dixit, M. N., Chen, C. L., Byrom, M. W. & Kerr, L. A. (1999) Rel/NF-kappaB represses bcl-2 transcription in pro-B lymphocytes. *Gene Expr* **8**, 219-29.
226. de Moissac, D., Zheng, H. & Kirshenbaum, L. A. (1999) Linkage of the BH4 domain of Bcl-2 and the nuclear factor kappaB signaling pathway for suppression of apoptosis [published erratum appears in J Biol Chem 2000 Jan 28;275(4):3016]. *J Biol Chem* **274**, 29505-9.
227. Qin, Z. H., Chen, R. W., Wang, Y., Nakai, M., Chuang, D. M. & Chase, T. N. (1999) NF-kB nuclear translocation upregulates c-Myc and p53 expression during NMDA receptor-mediated apoptosis in rat striatum. *J Neurosci* **19**, 4023-33.
228. Bash, J., Zong, W.-X. & Gélinas, C. (1997) c-Rel arrests the proliferation of HeLa cells and affects critical regulators of the G1/S-phase transition. *Mol. Cell. Biol.* **17**, 6526-6536.
229. Ikeda, A., Sun, X., Li, Y., Zhang, Y., Eckner, R., Doi, T. S., Takahashi, T., Obata, Y., Yoshioka, K. & Yamamoto, K. (2000) p300/CBP-dependent and -independent

- transcriptional interference between NF-kappaB RelA and p53. *Biochem Biophys Res Commun* **272**, 375-9.
230. Wadgaonkar, R., Phelps, K. M., Haque, Z., Williams, A. J., Silverman, E. S. & Collins, T. (1999) CREB-binding protein is a nuclear integrator of nuclear factor-kappaB and p53 signaling. *J Biol Chem* **274**, 1879-82.
 231. Webster, G. A. & Perkins, N. D. (1999) Transcriptional cross talk between NF-kappaB and p53. *Mol Cell Biol* **19**, 3485-95.
 232. Kawai, H., Yamada, Y., Tatsuka, M., Niwa, O., Yamamoto, K. & Suzuki, F. (1999) Down-regulation of nuclear factor kappaB is required for p53-dependent apoptosis in X-ray-irradiated mouse lymphoma cells and thymocytes. *Cancer Res* **59**, 6038-41.
 233. Boland, M. P., Foster, S. J. & O'Neil, L. A. J. (1997) Daunorubicin activates NFkB and induces kB-dependent gene expression in HL-60 promyelocytic and Jurkat T Lymphoma cells. *The Journal of Biological Chemistry* **272**, 12952-12960.
 234. Piret, B. & Piette, J. (1996) Topoisomerase poisons activate the transcription factor NF-kappaB in ACH-2 and CEM cells. *Nucleic Acids Res* **24**, 4242-8.
 235. Maldonado, V., Melendez-Zajgla, J. & Ortega, A. (1997) Modulation of NF-kappa B, and Bcl-2 in apoptosis induced by cisplatin in HeLa cells. *Mutat Res* **381**, 67-75.
 236. Waddick, K. G. & Uckun, F. M. (1999) Innovative treatment against cancer. II. Nuclear factor- κ B as a molecular target. *Biochemical Pharmacology* **57**, 9-17.
 237. Huang, Y., Johnson, K. R., Norris, J. S. & Fan, W. (2000) Nuclear factor-kappaB/IkappaB signaling pathway may contribute to the mediation of paclitaxel-induced apoptosis in solid tumor cells. *Cancer Res* **60**, 4426-32.
 238. Patel, N. M., Nozaki, S., Shortle, N. H., Bhat-Nakshatri, P., Newton, T. R., Rice, S., Gelfanov, V., Boswell, S. H., Goulet, R. J., Jr., Sledge, G. W., Jr. & Nakshatri, H. (2000) Paclitaxel sensitivity of breast cancer cells with constitutively active NF-kappaB is enhanced by IkappaBalpha super-repressor and parthenolide. *Oncogene* **19**, 4159-69.
 239. Bentires-Alj, M., Hellin, A. C., Ameyar, M., Chouaib, S., Merville, M. P. & Bours, V. (1999) Stable inhibition of nuclear factor kappaB in cancer cells does not increase sensitivity to cytotoxic drugs. *Cancer Res* **59**, 811-5.
 240. Cusack, J. C., Jr., Liu, R. & Baldwin, A. S., Jr. (2000) Inducible chemoresistance to 7-ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-piperidino]-carbonyloxycamptothecin (CPT-11) in colorectal cancer cells and a xenograft model is overcome by inhibition of nuclear factor-kappaB activation. *Cancer Res* **60**, 2323-30.
 241. Wang, C. Y., Cusack, J. C., Jr., Liu, R. & Baldwin, A. S., Jr. (1999) Control of inducible chemoresistance: enhanced anti-tumor therapy through increased apoptosis by inhibition of NF-kappaB. *Nat Med* **5**, 412-7.
 242. Carrasco, D., Cheng, J., Lewin, A., Warr, G., Yang, H., Rizzo, C., Rosas, F., Snapper, C. & Bravo, R. (1998) Multiple hemopoietic defects and lymphoid hyperplasia in mice lacking the transcriptional activation domain of the c-Rel protein. *J Exp Med* **187**, 973-84.
 243. Limuro, Y., Nishiura, T., Hellerbrand, C., Behrns, K. E., Schoonhoven, R. & Grisham, J. W. (1998) NFkB prevents apoptosis and liver dysfunction during liver regeneration. *Journal of Clinical Investigation* **101**, 802-811.
 244. Arsura, M., Mercurio, F., Oliver, A. L., Thorgeirsson, S. S. & Sonenshein, G. E. (2000) Role of the IkappaB kinase complex in oncogenic Ras- and Raf-mediated transformation of rat liver epithelial cells. *Mol Cell Biol* **20**, 5381-91.
 245. Higgins, K. A., Perez, J. R., Coleman, T. A., Dorshkind, K., McComas, W. A., Sarmiento, U. M., Rosen, C. A. & Narayanan, R. (1993) Antisense inhibition of the

- p65 subunit of NF-kappa B blocks tumorigenicity and causes tumor regression. *Proc Natl Acad Sci U S A* **90**, 9901-5.
246. Guttridge, D. C., Albanese, C., Reuther, J. Y., Pestell, R. G. & Baldwin JR, A. S. (1999) NF- κ B controls cell growth and differentiation through transcriptional regulation of cyclin D1. *Mol. Cell. Biol.* **19**, 5785-5799.
 247. Kaltschmidt, B., Kaltschmidt, C., Hehner, S. P., Droge, W. & Schmitz, M. L. (1999) Repression of NF-kappaB impairs HeLa cell proliferation by functional interference with cell cycle checkpoint regulators [In Process Citation]. *Oncogene* **18**, 3213-25.
 248. Hinz, M., Krappmann, D., Eichten, A., Heder, A., Scheidereit, C. & Strauss, M. (1999) NF- κ B function in growth control: regulation of cyclin D1 expression and G0/G1-to-S-phase transition. *Mol. Cell. Biol.* **19**, 2690-8.
 249. Joyce, D., Bouzahzah, B., Fu, M., Albanese, C., D'Amico, M., Steer, J., Klein, J. U., Lee, R. J., Segall, J. E., Westwick, J. K., Der, C. J. & Pestell, R. G. (1999) Integration of Rac-dependent regulation of cyclin D1 transcription through a nuclear factor-kappaB-dependent pathway. *J Biol Chem* **274**, 25245-9.
 250. Schmidt-Suppran, M., Bloch, W., Courtois, G., Addicks, K., Israel, A., Rajewsky, K. & Pasparakis, M. (2000) NEMO/IKK gamma-deficient mice model incontinentia pigmenti [In Process Citation]. *Mol Cell* **5**, 981-92.
 251. Seitz, C. S., Deng, H., Hinata, K., Lin, Q. & Khavari, P. A. (2000) Nuclear factor kappaB subunits induce epithelial cell growth arrest. *Cancer Res* **60**, 4085-92.
 252. van Hogerlinden, M., Rozell, B. L., Ahrlund-Richter, L. & Toftgard, R. (1999) Squamous cell carcinomas and increased apoptosis in skin with inhibited Rel/nuclear factor-kappaB signaling. *Cancer Res* **59**, 3299-303.
 253. Wong, G. H. & Goeddel, D. V. (1988) Induction of MnSOD by TNF: possible protective mechanism. *Science* **242**, 941-944.
 254. Wong, G. H. W., Elwell, J. H., Oberley, L. W. & Goeddel, D. V. (1989) MnSOD is essential for cellular resistance to cytotoxicity of TNF. *Cell* **58**, 923-931.
 255. Li, J. J., Oberley, L. W., St Clair, D. K., Ridnour, L. A. & Oberley, T. D. (1995) Phenotypic changes induced in human breast cancer cells by overexpression of MnSOD. *Oncogene* **10**, 1989-2000.
 256. Church, S. L., Grant, J. W., Ridnour, L. A., Oberley, L. W., Swanson, P. E., Meltzer, P. S. & Trent, J. M. (1993) Increased MnSOD expression suppresses the malignant phenotype of human melanoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 3113-3117.
 257. Zhong, W., Oberley, L. W., Oberley, T. D., Yan, T., Domann, F. E. & St Clair, D. K. (1996) Inhibition of cell growth and sensitization to oxidative damage by overexpression of MnSOD in rat glioma cells. *Cell Growth Differ.* **7**, 1175-1186.
 258. Li, N., Zhai, Y. & Oberley, T. D. (1999) Two distinct mechanisms for inhibition of cell growth in human prostate carcinoma cells with antioxidant enzyme imbalance. *Free Radic. Biol. Med.* **26**, 1554-68.
 259. Hennes, T., Richter, C. & Peterhans, E. (1993) TNF- α induces superoxide anion generation in mitochondria of L929 cells. *Biochem. J* **289**, 587-92.
 260. Brunk, U. T., Jones, C. B. & Sohal, R. S. (1992) A novel hypothesis of lipofuscinogenesis and cellular aging based on interactions between oxidative stress and autophagocytosis. *Mutat Res* **275**, 395-403.
 261. Yin, D. (1996) Biochemical basis of lipofuscin, ceroid, and age pigment-like fluorophores. *Free Radic Biol Med* **21**, 871-88.
 262. Dimri, G. P., Lee, X., Basile, G., Acosta, M., Scott, G., Roskelley, C., Medrano, E. E., Linskens, M., Rubelj, I., Pereira-Smith, O. & et al. (1995) A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* **92**, 9363-7.

263. Lundberg, A. S., Hahn, W. C., Gupta, P. & Weinberg, R. A. (2000) Genes involved in senescence and immortalization. *Curr Opin Cell Biol* **12**, 705-9.
264. Tsujii, M. & DuBois, R. N. (1995) Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2. *Cell* **83**, 493-501.
265. Davaille, J., Gallois, C., Habib, A., Li, L., Mallat, A., Tao, J., Levade, T. & Lotersztajn, S. (2000) Antiproliferative properties of sphingosine 1-phosphate in human hepatic myofibroblasts. A CYCLOOXYGENASE-2 MEDIATED PATHWAY [In Process Citation]. *J Biol Chem* **275**, 34628-33.
266. Chung, H. Y., Kim, H. J., Shim, K. H. & Kim, K. W. (1999) Dietary modulation of prostanoid synthesis in the aging process: role of cyclooxygenase-2. *Mech Ageing Dev* **111**, 97-106.
267. Helenius, M., Hanninen, M., Lehtinen, S. K. & Salminen, A. (1996) Changes associated with aging and replicative senescence in the regulation of transcription factor nuclear factor-kappa B. *Biochem J* **318**, 603-8.
268. Dumont, P., Burton, M., Chen, Q. M., Gonos, E. S., Fripiat, C., Mazarati, J. B., Eliaers, F., Remacle, J. & Toussaint, O. (2000) Induction of replicative senescence biomarkers by sublethal oxidative stresses in normal human fibroblast. *Free Radic Biol Med* **28**, 361-73.
269. McAnulty, R. J., Hernandez-Rodriguez, N. A., Mutsaers, S. E., Coker, R. K. & Laurent, G. J. (1997) Indomethacin suppresses the anti-proliferative effects of transforming growth factor-beta isoforms on fibroblast cell cultures. *Biochem J* **321**, 639-43.
270. Hsi, L. C. & Eling, T. E. (1998) Inhibition of EGF-dependent mitogenesis by prostaglandin E2 in Syrian hamster embryo fibroblasts. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **58**, 271-81.
271. Castano, E., Dalmau, M., Marti, M., Berrocal, F., Bartrons, R. & Gil, J. (1997) Inhibition of DNA synthesis by aspirin in Swiss 3T3 fibroblasts. *J Pharmacol Exp Ther* **280**, 366-72.
272. Pan, G., Ni, J., Wei, Y. F., Yu, G., Gentz, R. & Dixit, V. M. (1997) An antagonist decoy receptor and a death domain-containing receptor for TRAIL [see comments]. *Science* **277**, 815-8.
273. Sheridan, J. P., Marsters, S. A., Pitti, R. M., Gurney, A., Skubatch, M., Baldwin, D., Ramakrishnan, L., Gray, C. L., Baker, K., Wood, W. I., Goddard, A. D., Godowski, P. & Ashkenazi, A. (1997) Control of TRAIL-induced apoptosis by a family of signaling and decoy receptors [see comments]. *Science* **277**, 818-21.
274. Weil, M., Raff, M. C. & Braga, V. M. (1999) Caspase activation in the terminal differentiation of human epidermal keratinocytes. *Curr Biol* **9**, 361-4.
275. Watt, F. M. & Jones, P. H. (1993) Expression and function of the keratinocyte integrins. *Dev Suppl*, 185-92.
276. Watt, F. M. (1989) Terminal differentiation of epidermal keratinocytes. *Curr Opin Cell Biol* **1**, 1107-15.
277. Schroder, J. M. (1995) Cytokine networks in the skin. *J Invest Dermatol* **105**, 20S-24S.
278. Rauschmayr, T., Groves, R. W. & Kupper, T. S. (1997) Keratinocyte expression of the type 2 interleukin 1 receptor mediates local and specific inhibition of interleukin 1-mediated inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**, 5814-9.
279. Jensen, L. E. & Whitehead, A. S. (1998) Regulation of serum amyloid A protein expression during the acute-phase response. *Biochem J* **334**, 489-503.

280. Bluysen, H. A., Vlietstra, R. J., Faber, P. W., Smit, E. M., Hagemeyer, A. & Trapman, J. (1994) Structure, chromosome localization, and regulation of expression of the interferon-regulated mouse *Ifi54/Ifi56* gene family. *Genomics* **24**, 137-48.
281. Klement, J. F., Rice, N. R., Car, B. D., Abbondanzo, S. J., Powers, G. D., Bhatt, P. H., Chen, C. H., Rosen, C. A. & Stewart, C. L. (1996) $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ deficiency results in a sustained NF- κB response and severe widespread dermatitis in mice. *Mol Cell Biol* **16**, 2341-9.
282. Hu, Y., Baud, V., Oga, T., Kim, K. I., Yoshida, K. & Karin, M. (2001) IKK α controls formation of the epidermis independently of NF- κB . *Nature* **410**, 710-4.
283. Steven, A. C. & Steinert, P. M. (1994) Protein composition of cornified cell envelopes of epidermal keratinocytes. *J Cell Sci* **107**, 693-700.
284. Forsum, U. & Tjernlund, U. M. (1977) Epidermal location of beta-2-microglobulin in human skin. *Acta Derm Venereol* **57**, 121-3.
285. Fuchs, E. (1993) Epidermal differentiation and keratin gene expression. *J Cell Sci Suppl* **17**, 197-208.
286. Nievers, M. G., Kuikman, I., Geerts, D., Leigh, I. M. & Sonnenberg, A. (2000) Formation of hemidesmosome-like structures in the absence of ligand binding by the $(\alpha)6(\beta)4$ integrin requires binding of HD1/plectin to the cytoplasmic domain of the $(\beta)4$ integrin subunit. *J Cell Sci* **113**, 963-73.
287. Kallio, M., Weinstein, J., Daum, J. R., Burke, D. J. & Gorbsky, G. J. (1998) Mammalian p53CDC mediates association of the spindle checkpoint protein Mad2 with the cyclosome/anaphase-promoting complex, and is involved in regulating anaphase onset and late mitotic events. *J Cell Biol* **141**, 1393-406.
288. Weinstein, J., Jacobsen, F. W., Hsu-Chen, J., Wu, T. & Baum, L. G. (1994) A novel mammalian protein, p53CDC, present in dividing cells is associated with protein kinase activity and has homology to the *Saccharomyces cerevisiae* cell division cycle proteins Cdc20 and Cdc4. *Mol Cell Biol* **14**, 3350-63.
289. Lee, C. K., Weindruch, R. & Prolla, T. A. (2000) Gene-expression profile of the ageing brain in mice. *Nat Genet* **25**, 294-7.
290. Shelton, D. N., Chang, E., Whittier, P. S., Choi, D. & Funk, W. D. (1999) Microarray analysis of replicative senescence. *Curr Biol* **9**, 939-45.
291. De Haan, J. B., Cristiano, F., Iannello, R., Bladier, C., Kelner, M. J. & Kola, I. (1996) Elevation in the ratio of Cu/Zn-SOD to glutathione peroxidase activity induces features of cellular senescence and this effect is mediated by hydrogen peroxide. *Hum. Mol. Genet.* **5**, 283-92.
292. Wallace, D. C. (1999) Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science* **283**, 1482-8.
293. Saraste, M. (1999) Oxidative phosphorylation at the fin de siecle. *Science* **283**, 1488-93.
294. Manna, S. K., Zhang, H. J., Yan, T., Oberley, L. W. & Aggarwal, B. B. (1998) Overexpression of manganese superoxide dismutase suppresses tumor necrosis factor-induced apoptosis and activation of nuclear transcription factor- κB and activated protein-1. *J. Biol. Chem.* **273**, 13245-13254.
295. Moreno-Manzano, V., Ishikawa, Y., Lucio-Cazana, J. & Kitamura, M. (2000) Selective involvement of superoxide anion, but not downstream compounds hydrogen peroxide and peroxynitrite, in tumor necrosis factor- α -induced apoptosis of rat mesangial cells. *J Biol Chem* **275**, 12684-91.
296. Condliffe, A. M., Hawkins, P. T., Stephens, L. R., Haslett, C. & Chilvers, E. R. (1998) Priming of human neutrophil superoxide generation by tumour necrosis factor- α is signalled by enhanced phosphatidylinositol 3,4,5- trisphosphate but not inositol 1,4,5- trisphosphate accumulation. *FEBS Lett* **439**, 147-51.

297. Sitte, N., Merker, K., Von Zglinicki, T., Grune, T. & Davies, K. J. (2000) Protein oxidation and degradation during cellular senescence of human BJ fibroblasts: part I--effects of proliferative senescence. *Faseb J* **14**, 2495-502.
298. Chen, Q. & Ames, B. N. (1994) Senescence-like growth arrest induced by hydrogen peroxide in human diploid fibroblast F65 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **91**, 4130-4.
299. Chen, Q. M., Bartholomew, J. C., Campisi, J., Acosta, M., Reagan, J. D. & Ames, B. N. (1998) Molecular analysis of H₂O₂-induced senescent-like growth arrest in normal human fibroblasts: p53 and Rb control G1 arrest but not cell replication. *Biochem J* **332**, 43-50.
300. Atamna, H., Paler-Martinez, A. & Ames, B. N. (2000) N-t-butyl hydroxylamine, a hydrolysis product of alpha-phenyl-N-t-butyl nitron, is more potent in delaying senescence in human lung fibroblasts. *J Biol Chem* **275**, 6741-8.
301. Kapahi, P., Boulton, M. E. & Kirkwood, T. B. (1999) Positive correlation between mammalian life span and cellular resistance to stress. *Free Radic Biol Med* **26**, 495-500.
302. Melov, S., Ravenscroft, J., Malik, S., Gill, M. S., Walker, D. W., Clayton, P. E., Wallace, D. C., Malfroy, B., Doctrow, S. R. & Lithgow, G. J. (2000) Extension of life-span with superoxide dismutase/catalase mimetics. *Science* **289**, 1567-9.
303. Migliaccio, E., Giorgio, M., Mele, S., Pelicci, G., Reboldi, P., Pandolfi, P. P., Lanfrancone, L. & Pelicci, P. G. (1999) The p66shc adaptor protein controls oxidative stress response and life span in mammals. *Nature* **402**, 309-13.
304. Korhonen, P., Helenius, M. & Salminen, A. (1997) Age-related changes in the regulation of transcription factor NF-kappa B in rat brain. *Neurosci Lett* **225**, 61-4.
305. Supakar, P. C., Jung, M. H., Song, C. S., Chatterjee, B. & Roy, A. K. (1995) Nuclear factor kappa B functions as a negative regulator for the rat androgen receptor gene and NF-kappa B activity increases during the age-dependent desensitization of the liver. *J Biol Chem* **270**, 837-42.
306. Xiao, Z. Q. & Majumdar, A. P. (2000) Induction of transcriptional activity of AP-1 and NF-kappaB in the gastric mucosa during aging. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **278**, G855-65.
307. Kim, H. J., Kim, K. W., Yu, B. P. & Chung, H. Y. (2000) The effect of age on cyclooxygenase-2 gene expression: NF-kappaB activation and IkappaBalpha degradation. *Free Radic Biol Med* **28**, 683-92.
308. Tobin, D., van Hogerlinden, M. & Toftgard, R. (1998) UVB-induced association of tumor necrosis factor (TNF) receptor 1/TNF receptor-associated factor-2 mediates activation of Rel proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**, 565-9.
309. Scharffetter-Kochanek, K., Brenneisen, P., Wenk, J., Herrmann, G., Ma, W., Kuhr, L., Meewes, C. & Wlaschek, M. (2000) Photoaging of the skin from phenotype to mechanisms. *Exp Gerontol* **35**, 307-16.
310. Wenk, J., Brenneisen, P., Meewes, C., Wlaschek, M., Peters, T., Blandschun, R., Ma, W., Kuhr, L., Schneider, L. & Scharffetter-Kochanek, K. (2001) UV-induced oxidative stress and photoaging. *Curr Probl Dermatol* **29**, 83-94.
311. Bender, K., Gottlicher, M., Whiteside, S., Rahmsdorf, H. J. & Herrlich, P. (1998) Sequential DNA damage-independent and -dependent activation of NF-kappaB by UV. *Embo J* **17**, 5170-81.

RESUME

Les facteurs de transcription Rel/NF- κ B sont ubiquistes, mais le plus souvent ils sont inactifs parce que retenus dans le cytoplasme par les protéines inhibitrices I κ B. Leur activité transcriptionnelle dépend de la dégradation d'I κ B et de leur relocalisation dans le noyau. Lorsque nous avons commencé ce travail il y avait de nombreuses contradictions dans la littérature quant au rôle de ces facteurs dans le contrôle de la prolifération et de l'apoptose. En effet, ils apparaissaient comme ayant des activités antagonistes sur ces 2 processus, mais dans des systèmes expérimentaux très variés. Nous avons donc décrit l'ensemble des effets de c-Rel, un membre de la famille Rel/NF- κ B, sur l'apoptose et la prolifération dans un même système expérimental. Nous avons ensuite essayé de comprendre les mécanismes moléculaires par lesquels il agit dans ces processus.

La surexpression de c-Rel, dans des cellules épithéliales transformées, les cellules HeLa, provoque un arrêt de prolifération, l'accumulation de lipofuscine, une protection contre l'apoptose induite par le TNF α et en même temps induit une augmentation de l'apoptose. L'ensemble de ces effets semblent, au moins en partie, dû à l'induction de la MnSOD. L'induction de la MnSOD induit l'accumulation d'H₂O₂, lequel, selon son niveau, pourrait induire un arrêt de prolifération et la formation de lipofuscine, ou bien l'apoptose. Excepté l'induction d'apoptose, tous ces phénotypes apparaissent lors de la sénescence. Nous avons donc recherché un rôle des facteurs Rel/NF- κ B dans la sénescence et nous avons montré qu'ils participent à la sénescence de cellules épithéliales normales alors qu'ils n'y participent pas dans des fibroblastes normaux.

La recherche de gènes cibles par DNA array nous a permis d'une part de caractériser un nouveau gène cible des facteurs Rel/NF- κ B, le récepteur leurre DcR1, responsable de la résistance à l'apoptose induite par TRAIL et d'autre part de proposer que les facteurs Rel/NF- κ B puissent aussi agir dans la différenciation et la réponse inflammatoire de l'épiderme.