

FORMATION CONTINUE – ARTICLE DE SYNTHÈSE

Les protéines de choc thermique (*heat shock proteins*). I : Classification, structure, fonctions et implications dans les processus pathologiques.

WIRTH D. *, GUSTIN P. *, DRION P.V. **, DESSY-DOIZE C. ***, CHRISTIANS E.S.¹

Université de Liège - Faculté de Médecine Vétérinaire - bd de Colonster, B41, 4000 Liège

* Service de Pharmacologie -Toxicologie,

** Service de Physiologie de la Reproduction

*** Service d'Histologie et Embryologie

¹ Department of Internal Medicine, Molecular Cardiology Research Laboratories, the University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, Texas 75390-8573

Correspondance :

Drs P. GUSTIN & D. WIRTH.,

Tél. : 0032(0)4/366.41.75 – Fax : 0032(0)4/366.41.76 – Email : p.gustin@ulg.ac.be

RESUME : Tout organisme est doté de mécanismes lui permettant de résister à de brusques changements de son environnement. Exposées à une température anormalement élevée, la plupart des cellules activent l'expression d'une classe particulière de protéines appelées les protéines de choc thermique (*Heat Shock Proteins*, Hsps). Cette réponse cellulaire au choc thermique placée sous le contrôle de facteurs de transcription spécifiques, les facteurs de choc thermique (*Heat shock factor*, HSF) est un mécanisme conservé au travers de l'évolution depuis les bactéries jusqu'à l'homme. Les protéines de choc thermique qui sont divisées en familles désignées par leur masse moléculaire (Hsp25, 40, 70, 90, 105) font partie des molécules chaperons qui s'associent à d'autres molécules (protéines, ARNs) et en protègent la destinée. Le rôle des Hsp est d'empêcher l'accumulation de protéines anormales en aidant à conformer correctement les polypeptides ou en les dirigeant vers le protéosome qui les détruit. En tant que chaperons, les Hsp sont impliquées dans de nombreux processus pathologiques qui s'accompagnent d'altérations des protéines comme les maladies chroniques et dégénératives. Cette revue décrit les spécificités structurelles et fonctionnelles des six familles principales d'Hsp ainsi que leur intervention à différents niveaux dans les pathologies les mieux étudiées. La multiplicité de l'implication des Hsp dans ces phénomènes pathologiques les désigne comme cibles privilégiées dans le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

INTRODUCTION

Tous les organismes répondent à une augmentation de température de quelques degrés au-dessus du niveau physiologique par l'induction de la synthèse d'un groupe de protéines appelées, de ce fait, les protéines de choc thermiques ou Hsps pour « *heat shock proteins* ». Ce phénomène physiologique est classiquement appelé « réponse au choc thermique » (*heat shock response*). Cette réponse est universelle et représente le système génétique le plus hautement conservé

dans des organismes aussi divers que les bactéries, les animaux et les plantes (Lindquist, 1986). Les Hsp ont elles-mêmes un haut degré d'homologie entre elles ; elles sont ubiquitaires et abondantes dans tous les compartiments subcellulaires. La grande conservation des gènes codant pour les Hsp à travers l'évolution suggère que ces protéines possèdent une fonction essentielle pour la survie de l'organisme.

La fonction commune des Hsp est caractérisée par le terme de « chape-

ron moléculaire ». Le terme « chaperon » fut à l'origine utilisé pour désigner le rôle joué par la nucléoplasmine impliquée dans le transport nucléo-cytoplasmique d'autres protéines (Laskey *et al.*, 1978). Ce même terme fut choisi par John Ellis et collaborateurs en 1989 pour désigner les fonctions de certaines Hsp (Hsp60) qui accomplissent au niveau biochimique le même rôle que les chaperons utilisés dans les entreprises humaines : elles « préviennent les interactions inappropriées entre des surfaces potentiellement complémen-

taires et défont les liaisons impropres qui pourraient se produire» (Ellis *et al.*, 1989). En effet les protéines de choc thermique interagissent avec les protéines immatures ou anormales, inhibant ainsi leur agrégation et augmentant l'efficacité de leur (re)-mise en conformation tridimensionnelle adéquate (Burel *et al.*, 1992). Un type d'expérience a permis de démontrer cette fonction des Hsp : des enzymes dont l'activité peut être aisément mesurée comme la luciférase ou la β -galactosidase ont été expérimentalement exprimées dans des cellules qui ont ensuite été soumises à un choc thermique. Le choc thermique provoque la dénaturation de protéines et la perte momentanée d'activité enzymatique tandis qu'il induit l'augmentation de l'expression des Hsp. Les Hsp ainsi synthétisées permettent la «renaturation» des protéines et la récupération de l'activité enzymatique (Nguyen *et al.*, 1989; Lee *et al.*, 1997; Oh *et al.*, 1997; Souren *et al.*, 1999). De plus, quand des cellules sont soumises à un choc thermique, subléthal mais suffisant pour induire une augmentation de la synthèse des Hsp et leur accumulation, elles sont alors capables de résister à un deuxième choc thermique de plus grande intensité qui, lui, aurait dû être léthal. Ce phénomène est dénommé «thermotolérance». Ces observations suggèrent une action protectrice des Hsp envers un stress ultérieur, la participation de ces protéines dans la protection étant appuyée par la corrélation entre la cinétique de leur induction et celle de la thermotolérance (Weber, 1992). L'induction des Hsp par une courte exposition à des températures élevées confère également un effet de protection croisée vis-à-vis d'autres formes de stress (ischémie/reperfusion, endotoxines, toxiques,...) (Parsell et Lindquist, 1994). Ainsi, alors qu'une exposition prolongée à des conditions extrêmes peut mener à la mort cellulaire et tissulaire, l'induction des Hsp par divers inducteurs peut résulter dans une tolérance à différents stress intenses et une cytoprotection vis-à-vis des dommages protéiques induits par ces stress. Ceci désigne la réponse au choc thermique comme une stratégie précieuse pour la survie suggérant un adage disant que «un léger stress est bon».

La présence de protéines endommagées semble être par elle-même un

signal important pour l'induction de l'expression des Hsp. La synthèse des Hsp est induite non seulement par l'hyperthermie mais aussi par une large variété de conditions toxiques qui vont de l'exposition aux métaux lourds à l'infection virale, leur point commun étant de mener à l'accumulation de protéines anormales (Santoro, 2000). L'induction des gènes *hsp*s requiert l'activation et la translocation dans le noyau d'un facteur de transcription, HSF pour «*Heat shock factor*»; celui-ci reconnaît alors des séquences spécifiques présentes en copies multiples dans les promoteurs des gènes *hsp*s, les HSEs pour «*Heat shock element*», et déclenche la transcription de ces gènes (Santoro, 2000). Enfin, même en l'absence de stress supra-physiologique, l'expression des Hsp varie au cours du développement embryonnaire, du processus de différenciation cellulaire et plus généralement au cours du cycle cellulaire (Feige *et al.*, 1996).

Les Hsp ont été regroupées en six familles principales en fonction de leur masse moléculaire chez les mammifères et en particulier chez la souris : HSP110, 90, 70, 60, 47, 25-30 kDa (Burel *et al.*, 1992). Notons qu'une même protéine peut parfois être désignée de plusieurs façons différentes en fonction des espèces (Hsp25 chez la souris, Hsp27 chez l'homme) ou selon les auteurs en fonction de variation dans la détermination des masses moléculaires réalisée sur gel d'électrophorèse (les dénominations Hsp 68, 70 et 72 se rapportent par exemple à la même protéine de choc thermique inductible de la famille Hsp70). De plus, pour les Hsp de 70 kDa, une distinction a été opérée entre les protéines inductibles qui répondent au choc thermique (Hsp70) et les protéines qui ont une expression constitutive peu affectée par le stress thermique (Hsc70).

Bien que les protéines de choc thermique partagent des propriétés communes, chaque famille présente des particularités concernant leur mécanisme d'action, spécificité du substrat, dépendance ou non vis-à-vis de l'ATP, localisation intracellulaire et type de pathologies dans lesquelles elles peuvent être impliquées.

CLASSIFICATION : LES DIFFERENTES FAMILLES DE HSP ET LEURS FONCTIONS

La famille HSP110

Alors que les Hsp de 110 kDa (Hsp110 ou Hsp105) ont été répertoriées comme étant une famille majeure il y a de nombreuses années (Levinson *et al.*, 1980), les études relatives à leur structure et fonctions n'en sont encore actuellement qu'à leur début. Le clonage du gène *hsp110*, contrairement aux autres familles de Hsp qui ont été étudiées en profondeur depuis bien plus longtemps, n'a été réalisé chez les mammifères qu'à partir de 1995 (Lee-Yoon *et al.*, 1995). Constitutivement exprimées, surtout dans le cerveau, avec une localisation préférentielle dans le cytosol et le noyau, les Hsp110 sont hautement inductibles lors d'un choc thermique et se concentrent alors dans la partie fibrillaire du nucléole (Subjeck *et al.*, 1983). Leur association avec le site de chromatine nucléolaire (rDNA) suggère que cette famille protège la production des ribosomes, étape dont la sensibilité au choc thermique est bien connue (Shyy *et al.*, 1986). Leur rôle dans la cellule non-stressée n'est pas encore bien déterminé : chez des levures ayant subi une délétion dans le gène codant pour la protéine homologue à l'Hsp110 des mammifères, la croissance cellulaire est peu affectée (Sanchez et Lindquist, 1990). Sous conditions de stress thermique par contre, les Hsp110 sont impliquées dans le phénomène de thermotolérance : elles contribueraient à la resubtilisation des protéines inactivées par la chaleur et présentes sous forme d'agrégats insolubles (Parsell et Lindquist, 1994). En effet, chez ces levures déficientes en Hsp110, la capacité à acquérir une thermotolérance après une pré-exposition à la chaleur apparaît compromise (Sanchez et Lindquist, 1990). De plus, une surexpression artificielle d'Hsp110 dans des cellules en culture augmente leur tolérance à la chaleur (Oh *et al.*, 1997). D'autres travaux seraient requis afin de définir la fonction biochimique exacte de Hsp110 et son rôle précis dans le développement de la thermotolérance. Il semble cependant déjà admis que les Hsp110 soient suffisamment proches des Hsp70 pour en constituer un sous-groupe ; hormis leur plus grande

taille, leur structure contient comme les Hsp70 deux domaines de liaison, un pour les peptides et un pour l'ATP, ce dernier n'étant cependant pas indispensable à sa fonction de chaperon moléculaire (Oh *et al.*, 1999)

La famille HSP90

Les protéines de choc thermique de 90 kDa font partie des Hsp les plus abondamment exprimées constitutivement, leur expression augmentant encore lors de stress. Cette famille est issue de deux gènes dont les produits sont dénommés Hsp90 α et Hsp90 β ou encore parfois Hsp86 et Hsp84 respectivement, et qui présentent 86% d'homologie (Hickey *et al.*, 1989). Les Hsp90 (ou encore Hsp89) se localisent dans le cytosol et seulement une petite partie d'entre elles migrent dans le noyau de la cellule, sous la forme d'homo-dimères (Pearl et Prodromou, 2000).

Leur caractéristique principale, en conditions physiologiques, repose sur leur capacité à former des complexes stables avec des protéines intervenant dans la transduction de signaux cellulaires ou dans la régulation du cycle cellulaire (récepteurs des hormones stéroïdes, protéines kinases cellulaires et virales, oncogènes, facteurs de transcription) (Richter et Buchner, 2001). Elles participent aussi au transport de protéines à l'intérieur de la cellule et à l'organisation du cytoplasme (l'actine et la tubuline) (Czar *et al.*, 1996). Le rôle supposé des Hsp90 dans leurs interactions avec les récepteurs nucléaires des stéroïdes est de stabiliser ces protéines sous une forme inactive afin d'éviter leur activation non appropriée en l'absence de stimulus spécifique: elles interviennent dans la maturation, le transport intracellulaire et la régulation de l'activité de ces récepteurs (Pratt, 1992). En effet, en l'absence d'hormone, le récepteur est lié à un complexe multiprotéique contenant Hsp90, en association avec Hsp60 et 70, qui empêche toute interaction inopportune entre le récepteur et les gènes cibles. La liaison de l'hormone avec son récepteur provoque la libération de Hsp90, avec un changement conformationnel ATP-dépendant, et la translocation intranucléaire du récepteur qui va activer la transcription de ces gènes cibles (Smith et Toft, 1993). La large utilisation des stéroïdes dans le traitement des réac-

tions inflammatoires, notamment, souligne l'importance de ces constatations. De plus, en interagissant avec les protéines cellulaires mentionnées ci-dessus, les Hsp90 contrôlent les voies de régulation et de signalisation du cycle cellulaire. Ces découvertes ont ainsi fait des Hsp90 une nouvelle cible pour le développement de traitements anticancéreux (Scheibel et Buchner, 1998). De plus, considérant le niveau élevé d'expression de Hsp90 dans la cellule non-stressée, l'existence d'autres protéines cibles, encore à découvrir, est suspectée.

La famille HSP70

Les protéines de choc thermique de 70 kDa représentent certainement les Hsp les plus étudiées, les plus abondantes et les plus conservées. La famille HSP70 comprend différents membres présentant un haut degré d'homologie entre eux et d'un organisme à l'autre (50% d'homologie entre le gène *hsp70* humain et le gène correspondant d'*E.Coli*, aussi appelé *dnaK*, et plus de 70% avec celui de la drosophile) (Hunt et Morimoto, 1985). Il existe au minimum cinq protéines Hsp70 chez les mammifères, certaines étant exprimées de manière constitutive alors que d'autres apparaissent strictement inducibles lors de stress. Dans cette large famille, chaque membre a évolué pour remplir des rôles spécifiques dans différents compartiments cellulaires. Tous possèdent une structure commune qui contient deux domaines: une extrémité amino-terminale hautement conservée à activité ATPase et une extrémité carboxy-terminale moins conservée liant des peptides. Elles partagent également la fonction de chaperon moléculaire, liant transitoirement des protéines immatures ou dénaturées afin d'éviter que ces dernières n'interagissent de manière inappropriée et évitant alors une mauvaise conformation, une agrégation ou une perte de fonction. Elles peuvent lier, par leur extrémité carboxy-terminale, des segments courts et linéaires de peptides ou de protéines non-repliées (Feige et Polla, 1994). Cette fonction s'opère dans un cycle utilisant de l'ATP: Les polypeptides interagissent transitoirement avec le domaine de liaison aux peptides de Hsp70, ce qui stimule l'hydrolyse de l'ATP et mène à un changement conformationnel de Hsp70, augmen-

tant son affinité pour le peptide. Ensuite, le peptide lié est relâché lors de l'échange de l'ADP avec un nouvel ATP (McCarty *et al.*, 1995). Ces interactions sont observées transitoirement de 15 à 30 minutes après la synthèse d'une nouvelle protéine.

Les Hsp70 sont représentées par cinq protéines constitutives chez la souris (Hsp70.2, Hsc70 et Hsc70t, Grp78, Grp75) et deux Hsp70 inducibles identiques, Hsp70.1 et Hsp70.2.

Hsp70 (Hsp70.1 et Hsp70.3)

Hsp70 (ou Hsp72, Hsp68) est la protéine de choc thermique inducible par excellence. Son expression est pratiquement limitée aux cellules qui sont confrontées à des conditions de stress. Sous des conditions normales, elle est présente en faible quantité et localisée principalement dans le cytosol. Son rôle est alors semblable à celui des autres Hsp70: elle chaperonne les protéines en cours de maturation pour la prévention de leur repliement (*folding*) prématuré dans le cytoplasme (Feige et Polla, 1994). Il est à noter que le niveau d'expression basal de Hsp70 *in vivo* est hautement dépendant du tissu et de l'âge: la peau, le tube digestif, les poumons, et les reins expriment un niveau de base relativement plus élevé que le cœur, les muscles et le foie (Blake *et al.*, 1990 Tanguay *et al.*, 1993). Puisque ces premiers tissus sont en contact permanent avec l'environnement extérieur, l'expression de base plus élevée de Hsp70 dans ces organes laisse suspecter qu'ils sont en état constant de «stress».

Cette sous-famille de Hsp70 est codée par deux gènes: *hsp70.1* et *hsp70.3*. L'expression de Hsp70.1 et Hsp70.3 est inducible dans toutes les cellules de tous les mammifères et constitue une réponse cellulaire aux dommages moléculaires induits par un stress inducteur. Sur le génome, leurs gènes sont (avec *hsp70t*) localisés dans le complexe majeur d'histocompatibilité et leur homologie est telle (98% entre les deux gènes chez la souris) que leurs produits ne sont pas distinguables (Gunther et Walter, 1994).

Lors d'une activation de la réponse *heat shock*, les Hsp70 présentes sont relocalisées dans le noyau où elles participent notamment à la maintenance de l'assemblage et de la translocation des ribosomes, et sont

ensuite surexprimées dans le cytoplasme (Velazquez et Lindquist, 1984; Welch et Suhan, 1986). Les inducteurs chimiques, physiques ou biologiques de l'expression de Hsp70 sont nombreux et incluent le choc thermique mais aussi l'ischémie-reperfusion, l'hypoxie, l'hydrogène peroxyde, les radicaux libres, la déplétion d'ATP, les métaux lourds, l'arsénite, les infections virales, les acides aminés analogues, les agents qui modifient les groupements sulfhydriques des protéines, les ionophores, les radiations, les toxines, les poisons métaboliques, l'éthanol, les antibiotiques, les phénomènes inflammatoires, l'exercice et le cancer (Feige *et al.*, 1996). Ainsi Hsp70 est considéré comme un marqueur potentiel de stress et de toxicité dans des organes ou des organismes très variés (Ryan et Hightower, 1996; Rajdev et Sharp, 2000).

Hsp70 est la protéine la plus étudiée dans le phénomène de thermotolérance. Elle est nécessaire à la survie et au maintien des fonctions cellulaires lors de défis environnementaux ou développementaux. Si les Hsp constitutives remplissent des fonctions essentielles dans la cellule normale, ces mêmes fonctions sont requises dans la cellule, pendant et après une exposition au stress. La fonction de chaperon prend ici tout son sens puisque les protéines cibles seront les protéines altérées par les conditions de stress (Nguyen *et al.*, 1989). Hsp70 reconnaît et se lie à certains résidus hydrophobes exposés dans les protéines endommagées et, ce faisant, prévient l'agrégation de ces protéines de même qu'elle contribue à leur repliement adéquat dans un cycle ATP-dépendant (Bukau et Horwich, 1998). Ainsi, elle protège les cellules et les aide à récupérer des lésions induites par un stress.

La capacité d'association avec d'autres polypeptides de Hsp70 pourrait dépasser le rôle de chaperon moléculaire pour jouer un rôle de régulation. Par exemple, les Hsp70 pourraient intervenir dans le contrôle de la prolifération cellulaire si l'on considère leur interaction avec de nombreux oncogènes et anti-oncogènes viraux et cellulaires (Jolly et Morimoto, 2000). Il faut ajouter ici que cette fonction est impliquée dans la régulation de l'expression des Hsp elles-mêmes puisque Hsp70 se lie à Hsf et le stabilise dans une forme

inactive (Craig et Gross, 1991). D'autres rôles encore seront décrits en détail dans la section suivante, tels leur implication dans la stimulation du système immunitaire ainsi que dans la transformation tumorale.

La multiplicité de ces fonctions montre combien cette famille de gènes est importante pour la survie de la cellule en condition normale et, plus encore, lors d'un stress protéotoxique. Hsp70 représente le membre le plus hautement inductible des protéines de choc thermique et a, de ce fait, attiré une attention considérable dans deux champs de recherches notamment :

- (1) son utilisation comme biomarqueur d'effets suite à l'exposition à un toxique ou comme marqueur dans certaines maladies;
- (2) son utilisation dans le développement d'une protection qui pourrait fournir de nouvelles voies thérapeutiques.

Hsp70.2

Une troisième protéine est appelée Hsp70 mais n'est pas inductible, elle est codée par le gène *hsp70.2*. Le gène *hsp70.2* est un gène particulier puisqu'il s'exprime uniquement dans les spermatozoïdes. Sa régulation positive durant la phase méiotique de la spermatogenèse est nécessaire pour la progression de la méiose des cellules germinales des souris mâles puisque des souris *Knock out* pour ce gène ne produisent pas de spermatozoïdes et sont donc stériles (Eddy, 1998).

Hsc70

Hsc70, pour *cognate Hsp70*, (ou Hsp73) est l'homologue constitutive de Hsp70. Exprimée principalement sous des conditions normales, elle est faiblement induite par le choc thermique (l'augmentation de sa synthèse résulte principalement de la stabilisation de son mRNA et peu de l'induction du gène). Elle se localise dans le cytosol et le noyau (Feige et Polla, 1994). Le chaperon moléculaire Hsc70 lie les polypeptides nouvellement synthétisés du cytoplasme par un cycle ATP-dépendant et facilite leur repliement, exportation et transfert vers d'autres organelles, réticulum endoplasmique ou mitochondrie. Par exemple, elle maintient les polypeptides devant être transportés dans une organelle dans un état de compétence pour leur translocation, c'est-à-

dire sous une forme linéaire de telle sorte qu'ils puissent passer à travers un pore de la membrane de l'organelle cible, évitant aussi les interactions aberrantes (Wickner *et al.*, 1999). Hsc70 est capable de fixer la calmoduline (Stevenson et Calderwood, 1990), de s'associer aux tubulines ainsi qu'au facteur d'élongation dans des complexes multiprotéiques qui constitueraient les précurseurs de la formation des nouveaux centrioles (Marchesi et Ngo, 1993). Elle serait également impliquée dans la dissociation des cages de clathrine entourant les vésicules d'endo- et exocytose (Ungewickell, 1985). Elle participe enfin au système de contrôle de qualité qui identifie les protéines mal repliées ou dégrénerées et les redirige vers les lysosomes qui les dégradent (Wickner *et al.*, 1999) en protégeant ainsi la cellule contre leur accumulation. Puisque plusieurs maladies résultent de déféctuosité dans le repliement des protéines, les recherches sur la modulation de l'activité chaperon de Hsc70 pourraient servir un jour pour combattre ces désordres (Thomas *et al.*, 1995).

Hsc70t

Hsc70t (Hsp70-hom chez l'homme) est exprimée uniquement dans les cellules germinales, durant la phase post-méiotique de la spermatogenèse (Matsumoto et Fujimoto, 1990). Son rôle n'est actuellement pas identifié mais le fait que le testicule soit maintenu à température plus basse que le reste de l'organisme pourrait indiquer que les cellules testiculaires ont une physiologie particulière et que les protéines présentes dans cet organe sont peut-être plus sensibles à la dénaturation par la température. La spermatogenèse est un processus dynamique et complexe nécessitant la translocation, l'assemblage et la réorganisation de nombreux éléments cellulaires. Ceci pourrait expliquer la nécessité de molécules chaperons spécifiquement exprimées dans le testicule qui participent à ce remodelage des protéines (Tsunekawa *et al.*, 1999).

La famille HSP60

Les protéines de choc thermique de 60 kDa ont d'abord été identifiées chez la bactérie, sous le nom de GroEL (*Growth E Coli large protein*), comme étant des protéines néces-

saires à la croissance et à la morphogénèse de la bactérie elle-même et à celles des bactériophages lambda et T4 (Georgopoulos et Hohn, 1978). Chez les plantes, une protéine homologue a ensuite été identifiée dans le chloroplaste. Cette dernière est requise pour l'assemblage correct des sous-unités de l'enzyme Rubisco (ribulose biphosphate carboxylase monooxygénase) (Hemmingsen *et al.*, 1988). Une protéine homologue a également été identifiée chez les mammifères (Jindal *et al.*, 1989).

Les Hsp60 sont exprimées de manière constitutive dans le cytosol puis subissent une translocation vers la mitochondrie. Ce sont les « chaperons » moléculaires majeurs de la mitochondrie. Leur structure consiste en un complexe de deux bagues heptamériques, formant un cylindre à activité ATPase, dont la fonction est de faciliter le repliement de protéines monomériques et de catalyser l'assemblage de complexes oligomériques (Sigler *et al.*, 1998). Elles travaillent en association avec une autre protéine de 10 kDa (Hsp10 ou GroES) et probablement avec l'isoforme mitochondriale de Hsp70. Durant le cycle physiologique cellulaire, elles fonctionnent comme des « échafaudages » dans lesquels des protéines mitochondriales, nouvellement synthétisées et importées du cytosol, sont encapsulées pour être correctement pliées et/ou assemblées dans leur structure finale et mature (Sigler *et al.*, 1998). Ces Hsp sont aussi inductibles. De par leur rôle dans le repliement et l'assemblage de protéines complexes, les membres de la famille Hsp60 ont été les premiers associés au terme de « chaperons moléculaires », et ont même été nommés les « chaperonines » par Ellis et collaborateurs (1989).

Une des Hsp majeures chez la bactérie a été identifiée comme appartenant à la famille des Hsp60, représentant un antigène et une cible prédominante pour la réponse immune des mammifères. Elle est aussi impliquée, de par cette caractéristique antigénique, comme agent causal dans les maladies auto-immunes (Young, 1990). Ces points seront développés plus en détails dans la dernière section.

La famille HSP47

La protéine de choc thermique de 47 kDa est une Hsp récemment identifiée et localisée dans le réticulum endoplasmique. Exprimée de manière constitutive, elle est spécifiquement et transitoirement liée à divers types de collagène et procollagène et semble impliquée dans la maturation et/ou la sécrétion de procollagène de bonne conformation, en conditions physiologiques ou de stress (Nagata, 1998). La synthèse de Hsp47 est toujours associée à celle du collagène, que ce soit dans les tissus en développement ou lors de conditions pathologiques liées au collagène, telle que la fibrose tissulaire (Nagata, 1998 ; Razzaque et Taguchi, 1999). En 2000, le laboratoire de Nagata et collaborateurs a confirmé le rôle essentiel de Hsp47 en produisant des souris déficientes pour le gène *hsp47*. Chez ces souris, le collagène de type I est incapable de former une structure en triple hélice rigide, et le collagène de type IV est également affecté. Les embryons homozygotes *hsp47^{-/-}* ne survivent pas au-delà du 11e jour de gestation et présentent des anomalies dans les tissus mésenchymateux, dans les tissus épithéliaux et des ruptures de vaisseaux sanguins.

La famille des Hsp de faible masse moléculaire (Hsp25)






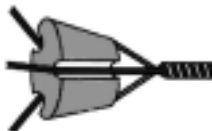

Les protéines de choc thermique de faible masse moléculaire ou sHsp pour *small heat shock proteins* forment une famille ubiquitaire et abondante dont le nombre de représentants varie fortement d'un organisme à l'autre et dont l'homologie de séquence est plus faible que dans les autres familles (Ehrnsperger *et al.*, 1997a).

Chez la drosophile et les plantes, de multiples sHsp ont été décrites. Chez la plupart des mammifères ou des oiseaux par contre, une seule sHsp de 25-30 kDa a été observée : la Hsp25 (ou Hsp27 chez l'homme). Un domaine de leur séquence reste cependant hautement conservé pour toutes les sHsp, le *a-crystallin domain* qui montre une homologie avec les protéines α -crystallines, composantes abondantes du cristallin ; la protéine α B-crystalline est elle-même une Hsp (de Jong *et al.*, 1993). Hsp25 est exprimée relativement faiblement dans la cellule nor-

male mais montre une forte induction de synthèse ainsi qu'une activation par phosphorylation lors de stimuli comme le choc thermique, le stress oxydatif, les cytokines et les facteurs de croissance (Ehrnsperger *et al.*, 1997a). Son expression de base est plus élevée dans certains types de cellules telles les cellules mammaires, utérines, cervicales, placentaires, cutanées et les plaquettes sanguines. Certaines études suggèrent également que son expression soit hormono-dépendante : aux œstrogènes au niveau de la glande mammaire et aux œstrogènes et à la progestérone, au niveau de l'endomètre (Ciocca *et al.*, 1993b ; Devaja *et al.*, 1997). Les Hsp25 sont constitutivement localisées dans le cytosol, à proximité de l'appareil de Golgi, sous forme de grandes structures glomérulaires de 400 kDa. Après un choc thermique, elles forment des complexes oligomériques encore plus volumineux d'une taille de 2000 kDa et sont relocalisées dans le noyau (Ehrnsperger *et al.*, 1997a). Pour jouer leur rôle de chaperon, ces structures glomérulaires se lient aux protéines qui ont une forme non-naturelle avec une efficacité extraordinaire puisque chaque sous-unité peut lier un peptide, (Ehrnsperger *et al.*, 1997b ; Lee *et al.*, 1997). Des souris *Knock out* pour le gène de l' α -crystalline développent une cataracte dès le plus jeune âge suggérant que cette protéine inhibe également l'agrégation protéique dans le cristallin (Brady *et al.*, 1997). De même, une expression anormale des sHsp associée à des agrégats protéiques a été observée dans certaines maladies neurodégénératives liées à une conformation protéique anormale (Kato *et al.*, 1992 ; Shinohara *et al.*, 1993). Cette fonction de liaison et de maintien d'autres protéines s'opère sans recours à l'ATP mais la phosphorylation de sHsp dans ce cas augmente leur affinité pour les protéines anormales. Une fois les conditions physiologiques restaurées, la libération et le repliement des protéines peuvent être achevés en présence de Hsp70 et d'ATP (Ehrnsperger *et al.*, 1997b).

L'expression et surtout la phosphorylation de Hsp25 semble intervenir dans la thermotolérance et dans la résistance à certaines substances anticancéreuses (Ciocca *et al.*, 1993b ; Ehrnsperger *et al.*, 1997a). Leur expression constitutive ainsi que leur

Tableau I : Principales caractéristiques des différentes familles de protéines de choc thermique.

Protéine	Représentation schématique (Hsp+polypeptides)	Localisation cellulaire	Particularités-Fonctions
Hsp110		noyau (partie fibrillaire du nucléole) cytoplasme	<ul style="list-style-type: none"> constitutive et <u>inductible</u> associée à l'ARN → rôle dans la production de ribosomes et dans la thermotolérance
Hsp90		cytoplasme (noyau)	<ul style="list-style-type: none"> <u>constitutive</u> et inductible associée à de nombreuses protéines: récepteurs stéroïdes, kinases, actine-tubuline, facteurs de transcription. → rôle dans la transduction de signaux du cycle cellulaire, chaperon moléculaire
Hsp70		cytoplasme noyau (lors de stress)	<ul style="list-style-type: none"> constitutive et <u>inductible</u> associée aux protéines durant leur formation et leur translocation intracellulaire associée aux protéines dénaturées lors de stress → rôle de chaperon moléculaire et dans la thermotolérance
Hsp60	  profil haut	mitochondrie	<ul style="list-style-type: none"> <u>constitutive</u> et inductible associée à l'Hsp10 facilite le repliement et l'assemblage des protéines enzymatiques mitochondriales antigènes important des bactéries → rôle de chaperon moléculaire
Hsp47		réticulum endoplasmique	<ul style="list-style-type: none"> <u>constitutive</u> associée au procollagène et collagène → rôle de chaperon spécialisé pour le collagène
Hsp27		cytoplasme noyau (lors de stress)	<ul style="list-style-type: none"> constitutive et inductible niveau de phosphorylation variable homologie avec l'α-crystalline association à l'actine expression liée au statut hormonal d'un tissu → rôle dans la thermotolérance, dans le développement, chaperon moléculaire

état de phosphorylation sont également corrélés avec le statut de croissance cellulaire des organismes, des cellules en développement ou des cellules tumorales (Ciocca *et al.*, 1993b) : il semble que la surexpression de Hsp25 soit corrélée, tant au degré de différenciation de certaines tumeurs, qu'à la présence de récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone sur celles-ci. Enfin, Hsp25 apparaît également impliquée dans la régulation de la dynamique des microfilaments d'actine, et par cette fonction apparaît conserver la stabilité mécanique du cytosquelette lors de stress (Gray *et al.*, 1999).

Malgré tous ces éléments, les fonctions biochimiques exactes des Hsp25 ne sont pas encore parfaitement identifiées, de même que l'importance de leur phosphorylation dans leur régulation et leur fonction.

Les autres protéines de stress

Certains auteurs classent parmi les «protéines de stress», outre les Hsp, des polypeptides tels que les GRPs (*glucose-regulated proteins*, initialement identifiées comme protéines dont la synthèse augmentait lors d'un manque de glucose pour la cellule), l'ubiquitine ainsi que certains enzymes spécifiques du stress oxydatif tels que l'hème oxygénase. Ici, une brève description sera limitée aux protéines partageant une fonction de chaperon moléculaire et appartenant aux familles de Hsp décrites plus haut : Grp78 et 75 qui sont reliées à la famille des Hsp70, Grp94 qui est rattachée à la famille des Hsp90.

Grp78

Grp78 (78 kDa *glucose-regulated protein*) est en fait identique à la protéine BiP (pour *Binding Protein*) décrite initialement pour son interaction transitoire avec les chaînes H et L nouvellement synthétisées des immunoglobulines avant leur assemblage en structure finale H2L2 (Munro et Pelham, 1986). Grp78 est localisée dans la lumière du réticulum endoplasmique et chaperonne la maturation des polypeptides et leur translocation efficiente à travers ce compartiment cellulaire. Une interaction transitoire avec Grp78 a été décrite pour beaucoup de protéines sécrétaires et transmembranaires avant leur assemblage en une struc-

ture supérieure. Une interaction permanente est également observée avec des protéines mal conformées destinées à la dégradation, Grp78 agissant comme un contrôle de qualité dans le réticulum endoplasmique (Haas, 1994; Gething, 1999). Grp78 n'est pas induite par le choc thermique mais par une série d'autres conditions telles que celles menant à l'accumulation de protéines mal conformées dans le RE (Gething, 1999).

Grp75

Grp75 (75 kDa *glucose-regulated protein*) est localisée dans la matrice mitochondriale chez les animaux, et dans le chloroplaste chez les plantes. Elle chaperonne l'importation et le repliement des protéines dans cette organelle (Ostermann *et al.*, 1990). Elle a été décrite sous d'autres vocables : PBP74 (*peptide-binding protein*), CSA (*C3H strain-specific antigen*), mtHsp70 (*mitochondrial Hsp70*) et mortaline. Elle participe notamment au processus de présentation d'antigènes intervenant dans la reconnaissance par les lymphocytes T des cellules tumorales (Kim *et al.*, 1995) ou de greffes (Qian *et al.*, 1995). La mortaline possède une activité anti-proliférative dans la cellule normale, sa dérégulation d'expression couplée à une modification de deux acides aminés est impliquée dans la transformation de cellules normales en cellules tumorales par une liaison inactivant p53 (Wadhwa *et al.*, 1998).

Grp94

Grp94 (94kDa *glucose-related protein*) est localisée dans le réticulum endoplasmique et se lie à différentes protéines (kinases, actine, calmoduline). Elle intervient également dans le système de contrôle de qualité du réticulum endoplasmique apparemment par une reconnaissance précise des protéines incomplètement assemblées ou repliées. Elle est structurellement et fonctionnellement proche de Hsp90. Ses fonctions exactes ne sont pas encore complètement élucidées mais son grand intérêt vient de son implication dans l'étiologie de maladies autoimmunes, dans le rejet de greffes, dans la reconnaissance de cellules malignes et dans la présentation d'antigènes ainsi que dans la résistance à certains anti-cancéreux (pour une revue, voir Csermely *et al.*, 1998).

IMPLICATION DES HSP DANS CERTAINS PHENOMENES PATHOLOGIQUES

Le rôle des différentes familles d'Hsp dans l'organisme normal et parfois leur implication possible dans certains mécanismes physiopathologiques ont été définis dans la première partie de cette synthèse. Leur fonction de chaperon dans l'assemblage, le repliement, la translocation et parfois la stabilisation ainsi que la régulation d'activité de protéines importantes suggèrent fortement un rôle vital des Hsp dans les cellules sous conditions physiologiques. De plus, elles semblent avoir un rôle protecteur vis-à-vis de certains stress et occuper une place centrale lors de lésions cellulaires ou tissulaires causées par des stress locaux ou systémiques via un dommage protéique. Choc, infarctus du myocarde, syndromes inflammatoires, maladies infectieuses et parasitaires, désordres auto-immuns, cancers et pathologies liés à une mauvaise conformation protéique sont autant d'exemples de conditions dans lesquelles les Hsp sont examinées minutieusement. Le rôle de ces chaperons moléculaires dans la récupération cellulaire de lésions induites par une variété de nuisances d'ordre clinique ou chirurgical soulève également un grand intérêt. Le but de ce chapitre est de donner un aperçu aux lecteurs du nombre important de phénomènes pathologiques auxquels la médecine est fréquemment confrontée et dans lesquels l'induction de Hsp est rencontrée et semble jouer un rôle. Quelques études commençant à élucider la signification de cette induction seront citées ici afin de présenter les utilisations potentielles de celle-ci comme marqueur diagnostique et/ou indicateur pronostique. Enfin, le potentiel de ces protéines et de leurs gènes correspondants comme outils thérapeutiques sera introduit.

Induction des Hsp en réponse à un phénomène pathologique, notamment l'ischémie/reperfusion

De nombreuses études ont mis en évidence une modification de l'expression des Hsp au cours de stress pathologiques aigus ou chroniques affectant différents organes comme le cerveau, le poumon, le rein ou le coeur (Feige *et al.*, 1996). Une question sous-

Tableau II : Hsps dont l'expression est modifiée lors de pathologies.

Pathologies	familles d'Hsp impliquées	valeur potentielle
Ischémie-reperfusion	<ul style="list-style-type: none"> • Hsp90 • Hsp70 • Hsp27 	<p>diagnostique</p> <p>diagnostique et thérapeutique (cytoprotection)</p> <p>thérapeutique (cytoprotection du cytosquelette)</p>
Infections	<ul style="list-style-type: none"> • Hsp90 du pathogène de l'hôte • Hsp70 du pathogène de l'hôte • Hsp60 du pathogène de l'hôte • Hsp27 de l'hôte 	<p>thérapeutique (vaccin ou Ac pour immunothérapie)</p> <p>thérapeutique (vaccin)</p> <p>thérapeutique (adjuvant de vaccin et cytoprotection)</p> <p>thérapeutique (vaccin ou Ac pour immunothérapie)</p> <p>thérapeutique (adjuvant de vaccin et cytoprotection)</p>
maladies autoimmunes	<ul style="list-style-type: none"> • Hsp90 • Hsp70 • Hsp60 	<p>diagnostique (Ac)</p> <p>diagnostique (Ac), pronostique (réponse à une corticothérapie) et thérapeutique (désensibilisation)</p> <p>diagnostique (Ac) et thérapeutique (désensibilisation)</p>
Cancer	<ul style="list-style-type: none"> • Hsp90 • Hsp70 • Grp75 • Hsp27 	<p>diagnostique, pronostique négative</p> <p>diagnostique, pronostique négative, thérapeutique (adjuvant de vaccin)</p> <p>diagnostique</p> <p>diagnostique, pronostique négative</p>
anomalies protéiques	<ul style="list-style-type: none"> • Hsp70 • Hsp25 • Grp78 	<p>diagnostique et thérapeutique</p> <p>diagnostique</p> <p>diagnostique</p>

jacente a surgi dans le cadre de ces pathologies : l'expression des Hsp reflète-t-elle un environnement cellulaire suboptimal associé à un état de lésion cellulaire ou représente-t-elle une adaptation pour la survie dans un état pathologique spécifique ? Ainsi, alors que l'induction des Hsp était d'abord interprétée comme un signal pour la détection d'un stress, il semble maintenant établi que les Hsp sont également utilisées par les cellules dans un processus de récupération.

Un point commun aux différentes pathologies citées ci-dessus est une perturbation de l'équilibre oxydation-réduction de la cellule (*Redox status*) causant, entre autre, des dommages protéiques. Il s'ensuit une réponse cellulaire complexe impliquant notamment la réponse *Heat shock* et les Hsp. Le mécanisme par lequel les Hsp, et en particulier Hsp70, protègent la cellule vis à vis d'un stress implique visiblement la désagrégation, la resolubilisation et l'aide au repliement des protéines qui ont été dénaturées et inactivées durant le stress (Parsell et Lindquist, 1994). De nombreuses études décrivent la protection conférée par la surexpression d'une ou plusieurs Hsp face aux traumatismes cellulaires d'origines diverses comme l'exposition à la chaleur, à des drogues cytotoxiques, aux toxines, au TNF- α , l'infection et l'ischémie-reperfusion (Parsell et Lindquist, 1994 ; Morimoto et Santoro, 1998 ; Gray *et al.*, 1999). Toutes ces découvertes ainsi que leur intérêt feront l'objet d'une synthèse ultérieure. Des lors, nous ne citerons brièvement ici qu'un type d'étude particulièrement représentatif : la protection par les Hsp vis-à-vis de l'ischémie/reperfusion, le plus grand nombre de ces études y étant consacré.

Lors d'infarctus du myocarde, par exemple, l'interruption du courant circulatoire (ischémie) n'est que temporaire et est suivie de la reperfusion du tissu, ce qui est à l'origine d'une augmentation des dommages cellulaires. Pour étudier le rôle bénéfique que pourrait jouer la réponse au *Heat shock* qui est activée par ce phénomène d'ischémie/reperfusion, les chercheurs ont imaginé des expériences menant à un gain ou à une perte de fonction. Plusieurs laboratoires ont choisi le gain de fonction et ont créé des souris transgéniques exprimant un haut niveau d'Hsp70 au

niveau du myocarde ce qui a semblé protéger significativement ces animaux contre les lésions dues à l'infarctus (Marber *et al.*, 1995 ; Plumier *et al.*, 1995 ; Gray *et al.*, 1999). Les lésions d'ischémie/reperfusion sont observées aussi au niveau du cerveau et c'est avec ce type de pathologie que d'autres chercheurs ont démontré que l'absence d'expression d'Hsp70 due à la délétion du gène s'accompagne effectivement de lésions plus étendues (Lee *et al.*, 2001).

Ces observations suggèrent de nouvelles stratégies thérapeutiques liées au développement de molécules qui activent sélectivement les gènes hsp (Morimoto et Santoro, 1998). La compréhension des mécanismes moléculaires qui régulent la réponse *heat shock* a identifié, par exemple, HSF1 comme une cible prometteuse pour de nouveaux médicaments cytoprotecteurs.

Hsp et infections (réponse immune)

La réponse au choc thermique est universelle et, lors d'une infection par un agent pathogène, l'expression induite des Hsp s'observe tant chez l'hôte que chez l'agent pathogène. Cette synthèse de Hsp peut jouer un rôle bénéfique pour l'un, en apportant une protection à celui qui synthétise, tout en représentant un obstacle pour l'autre. Néanmoins, chacune de ces synthèses représente une cible potentielle pour le développement de thérapies préventives ou curatives.

Les premiers mécanismes de défense mis en œuvre par l'organisme pour lutter contre un agent pathogène sont regroupés dans le processus de l'inflammation durant laquelle les phagocytes prennent une place essentielle. Une diminution du pH, la libération d'enzymes lytiques et de radicaux libres d'oxygène par les phagocytes provoquent un stress aigu pour l'agent pathogène mais aussi pour les cellules environnantes de l'hôte. Les microorganismes répondent à ce stress par la synthèse de Hsp70 et 60, les rendant plus résistants ; les cellules de l'hôte répondent également par l'induction de l'expression de Hsp70 pour leur propre protection (Garbe, 1992 ; Jacquier-Sarlin *et al.*, 1994). Dans le cas particulier des pathogènes intracellulaires tels que les virus, l'induction de Hsp cellulaires est totalement dirigée par le

programme génétique du virus. Les Hsp telles que Hsp60, Hsp90 et Hsp70 cellulaires semblent être utilisées par celui-ci pour chaperonner la maturation de nouveaux virions mais, inversement, un rôle possible des Hsp dans le contrôle de la réplication virale a également été suggéré (Santoro, 1996). Enfin, la fièvre qui fait aussi partie du processus inflammatoire provoque une induction des *hsp* et augmente la résistance des cellules en conférant une protection croisée contre différents types de stress.

Ainsi, cellules hôtes et agents pathogènes expriment des protéines de choc thermique en vue de se protéger vis-à-vis des différents stress auxquels ils sont confrontés lors de l'infection. Cependant, les protéines de choc thermique des pathogènes impliqués dans les infections bactériennes, virales et fongiques ont été identifiées comme cibles majeures pour la réponse immune, étape suivante dans la réaction de l'organisme à une invasion pathogène. Dès 1986, il a été démontré que Hsp60 constituait un antigène immunodominant lors d'infection (Emmrich *et al.*, 1986). Les Hsp sont reconnues par les lymphocytes T, éléments centraux du déclenchement de la réponse immune, et par-là stimulent les réponses humorale et cellulaire (Zugel et Kaufmann, 1999).

La grande homologie entre Hsp60 des mycobactéries et celle des mammifères entraîne un risque de réactivité croisée avec les propres Hsp de l'homme ou de l'animal et soulève la question de l'implication des Hsp dans certaines maladies auto-immunes. Des lymphocytes T spécifiques de Hsp60, une expression augmentée de Hsp60 ainsi que des anticorps contre Hsp70, 90 et 60 ont été détectés dans de nombreux désordres auto-immuns, comme par exemple certaines arthrites juvéniles ou le diabète insulino-dépendant, mais les conséquences de telles réactions croisées sont encore controversées (Jones *et al.*, 1993 ; Feige et van Eden, 1996).

Enfin, les Hsp endogènes de l'organisme hôte ont également un rôle dans la réponse immune contre l'infection ; la fonction chaperon de Hsp70 l'implique dans la procédure de préparation et de présentation de peptides immunogéniques (Nicchitta,

2000). Il est à remarquer que la structure du site de liaison aux peptides de Hsp70 est similaire à celui des protéines d'histocompatibilité MHC et que le gène hsp70 se localise dans le locus de MHC (Gunther et Walter, 1994; Nicchitta, 2000). Ce dernier processus de présentation d'antigène semble important dans la réponse immune contre le cancer (Multhoff *et al.*, 1998). Les Hsp interviennent apparemment également de manière encore différente dans le rejet de greffes où le stress augmente leur synthèse ce qui provoque une réaction immune spécifique contre elles (Duquesnoy *et al.*, 1999).

La participation des Hsp dans les infections et réactions immunes intervient à de nombreux niveaux. Il n'est donc pas étonnant d'observer un intérêt grandissant pour ces protéines dans la recherche de nouveaux vaccins. Par exemple, des souris vaccinées avec une lignée cellulaire qui exprime une Hsp60 mycobactérienne montrent une remarquable protection contre des doses létales de *Mycobacterium tuberculosis* (Silva et Lowrie, 1994). Enfin, Hsp70 et Hsp25 sont exprimées pendant le cycle du virus de l'immunodéficience acquise (HIV-1) et s'associent à certaines protéines virales. Elles servent alors de cible pour les cellules *Natural Killer* et la réponse cellulaire cytotoxique anticorps-dépendante; elles ont donc été proposées comme «véhicule» (ou vecteur ou excipient) pour l'antigène dans le développement de vaccins contre HIV-1 (Brenner et Wainberg, 1999). Dans le cas de maladies auto-immunes également, il a été observé que l'administration d'épitopes de Hsp60 et Hsp70 pouvait moduler la réaction auto-immune via une immunisation impliquant les lymphocytes T suppresseurs ou via une induction de l'anergie des clones de lymphocytes T auto-réactifs en cause, ceci pouvant être utilisé comme traitement préventif aussi bien que curatif (Wendling et Farine, 1998).

Hsp et cancérologie

Les molécules chaperons induites en réponse au stress apparaissent importantes dans la régulation de l'apoptose, la mort cellulaire auto programmée. Une caractéristique importante des cellules tumorales est de résister à la mort cellulaire; la capacité des Hsp

à protéger les cellules de l'apoptose a par conséquent suscité un nouvel intérêt de la part des chercheurs (Creagh *et al.*, 2000). De plus, les Hsp jouent également le rôle de molécules chaperons dans la régulation de récepteurs stéroïdes, de kinases, cap-sases et autres protéines impliquées dans la réplication chromosomique et les changements dans la structure cellulaire. Sur base de ces observations, il n'est pas surprenant que la réponse *heat shock* et les Hsp soient impliquées dans le contrôle de la croissance cellulaire et que leurs gènes Hsp soient aussi transcriptionnellement régulés par une variété de processus physiologiques incluant le cycle cellulaire, la prolifération cellulaire et la différenciation (Feige *et al.*, 1996). La compréhension des différents rôles des Hsp a rapidement suggéré qu'elles puissent aussi avoir une implication critique dans le développement de cancer (Jolly et Morimoto, 2000).

L'expression atypique d'une ou plusieurs Hsp a été décrite dans les cellules ou tissus d'une large variété de tumeurs (Fuller *et al.*, 1994). Ces observations ont ainsi suggéré que les Hsp puissent être utilisées comme biomarqueurs dans le domaine de la cancérologie. De plus, l'expression de Hsp25/27, ainsi que celle de Hsp70, est associée à un haut degré de malignité et de métastases, et une résistance à la chimiothérapie ou la radiothérapie, dans le cancer du sein et de l'estomac (Ciocca *et al.*, 1993a; Ciocca *et al.*, 1993b; Fuller *et al.*, 1994; Vargas-Roig *et al.*, 1998). La mesure de l'expression de Hsp25/27 a d'ailleurs été proposée comme indicateur de pronostic dans les tumeurs mammaires ou comme moyen de détection de tumeurs génitales hormono-dépendantes, eu égard à ses caractéristiques de marqueur biochimique de la réponse endométriale aux œstrogènes (Ciocca *et al.*, 1993b; Devaja *et al.*, 1997). D'autres familles d'Hsp, Hsp90 et Hsp60, sont aussi surexprimées dans le cancer du sein, du poumon, dans les leucémies et la maladie d'Hodgkin (Jameel *et al.*, 1992; Yufu *et al.*, 1992; Wong et Wispe, 1997; Hsu et Hsu, 1998). On peut se demander si cette expression anormale est la conséquence d'un environnement cellulaire suboptimal dans les tumeurs pauvrement vascularisées et donc hypoxiques. Cependant, l'expression aberrante

d'Hsp fournit à la cellule cancéreuse un moyen de moduler les propriétés de nombreuses protéines clés, tels les facteurs de transcription et les signaux cellulaires, pouvant mener à la perte du contrôle de la croissance normale de la cellule et l'inhibition de l'apoptose. Une preuve, attestant du rôle actif joué par les molécules chaperons dans le processus de transformation oncogénique, vient de l'observation qu'une surexpression forcée d'Hsp25/27 ou Hsp70 par transfection stable dans des cellules en culture ou dans des animaux transgéniques résulte en une transformation cellulaire, qui est réversible, et en la formation de tumeurs (Seo *et al.*, 1996; Garrido *et al.*, 1998; Volloch et Sherman, 1999). Le rôle joué par les Hsp dans le développement tumoral n'est pas complètement élucidé. Néanmoins il implique la fonction de liaison des Hsp à des protéines importantes du cycle cellulaire. Par exemple, la p53, essentielle pour la régulation négative du cycle cellulaire et la régulation de l'apoptose de par sa fonction de régulateur transcriptionnel, se lie préférentiellement à Hsp70 lorsqu'elle est mutante et oncogène. Hsp90 interagit avec la "tyrosine kinase oncogène pp60v-src", pouvant ainsi modifier son activité. Il est suggéré actuellement que le processus de transformation cellulaire utilise les Hsp pour faciliter la translocation dans le noyau et stabiliser la conformation altérée des protéines mutantes impliquées dans la transformation tumorale, modifiant également leur demi-vie et/ou leur activité (Jolly et Morimoto, 2000). Ainsi Hsp potentialise-t-elle l'activité transformante de l'oncogène p53 mutante et interfère-t-elle avec le mécanisme signalant l'anomalie, ce qui perturbe le mécanisme de défense cellulaire et évite alors l'apoptose.

L'expression des Hsp dans les cellules tumorales semble donc intervenir en leur faveur à deux niveaux: non seulement les Hsp jouent un rôle cytoprotecteur favorisant leur survie mais aussi elles participent activement à leur transformation tumorale. Cependant, en opposition à leur rôle favorisant le développement de cellules tumorales, les Hsp jouent également un rôle dans la défense de l'organisme contre le cancer et représentent actuellement une cible privilégiée pour le développement de thérapeutiques en cancérologie. En effet,

les recherches portant sur la compréhension de la réponse immune au cancer ont démontré l'intervention de certains membres de la famille des Hsp dans l'induction d'une protection spécifique contre le cancer. L'importance des chaperons moléculaires dans la reconnaissance par le système immunitaire de cellules tumorales et la régression subséquente de tumeurs a été démontrée sur des modèles animaux. Certaines Hsp (Hsp90 Grp94 et Hsp70) ont été détectées à la surface de cellules tumorales où elles pourraient activer la réponse immune (Multhoff et Hightower, 1996); ces observations ont d'abord mené à la conclusion qu'elles représentaient des antigènes reconnus par le système immunitaire. L'on a ainsi démontré que des lymphocytes T infiltrant le tissu tumoral étaient capables de reconnaître les cellules exprimant Hsp70, suggérant dès lors que ces lymphocytes T spécifiques pouvaient supporter la réponse cellulaire antitumorale au niveau local (Yoshino *et al.*, 1994). Un autre groupe d'études suggère que Hsp70 et Hsp90 participent à la réponse immune antitumorale en tant que transporteurs de peptides antigéniques de la tumeur et non comme des antigènes eux-mêmes (Srivastava et Udono, 1994; Blachere *et al.*, 1997). Par conséquent, la vaccination de souris avec une préparation d'Hsp ou le transfert de gènes *hsp70* dérivés de tumeur, les immunise vis-à-vis d'une administration de cellules tumorales autologues et induit même la régression de tumeurs déjà développées (Srivastava et Udono, 1994; Rafiee *et al.*, 2001).

La recherche d'antigènes spécifiques des tumeurs est un objectif majeur pour la thérapie du cancer. L'utilisation de complexes Hsp-peptides offre donc une source alternative potentielle d'antigènes spécifiques qui pourraient être utilisés contre les cellules tumorales pour la distribution de médicament ou pour l'élimination par le système immunitaire de l'hôte.

Un dernier point impliquant les Hsp dans la recherche sur le cancer est la résistance aux traitements anti-tumoraux qu'elles procurent aux cellules tumorales (Vargas-Roig *et al.*, 1998).

Hsp et maladies liées à la conformation anormale des protéines

Les protéines accomplissent les fonctions essentielles à la survie cellulaire (récepteur, enzyme, transporteur, mouvement). Ces fonctions dépendent de la structure tridimensionnelle des protéines et toute anomalie à ce niveau est responsable de la perte totale ou partielle de la fonction en question. C'est le cas par exemple de la mucoviscidose ou la cataracte.

La structure tridimensionnelle des protéines est acquise selon un processus spontané déterminé par leur séquence primaire en acides aminés et les conditions environnementales. Toutefois, une multitude de protéines dont les Hsp sont présentes pour assister ce processus (Gething et Sambrook, 1992). On comprend l'intérêt grandissant pour les protéines de choc thermique puisqu'actuellement des anomalies de conformation des protéines sont identifiées comme le mécanisme pathogène d'un nombre toujours plus grand de maladies (Carrell et Lomas, 1997). Ces maladies peuvent être classées en deux groupes: un est associé à des protéines agrégées qui forment des plaques amyloïdes ou fibrillaires intracellulaires ou extracellulaires (la maladie d'Alzheimer, les maladies du prion, la polyneuropathie amyloïdique, l'anémie à hématies falciformes) dont un très bel exemple est la cardiomyopathie due à une mutation ponctuelle dans le gène de l' α B-crystallin (Wang *et al.*, 2001); le second est causé par des protéines montrant des anomalies de repliement et qui sont alors reconnues par le système de contrôle de qualité cellulaire associé aux chaperons puis rapidement dégradées (la fibrose cystique, la déficience en α 1-antitrypsine, l'hypercholestérolémie familiale, le syndrome de Marfan, l'*osteogenesis imperfecta*) (Sifers, 1995; Choudhury *et al.*, 1997). Comme les corps d'inclusion formés pendant la surexpression des protéines dans la bactérie, les chaperons sont souvent trouvés associés aux agrégats protéiques dans les maladies du repliement. Ainsi, des changements dans les niveaux d'expression des Hsp70 et Hsp27 sont observés dans les cellules infectées par le prion (Tatzelt *et al.*, 1995) de même qu'une expression anormale des Hsp27,

associées à des agrégats protéiques, a été observée dans certaines maladies neurodégénératives telles que les maladies d'Alzheimer et de Creutzfeldt-Jakob (Kato *et al.*, 1992; Shinohara *et al.*, 1993). La démonstration récente du pouvoir curatif et préventif d'Hsp70 dans de tels phénomènes pathologiques suggère que les protéines de choc thermique puissent prochainement constituer une nouvelle source d'agents thérapeutiques (Yenari *et al.*, 1997). Il a également été proposé que certaines maladies neurodégénératives telles que celles de Parkinson et d'Alzheimer, ainsi que d'autres conditions incluant certains types de cancers, représentent un certain nombre de désordres cataboliques de l'ubiquitine dans lesquels la fonction altérée du système ubiquitine-protéasome puisse causer ou indirectement contribuer à la pathogénie des maladies (Lowe *et al.*, 2001).

CONCLUSION

Les Hsp constituent une série de familles multigéniques hautement conservées, des bactéries jusqu'à l'homme, suggérant que leurs fonctions sont inextricablement liées à la survie des cellules face aux modifications de leur environnement. En tant que régulateurs essentiels de l'homéostasie, les Hsp et les facteurs HSFs qui les régulent sont impliqués dans de nombreuses pathologies aiguës et chroniques. Les découvertes portant sur l'implication des Hsp dans ces pathologies n'en sont qu'à leurs prémices en médecine humaine et relèvent presque uniquement de la recherche fondamentale. Il n'est donc pas étonnant de constater que les données concernant leur implication dans les différents processus pathologiques spécifiques à la médecine vétérinaire sont pratiquement inexistantes. Il est probable que des défauts génétiques ou acquis dans la structure ou la fonction des Hsp seront identifiés et joueront un rôle primaire, ou auxiliaire mais déterminant, dans la pathologie et son traitement, comme les données expérimentales le suggèrent. L'expression des Hsp produit un effet bénéfique sur les cellules ainsi que l'ont démontré des expériences de transgénèse ou l'apparition de mutations naturelles. Les Hsp semblent d'ailleurs être des candidats idéaux comme gènes capables de modifier l'issue de différentes maladies. Au cours de ces dernières années, de plus

en plus d'intérêt a été accordé à l'étude de l'expression des protéines de choc thermique dans le cadre de la mise au point de nouveaux outils thérapeutiques. En plus de l'avenir prometteur des Hsp dans le développement de stratégies de thérapies génique, il est fort probable que le développement d'agents pharmacologiques inducteurs de leur expression va connaître prochainement un essor qui était difficilement imaginable il y a seulement quelques années d'ici, que ce soit en médecine humaine ou vétérinaire.

SUMMARY

Heat shock proteins.

I : Classification and roles in pathological processes.

All living systems have evolved mechanisms to maintain homeostasis in the face of rapid environmental changes. When exposed to elevated temperatures, most of the cells activate the synthesis of a specific group of proteins called Heat Shock Proteins (Hsps). This heat shock response, under control of specific transcription factors, the

Heat Shock factors (HSF), is an evolutionarily conserved mechanism, from bacteria to humans. Heat Shock Proteins are classified into families according to their molecular weight (Hsp 25, 40, 70, 90, 105). They play the role of molecular chaperones by binding and protecting other molecules (proteins, RNAs). The function of Hsp is to prevent accumulation of non-native proteins either by assisting proper folding of polypeptides or by driving them to proteosome pathway for degradation. Hsps are involved in various pathological processes that are accompanied by protein alterations such as chronic or degenerative diseases. This review describes structural and functional characteristics of the six main Hsps classes. It also focuses on their respective role in highly studied pathologies. The diversity of Hsps implications in these diseases explains that they became recently a strategic target in development of new therapeutic strategies.

Foot notes:

Nomenclature des Hsp

Hsp: désigne une protéine de choc thermique

HSP: désigne une famille de Hsp

hsp: désigne un gène codant pour une Hsp

BIBLIOGRAPHIE

- BLACHERE N.E., LI Z., CHANDAWARKAR R.Y., SUTO R., JAIKARIA N.S., BASU S., UDONO H., SRIVASTAVA P.K. Heat shock protein-peptide complexes, reconstituted in vitro, elicit peptide-specific cytotoxic T lymphocyte response and tumor immunity. *J. Exp. Med.*, 1997, **186**, 1315-1322.
- BLAKE M.J., GERSHON D., FARGNOLI J., HOLBROOK N.J. Discordant expression of heat shock protein mRNAs in tissues of heat-stressed rats. *J. Biol. Chem.*, 1990, **265**, 15275-15279.
- BRADY J.P., GARLAND D., DUGLAS-TABOR Y., ROBISON W.G., JR., GROOME A., WAWROUSEK E.F. Targeted disruption of the mouse alpha A-crystallin gene induces cataract and cytoplasmic inclusion bodies containing the small heat shock protein alpha B-crystallin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, **94**, 884-889.
- BRENNER B.G., WAINBERG M.A. Heat shock protein-based therapeutic strategies against human immunodeficiency virus type 1 infection. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.*, 1999, **7**, 80-90.
- BUKAU B., HORWICH A.L. The Hsp70 and Hsp60 chaperone machines. *Cell*, 1998, **92**, 351-366.
- BUREL C., MEZGER V., PINTO M., RALLU M., TRIGON S., MORANGE M. Mammalian heat shock protein families. Expression and functions. *Experientia*, 1992, **48**, 629-634.
- CARRELL R.W., LOMAS D.A. Conformational disease. *Lancet*, 1997, **350**, 134-138.
- CHOUDHURY P., LIU Y., SIFERS R.N. Quality control of protein folding: participation in human disease. *News Physiol. Sci.*, 1997, **12**, 162-166.
- CIOCCA D.R., CLARK G.M., TANDON A.K., FUQUA S.A., WELCH W.J., MCGUIRE W.L. Heat shock protein hsp70 in patients with axillary lymph node-negative breast cancer: prognostic implications. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1993a, **85**, 570-574.
- CIOCCA D.R., OESTERREICH S., CHAMNESS G.C., MCGUIRE W.L., FUQUA S.A. Biological and clinical implications of heat shock protein 27,000 (Hsp27): a review. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1993b, **85**, 1558-1570.

- CRAIG E.A., GROSS C.A. Is hsp70 the cellular thermometer? *Trends Biochem.Sci.*, 1991, **16**, 135-140.
- CREAGH E.M., SHEEHAN D., COTTER T.G. *Heat shock proteins*-modulators of apoptosis in tumour cells. *Leukemia*, 2000, **14**, 1161-1173.
- CSERMELY P., SCHNAIDER T., SOTI C., PROHASZKA Z., NARDAI G. The 90-kDa molecular chaperone family: structure, function, and clinical applications. A comprehensive review. *Pharmacol. Ther.*, 1998, **79**, 129-168.
- CZAR M.J., WELSH M.J., PRATT W.B. Immunofluorescence localization of the 90-kDa heat-shock protein to cytoskeleton. *Eur. J. Cell Biol.*, 1996, **70**, 322-330.
- DE JONG W.W., LEUNISSEN J.A., VOORTER C.E. Evolution of the alpha-crystallin/small heat-shock protein family. *Mol. Biol. Evol.*, 1993, **10**, 103-126.
- DEVAJA O., KING R.J., PAPADOPOULOS A., RAJU K.S. Heat-shock protein 27 (HSP27) and its role in female reproductive organs. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.*, 1997, **18**, 16-22.
- DUQUESNOY R.J., LIU K., FU X.F., MURASE N., YE Q., DEMETRIS A.J. Evidence for heat shock protein immunity in a rat cardiac allograft model of chronic rejection. *Transplantation*, 1999, **67**, 156-164.
- EDDY E.M. HSP70-2 heat-shock protein of mouse spermatogenic cells. *J. Exp. Zool.*, 1998, **282**, 261-271.
- EHRNSPERGER M., BUCHNER J., GAESTEL M. Structure and function of small heat-shock proteins. In : Fink A.L., Goto Y. (Eds), *Molecular Chaperones in the Life Cycle of Proteins: structure, function and mode of action*. Marcel Dekker: New York, 1998, 533-575.
- EHRNSPERGER M., GRABER S., GAESTEL M., BUCHNER J. Binding of non-native protein to Hsp25 during heat shock creates a reservoir of folding intermediates for reactivation. *EMBO J.*, 1997b, **16**, 221-229.
- ELLIS R.J., VAN DER VIES S.M., HEMMINGSEN S.M. The molecular chaperone concept. *Biochem. Soc. Symp.*, 1989, **55**, 145-153.
- EMMICH F., THOLE J., VAN EMBDEN J., KAUFMANN S.H. A recombinant 64 kilodalton protein of *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin specifically stimulates human T4 clones reactive to mycobacterial antigens. *J. Exp. Med.*, 1986, **163**, 1024-1029.
- FEIGE U., MORIMOTO R. I., YAHARA I., POLLA B. S. Stress-inducible cellular responses. Feige U., Morimoto R. I., Yahara I., Polla, B. S. (Eds). Birkhauser-verlag : Basel, 1996, 492p.
- FEIGE U., POLLA B.S. Hsp70--a multi-gene, multi-structure, multi-function family with potential clinical applications. *Experientia*, 1994, **50**, 979-986.
- FEIGE U., VAN EDEN W. Infection, autoimmunity and autoimmune disease. *EXS*, 1996, **77**, 359-373.
- FULLER K.J., ISSELS R.D., SLOSMAN D.O., GUILLET J.G., SOUSSI T., POLLA B.S. Cancer and the heat shock response. *Eur. J. Cancer*, 1994, **30A**, 1884-1891.
- GARBE T.R. Heat shock proteins and infection: interactions of pathogen and host. *Experientia*, 1992, **48**, 635-639.
- GARRIDO C., FROMENTIN A., BONNOTTE B., FAVRE N., MOUTET M., ARRIGO A.P., MEHLEN P., SOLARY E. Heat shock protein 27 enhances the tumorigenicity of immunogenic rat colon carcinoma cell clones. *Cancer Res.*, 1998, **58**, 5495-5499.
- GEORGOPOULOS C.P., HOHN B. Identification of a host protein necessary for bacteriophage morphogenesis (the groE gene product). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1978, **75**, 131-135.
- GETHING M.J. Role and regulation of the ER chaperone BiP. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 1999, **10**, 465-472.
- GETHING M.J., SAMBROOK J. Protein folding in the cell. *Nature*, 1992, **355**, 33-45.
- GRAY C.C., AMRANI M., YACOUB M.H. Heat stress proteins and myocardial protection: experimental model or potential clinical tool? *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 1999, **31**, 559-573.
- GUNTHER E., WALTER L. Genetic aspects of the hsp70 multigene family in vertebrates. *Experientia*, 1994, **50**, 987-1001.
- HAAS I.G. BiP (GRP78), an essential hsp70 resident protein in the endoplasmic reticulum. *Experientia*, 1994, **50**, 1012-1020.
- HEMMINGSEN S.M., WOOLFORD C., VAN DER VIES S.M., TILLY K., DENNIS D.T., GEORGOPOULOS C.P., HENDRIX R.W., ELLIS R.J. Homologous plant and bacterial proteins chaperone oligomeric protein assembly. *Nature*, 1988, **333**, 330-334.
- HICKEY E., BRANDON S.E., SMALE G., LLOYD D., WEBER L.A. Sequence and regulation of a gene encoding a human 89-kilodalton heat shock protein. *Mol. Cell Biol.*, 1989, **9**, 2615-2626.
- HSU P.L., HSU S.M. Abundance of *heat shock proteins* (hsp89, hsp60, and hsp27) in malignant cells of Hodgkin's disease. *Cancer Res.*, 1998, **58**, 5507-5513.
- HUNT C., MORIMOTO R.I. Conserved features of eukaryotic hsp70 genes revealed by comparison with the nucleotide sequence of human hsp70. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1985, **82**, 6455-6459.
- JACQUIER-SARLIN M.R., FULLER K., DINH-XUAN A.T., RICHARD M.J., POLLA B.S. Protective effects of hsp70 in inflammation. *Experientia*, 1994, **50**, 1031-1038.
- JAMEEL A., SKILTON R.A., CAMPBELL T.A., CHANDER S.K., COOMBES R.C., LUQMANI Y.A. Clinical and biological significance of HSP89 alpha in human breast cancer. *Int. J. Cancer*, 1992, **50**, 409-415.
- JINDAL S., DUDANI A.K., SINGH B., HARLEY C.B., GUPTA R.S. Primary structure of a human mitochondrial protein homologous to the bacterial and plant chaperonins and to the 65-kilodalton mycobacterial antigen. *Mol. Cell Biol.*, 1989, **9**, 2279-2283.

- JOLLY C., MORIMOTO R.I. Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2000, **92**, 1564-1572.
- JONES D.B., COULSON A.F., DUFF G.W. Sequence homologies between hsp60 and autoantigens. *Immunol. Today*, 1993, **14**, 115-118.
- KATO S., HIRANO A., UMAHARA T., LLENA J.F., HERZ F., OHAMA E. Ultrastructural and immunohistochemical studies on ballooned cortical neurons in Creutzfeldt-Jakob disease: expression of alpha B-crystallin, ubiquitin and stress-response protein 27. *Acta Neuropathol.[Berl]*, 1992, **84**, 443-448.
- KIM H.T., NELSON E.L., CLAYBERGER C., SANJANWALA M., SKLAR J., KRENSKY A.M. Gamma delta T cell recognition of tumor Ig peptide. *J. Immunol.*, 1995, **154**, 1614-1623.
- LASKEY R.A., HONDA B.M., MILLS A.D., FINCH J.T. Nucleosomes are assembled by an acidic protein which binds histones and transfers them to DNA. *Nature*, 1978, **275**, 416-420.
- LEE-YOON D., EASTON D., MURAWSKI M., BURD R., SUBJECK J.R. Identification of a major subfamily of large hsp70-like proteins through the cloning of the mammalian 110-kDa heat shock protein. *J. Biol. Chem.*, 1995, **270**, 15725-15733.
- LEE G.J., ROSEMAN A.M., SAIBIL H.R., VIERLING E. A small heat shock protein stably binds heat-denatured model substrates and can maintain a substrate in a folding-competent state. *EMBO J.*, 1997, **16**, 659-671.
- LEE S.H., KIM M., YOON B.W., KIM Y.J., MA S.J., ROH J.K., LEE J.S., SEO J.S. Targeted hsp70.1 disruption increases infarction volume after focal cerebral ischemia in mice. *Stroke*, 2001, **32**, 2905-2912.
- LEVINSON W., OPPERMAN H., JACKSON J. Transition series metals and sulfhydryl reagents induce the synthesis of four proteins in eukaryotic cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 1980, **606**, 170-180.
- LINDQUIST S. The heat-shock response. *Annu. Rev. Biochem.*, 1986, **55**, 1151-1191.
- LOWE J., MAYER J., LANDON M., LAYFIELD R. Ubiquitin and the molecular pathology of neurodegenerative diseases. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2001, **487**, 169-186.
- MARBER M.S., MESTRIL R., CHI S.H., SAYEN M.R., YELLON D.M., DILLMANN W.H. Overexpression of the rat inducible 70-kD heat stress protein in a transgenic mouse increases the resistance of the heart to ischemic injury. *J. Clin. Invest.*, 1995, **95**, 1446-1456.
- MARCHESI V.T., NGO N. In vitro assembly of multiprotein complexes containing alpha, beta, and gamma tubulin, heat shock protein HSP70, and elongation factor 1 alpha. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, **90**, 3028-3032.
- MATSUMOTO M., FUJIMOTO H. Cloning of a hsp70-related gene expressed in mouse spermatids. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1990, **166**, 43-49.
- MCCARTY J.S., BUCHBERGER A., REINSTEIN J., BUKAU B. The role of ATP in the functional cycle of the DnaK chaperone system. *J. Mol. Biol.*, 1995, **249**, 126-137.
- MORIMOTO R.I., SANTORO M.G. Stress-inducible responses and heat shock proteins: new pharmacologic targets for cytoprotection. *Nat. Biotechnol.*, 1998, **16**, 833-838.
- MULTHOFF G., BOTZLER C., ISSELS R. The role of heat shock proteins in the stimulation of an immune response. *Biol. Chem.*, 1998, **379**, 295-300.
- MULTHOFF G., HIGHTOWER L.E. Cell surface expression of heat shock proteins and the immune response. *Cell Stress. Chaperones.*, 1996, **1**, 167-176.
- MUNRO S., PELHAM H.R. An Hsp70-like protein in the ER: identity with the 78 kd glucose- regulated protein and immunoglobulin heavy chain binding protein. *Cell*, 1986, **46**, 291-300.
- NAGAI N., HOSOKAWA M., ITOHARA S., ADACHI E., MATSUSHITA T., HOSOKAWA N., NAGATA K. Embryonic lethality of molecular chaperone hsp47 knockout mice is associated with defects in collagen biosynthesis. *J. Cell Biol.*, 2000, **150**, 1499-1506.
- NAGATA K. Expression and function of heat shock protein 47: a collagen-specific molecular chaperone in the endoplasmic reticulum. *Matrix Biol.*, 1998, **16**, 379-386.
- NGUYEN V.T., MORANGE M., BENSUADE O. Protein denaturation during heat shock and related stress. Escherichia coli beta-galactosidase and Photinus pyralis luciferase inactivation in mouse cells. *J. Biol. Chem.*, 1989, **264**, 10487-10492.
- NICCHITTA C.V. Role of chaperones in antigen processing. *Immunol. Invest.*, 2000, **29**, 101-104.
- OH H.J., CHEN X., SUBJECK J.R. Hsp110 protects heat-denatured proteins and confers cellular thermoresistance. *J. Biol. Chem.*, 1997, **272**, 31636-31640.
- OH H.J., EASTON D., MURAWSKI M., KANEKO Y., SUBJECK J.R. The chaperoning activity of hsp110. Identification of functional domains by use of targeted deletions. *J. Biol. Chem.*, 1999, **274**, 15712-15718.
- OSTERMANN J., VOOS W., KANG P.J., CRAIG E.A., NEUPERT W., PFANNER N. Precursor proteins in transit through mitochondrial contact sites interact with hsp70 in the matrix. *FEBS Lett.*, 1990, **277**, 281-284.
- PARSELL D.A., LINDQUIST S. Heat shock proteins and stress tolerance. In : The biology of heat shock proteins and molecular chaperones. Morimoto R.I., Tissieres A., Georgopoulos C. (Eds), Cold Spring Harbor Laboratory Press : New York, 1994, 457-494.
- PEARL L.H., PRODROMOU C. Structure and in vivo function of Hsp90. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2000, **10**, 46-51.
- PLUMIER J.C., ROSS B.M., CURRIE R.W., ANGELIDIS C.E., KAZLARIS H., KOLLIAS G., PAGOULATOS G.N. Transgenic mice expressing the human heat shock protein 70 have improved post-ischemic myocardial recovery. *J. Clin. Invest.*, 1995, **95**, 1854-1860.
- PRATT W.B. Control of steroid receptor function and cytoplasmic-nuclear transport by heat shock proteins. *Bioessays*, 1992, **14**, 841-848.

- QIAN J., MOLITERNO R., DONOVAN-PELUSO M.A., LIU K., SUZOW J., VALDIVIA L., PAN F., DUQUESNOY R.J. Expression of stress proteins and lymphocyte reactivity in heterotopic cardiac allografts undergoing cellular rejection. *Transpl. Immunol.*, 1995, **3**, 114-123.
- RAFIEE M., KANWAR J.R., BERG R.W., LEHNERT K., LISOWSKA K., KRISANSSEN G.W. Induction of systemic antitumor immunity by gene transfer of mammalian heat shock protein 70.1 into tumors in situ. *Cancer Gene Ther.*, 2001, **8**, 974-981.
- RAJDEV S., SHARP F.R. Stress proteins as molecular markers of neurotoxicity. *Toxicol. Pathol.*, 2000, **28**, 105-112.
- RAZZAQUE M.S., TAGUCHI T. The possible role of collagen/HSP47, a collagen-binding protein, in the pathogenesis of human and experimental fibrotic diseases. *Histol. Histopathol.*, 1999, **14**, 1199-1212.
- RICHTER K., BUCHNER J. Hsp90: chaperoning signal transduction. *J. Cell Physiol*, 2001, **188**, 281-290.
- RYAN J.A., HIGHTOWER L.E. Stress proteins as molecular biomarkers for environmental toxicology. *EXS*, 1996, **77**, 411-424.
- SANCHEZ Y., LINDQUIST S.L. HSP104 required for induced thermotolerance. *Science*, 1990, **248**, 1112-1115.
- SANTORO M.G. Viral infection. *EXS*, 1996, **77**, 337-357.
- SANTORO M.G. *Heat shock factors* and the control of the stress response. *Biochem. Pharmacol.*, 2000, **59**, 55-63.
- SCHEIBEL T., BUCHNER J. The Hsp90 complex--a super-chaperone machine as a novel drug target. *Biochem. Pharmacol.*, 1998, **56**, 675-682.
- SEO J.S., PARK Y.M., KIM J.I., SHIM E.H., KIM C.W., JANG J.J., KIM S.H., LEE W.H. T cell lymphoma in transgenic mice expressing the human Hsp70 gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996, **218**, 582-587.
- SHINOHARA H., INAGUMA Y., GOTO S., INAGAKI T., KATO K. Alpha B crystallin and HSP28 are enhanced in the cerebral cortex of patients with Alzheimer's disease. *J. Neurol. Sci.*, 1993, **119**, 203-208.
- SHYY T.T., SUBJECK J.R., HEINAMAN R., ANDERSON G. Effect of growth state and heat shock on nucleolar localization of the 110,000-Da heat shock protein in mouse embryo fibroblasts. *Cancer Res.*, 1986, **46**, 4738-4745.
- SIFERS R.N. Defective protein folding as a cause of disease. *Nat. Struct. Biol.*, 1995, **2**, 355-357.
- SIGLER P.B., XU Z., RYE H.S., BURSTON S.G., FENTON W.A., HORWICH A.L. Structure and function in GroEL-mediated protein folding. *Annu. Rev. Biochem.*, 1998, **67**, 581-608.
- SILVA C.L., LOWRIE D.B. A single mycobacterial protein (hsp 65) expressed by a transgenic antigen-presenting cell vaccinates mice against tuberculosis. *Immunology*, 1994, **82**, 244-248.
- SMITH D.F., TOFT D.O. Steroid receptors and their associated proteins. *Mol. Endocrinol.*, 1993, **7**, 4-11.
- SOUREN J.E., WIEGANT F.A., VAN WIJK R. The role of hsp70 in protection and repair of luciferase activity in vivo; experimental data and mathematical modelling. *Cell Mol. Life Sci.*, 1999, **55**, 799-811.
- SRIVASTAVA P.K., UDONO H. Heat shock protein-peptide complexes in cancer immunotherapy. *Curr. Opin. Immunol.*, 1994, **6**, 728-732.
- STEVENSON M.A., CALDERWOOD S.K. Members of the 70-kilodalton heat shock protein family contain a highly conserved calmodulin-binding domain. *Mol. Cell Biol.*, 1990, **10**, 1234-1238.
- SUBJECK J.R., SHYY T., SHEN J., JOHNSON R.J. Association between the mammalian 110,000-dalton heat-shock protein and nucleoli. *J. Cell Biol.*, 1983, **97**, 1389-1395.
- TANGUAY R.M., WU Y., KHANDJIAN E.W. Tissue-specific expression of heat shock proteins of the mouse in the absence of stress. *Dev. Genet.*, 1993, **14**, 112-118.
- TATZELT J., ZUO J., VOELLMY R., SCOTT M., HARTL U., PRUSINER S.B., WELCH W.J. Scrapie prions selectively modify the stress response in neuroblastoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, **92**, 2944-2948.
- THOMAS P.J., QU B.H., PEDERSEN P.L. Defective protein folding as a basis of human disease. *Trends Biochem. Sci.*, 1995, **20**, 456-459.
- TSUNEKAWA N., NISHIDA T., FUJIMOTO H. Expression of the spermatid-specific Hsp70 antigen is conserved in mammals including marsupials. *J. Vet. Med. Sci.*, 1999, **61**, 381-388.
- UNGEWICKELL E. The 70-kd mammalian *heat shock proteins* are structurally and functionally related to the uncoating protein that releases clathrin triskelions from coated vesicles. *EMBO J.*, 1985, **4**, 3385-3391.
- VARGAS-ROIG L.M., GAGO F.E., TELLO O., AZNAR J.C., CIOCCA D.R. Heat shock protein expression and drug resistance in breast cancer patients treated with induction chemotherapy. *Int. J. Cancer*, 1998, **79**, 468-475.
- VELAZQUEZ J.M., LINDQUIST S. hsp70: nuclear concentration during environmental stress and cytoplasmic storage during recovery. *Cell*, 1984, **36**, 655-662.
- VOLLOCH V.Z., SHERMAN M.Y. Oncogenic potential of Hsp72. *Oncogene*, 1999, **18**, 3648-3651.
- WADHWA R., TAKANO S., ROBERT M., YOSHIDA A., NOMURA H., REDDEL R.R., MITSUI Y., KAUL S.C. Inactivation of tumor suppressor p53 by mot-2, a hsp70 family member. *J. Biol. Chem.*, 1998, **273**, 29586-29591.
- WANG X., OSINSKA H., KLEVITSKY R., GERDES A.M., NIEMAN M., LORENZ J., HEWETT T., ROBBINS J. Expression of R120G-alphaB-crystallin causes aberrant desmin and alphaB-crystallin aggregation and cardiomyopathy in mice. *Circ. Res.*, 2001, **89**, 84-91.
- WEBER L.A. Relationship of *heat shock proteins* and induced thermal resistance. *Cell Prolif.*, 1992, **25**, 101-113.
- WELCH W.J., SUHAN J.P. Cellular and biochemical events in mammalian cells during and after recovery from physiological stress. *J. Cell Biol.*, 1986, **103**, 2035-2052.

- WENDLING U., FARINE J.C. Oral administration of HSP-containing *E. coli* extract OM-89 has suppressive effects in autoimmunity. Regulation of autoimmune processes by modulating peripheral immunity towards hsp's? *Biotherapy*, 1998, **10**, 223-227.
- WICKNER S., MAURIZI M.R., GOTTESMAN S. Posttranslational quality control: folding, refolding, and degrading proteins. *Science*, 1999, **286**, 1888-1893.
- WONG H.R., WISPE J.R. The stress response and the lung. *Am. J. Physiol.*, 1997, **273**, L1-L9.
- YENARI M., FINK S.L., SUN G.H., PATEL M., KUNIS D., ONLEY D., SAPOSKY R.M., STEINBERG G.K. Overexpression of inducible HSP72 protein using herpes simplex viral vectors improves neuron survival in experimental stroke. *Soc. Neurosci. Abs.*, 1997, **23**, 1391-
- YOSHINO I., GOEDEGEBUURE P.S., PEOPLES G.E., LEE K.Y., EBERLEIN T.J. Human tumor-infiltrating CD4+ T cells react to B cell lines expressing heat shock protein 70. *J. Immunol.*, 1994, **153**, 4149-4158.
- YOUNG D.B. Chaperonins and the immune response. *Semin. Cell Biol.*, 1990, **1**, 27-35.
- YUFU Y., NISHIMURA J., NAWATA H. High constitutive expression of heat shock protein 90 alpha in human acute leukemia cells. *Leuk. Res.*, 1992, **16**, 597-605.
- ZUGEL U., KAUFMANN S.H. Immune response against heat shock proteins in infectious diseases. *Immunobiology*, 1999, **201**, 22-35.