



20 octobre 2014

Dans une revue récente, Peter J. McKinnon (*Nat. Neurosci* 16 : 1523-1529, 2013) rappelle que nous fabriquons, nous humains, 700 nouveaux neurones par jour dans l'hippocampe, soit un turnover de 1,75 %, ce qui évidemment autorise la réparation par recombinaison homologue. Ce chiffre me donne l'occasion de compléter un point discuté trop brièvement l'année dernière qui porte sur la question des cellules souches dans le système nerveux, mais pas seulement, en rapport avec la réparation de l'ADN et son vieillissement. Gerd Kempermann (*Cell* 156 : 870-871, 2014) nous le rappelle : les humains, s'ils sont évidemment des animaux, sont uniques par bien des aspects (même si cela n'est pas compris par certains). Pour ce qui est de la neurogenèse, nous en faisons moins que nombre d'autres espèces (**DIA III.2**), en tout cas à l'âge adulte, mais nous en faisons beaucoup plus au cours du développement, cela va de soi, il suffit de considérer la taille de notre cerveau. C'est un point que nous avons abordé dans le passé à travers les travaux de Arnold Kriegstein ou Willand Huttner. On se souvient que grâce à des techniques de calcul de l'âge de naissance de nos neurones (traçage du carbone 14 relâché dans l'atmosphère pendant la période des essais nucléaires à l'air libre), Jonas Frisen et ses collègues avaient démontré que la neurogenèse est importante dans l'hippocampe humain (elle dure toute la vie !), mais très faible voire inexistante dans son bulbe olfactif (**DIA III.3**). Cela nous distingue des souris et des rats chez qui les neurones GABAergiques du bulbe olfactif sont renouvelés à partir de cellules souches neurales présentes dans la zone subventriculaire (SVZ). Notons ici – cela nous servira plus tard – que les nouveaux neurones chez la souris, qu'ils soient hippocampiques et glutamatergiques ou bulbaires et GABAergiques expriment DCX (un filament intermédiaire) et PSA-NCAM (une molécule de surface), au cours de la migration (**DIA III.4**)

Mais les humains aussi ont des cellules souches dans la SVZ, alors à quoi servent-elles ? Afin de le

comprendre, Frisen et ses collègues (Ernst *et al.*, *Cell* 156 : 1072-1083, 2014) sont repartis de leur technique de marquage au ¹⁴C. Une première explication proposée par Frisen est que si la neurogenèse a persisté dans l'hippocampe et disparu dans le bulbe olfactif (chez les humains), cela est dû à la moindre importance de l'olfaction dans notre espèce. Mais alors, répétons-le, pourquoi des cellules SVZ ? Elles devraient aussi avoir disparu. Une autre explication est que ces cellules vont ailleurs que dans le bulbe. Les auteurs utilisent alors DCX et PSA-NCAM comme marqueur de neuroblastes et en trouvent une grande quantité dans le striatum (**DIA III.5**). Ils constatent que le striatum reste riche en cellules DCX tout au long de la vie est que ces cellules sont des neurones (PSA-NCAM) mais pas des astrocytes (**DIA III.5**). Les neurones du striatum se séparent en interneurones (20 à 25 % des cellules) et neurones de projection (*medium spiny neurons*, 80 % des neurones). La mesure du renouvellement neuronal suggère qu'il ne touche que les interneurones. Comme ces interneurones dégénèrent dans la maladie de Huntington, leur renouvellement a été suivi chez des malades avec le résultat étonnant d'une absence de neurogenèse adulte. En conclusion, on peut donc proposer que ces neurones atteignent le striatum alors que chez la souris ils se dirigent vers le bulbe olfactif, ce qui suggère des restrictions à la migration différentes entre les souris et les hommes (**DIA III. 3**).

Mais ainsi va la recherche, cette idée que les cellules de la SVZ ne donnent pas naissance à des neurones du bulbes mais à des neurones du striatum, très novatrice en soi, vient d'être remise en cause par une équipe chinoise (Wang *et al.*, *J. Neurosci.* 34 : 10906-10923, 2014). L'introduction le rappelle, le striatum représente la structure la plus importante des ganglions de la base dont une des fonctions principales est le contrôle des mouvements moteurs, bien qu'il joue aussi un rôle dans la cognition. Chez les primates, contrairement à la souris, le striatum est facilement divisible en noyau caudé et putamen. Plus de 90 % des neurones du striatum sont des neurones GABAergiques de taille



moyenne avec des épines (*medium spiny neurones*) qui projettent soit sur la substance noire, soit sur le pallidum (**DIA III.6**) avec une compartimentalisation similaire à tous les niveaux du circuit impliquant cortex, striatum, pallidum et substance noire, et thalamus (**DIA III.6**). Les études sur le développement cérébral (souris principalement) ont démontré que les neurones du striatum sont générés au niveau des éminences ganglionnaires médianes et latérales (**DIA III.7**). J'en profite pour rappeler que les éminences ganglionnaires sont divisées en trois zones, médiane, caudale et latérale qui fournissent non seulement les neurones du striatum (MGE et LGE) mais aussi les interneurons inhibiteurs du cortex qui viennent des trois régions (**DIA III.7**). Je rappelle aussi que chez *sapiens* certains interneurons sont générés au niveau des zones ventriculaires.

Au cours du développement précoce, les cellules neuroépithéliales et la glie radiaire jouent le rôle de cellules souches primaires au niveau des éminences ganglionnaires latérales (LGE) – toujours chez la souris – et fournissent les neurones du striatum qui projettent sur la substance noire (**DIA III.6**). Les interneurons du striatum (et du cortex) et ceux qui projettent sur le pallidum prennent leur origine dans la MGE et les aires préoptiques (POA) (**DIA III.8**). À la fin du développement, les glies radiaires de la LGE se transforment en astrocytes radiaires qui continuent de jouer le rôle de cellules souches neurales primaires au niveau des ventricules latéraux. Similairement, les glies radiaires du néocortex (pallium dorsal, latéral et ventral) donnent naissance aux cellules souches neurales de la zone sous-ventriculaire (la SVZ). La MGE et la POA ne produisent qu'une minorité des cellules de la SVZ qui donc dérive de la LGE et du pallium essentiellement (**DIA III.8**).

Chez la souris normale, les cellules souches (B1) de la SVZ génèrent, tout au long de la vie, des interneurons GABA du bulbe olfactif. Mais les cellules de la MGE/PAO ne fournissent que peu ou pas (plus probablement) de cellules SVZ adultes. Ces conclusions sont obtenues à l'aide des deux marqueurs

spécifiques que sont les facteurs de transcription Sp8 pour la LGE et Sox6 pour la MGE. La **DIA III.9**, à l'aide de ces marqueurs et aussi de Nkx2.1, autre marqueur de la MGE, suggère – selon l'étude chinoise – que chez le singe comme chez l'humain, au moins 90 % des neurones du bulbe olfactif expriment Sp8 (ne viennent donc pas de la MGE). En revanche, chez le singe comme chez l'humain, la situation est inversée pour le striatum avec une expression massive de Nkx2.1 et Sox6, suggérant que les interneurons viennent de la MGE. Enfin, des expériences de marquage BrdU démontrent l'absence de nouveaux neurones dans le striatum chez le singe adulte. La **DIA III. 10** résume la situation et souligne que la LGE à l'origine de la SVZ ne fournit pas de neurones au striatum, pas plus chez les primates que chez les souris.

On doit donc en conclure que chez la souris adulte, la SVZ (LGE) continue de produire des interneurons du bulbe chez la souris mais ne contribue pas à la formation de nouveaux interneurons au niveau du striatum. Il y a là accord entre les deux groupes. La différence concerne les primates et surtout les humains puisque, pour le groupe chinois, sur la base de l'expression des deux marqueurs Sp8 et Sox6, s'il observe une baisse massive – mais pas totale – de la production d'interneurones du bulbe dès la première année de vie, il ne constate pas que de nouveaux neurones marqués par Sp8 et le BrdU (LGE/SVZ) apparaissent dans le striatum adulte. Si nous reprenons le schéma du groupe suédois (**DIA III.11**), il serait juste pour la faible (mais non nulle) neurogenèse adulte pour les neurones bulbaires mais serait faux pour l'idée d'une déviation de ces neurones vers le striatum, sauf dans des situation d'ischémie. Il est impossible de trancher à ce stade et la diminution du nombre de nouveaux neurones striataux dans la maladie de Huntington marquée, on le sait, par la dégénérescence spécifique des interneurons du striatum, incite à la prudence. Cette divergence, qui pourrait trouver son origine dans la technique de marquage (^{14}C dans un cas et BrdU dans l'autre), n'ôte rien évidemment à l'intérêt de la question de l'impact des lésions du génome



et du vieillissement sur la fonction des cellules souches. En effet, une lésion locale peut modifier la situation en attirant vers la zone lésée des cellules souches qui n'y vont pas de façon normale. Voire en redonnant un caractère souche à des cellules locales, en particulier des astrocytes.

Nous allons traiter ce point de l'affaiblissement de la neurogenèse avec l'âge à travers la revue de Behrens *et al.* (*Nature Cell Biology* 16 : 201-207, 2014). Nous ne reviendrons pas sur le raccourcissement des télomères ou la réparation RH et NHEJ, mais sur les aspects liés à l'environnement cellulaire, la question des niches et celle de la circulation (**DIA III.12**). Il est évidemment intéressant d'étudier les facteurs extrinsèques et pas seulement intrinsèques. Dans le cas des cellules souches musculaires (sont-elles si différentes ?) un de ces mécanismes implique la voie Notch/ Δ -like 1 (DDL-1) dont la **DIA III.12** vous donne une représentation schématique avec le ligand DL ou DDL-1 qui se fixe sur Notch et induit une chaîne de transduction du signal dont un élément essentiel est le clivage du domaine intracellulaire de Notch et son transfert au noyau où il exerce une activité transcriptionnelle. De façon classique, cette activité maintient les cellules dans un état non différencié. Pour ce qui est du tissu musculaire, il existe des cellules satellites, en fait des cellules souches, qui expriment le facteur de transcription Pax7 et participent à la régénération du tissu. D'ailleurs Pax7 semble indispensable à cette fonction. Des études chez la souris démontrent que la perte de la voie de signalisation Notch/ Δ -like par les cellules satellites quiescentes se traduit par une réparation défectueuse du tissu après blessure, voire normalement pour ceux qui se souviennent que courir casse les muscles, comme penser, casse l'ADN des neurones. Mais la voie Notch n'est pas la seule impliquée, puisque – toujours pour les cellules souches musculaires – la voie Wnt7A non canonique (homéostasie calcique, **DIA III.13**) augmente la prolifération des cellules souches et la régénération musculaire.

Revenons au premier schéma de la **DIA III 12** pour nous pencher sur la boîte « altérations épigénétique ». Les altérations épigénétiques qui répondent aux lésions de l'ADN induisent la protéine p16^{Ink4a}, tumeur suppresseur et marqueur important de la sénescence cellulaire (nous sommes toujours ici dans les cellules souches). Au cours du vieillissement (souris), on a noté une augmentation de l'expression de p16^{Ink4a} au sein de nombreux tissus. La délétion du gène augmente la capacité régénérative des cellules souches hématopoïétiques et neurales, celle aussi des îlots pancréatiques au cours du vieillissement. On voit là plutôt un mécanisme intrinsèque qu'extrinsèque, mais les cellules souches vieillissantes affectent aussi leur propre niche via les facteurs qu'elles sécrètent. À commencer par des cytokines pro-inflammatoires et des protéases qui détruisent l'architecture du tissu, ce qui porte le nom en anglais de SASP ou *Senescence-Associated Secretory Phenotype*. De ce fait le simple nettoyage des cellules souches âgées diminue la dégénérescence musculaire. Le système immunitaire joue là un rôle très important et s'il est très efficace pour éliminer les cellules sénescents dans les tumeurs et lésions pré-tumorales, il perd cette capacité avec le temps et ces cellules s'accumulent donc, participant ainsi à l'établissement du SASP. Cette perte de l'efficacité immunitaire pourrait refléter une déficience liée à l'âge de la différenciation des lymphocytes à partir des cellules souches hématopoïétiques : cercle vicieux de pas très bon augure.

Mais dépassons, toujours avec Behrens et ses collègues, l'espace limité de la niche pour donner un premier éclairage sur la façon dont le système physiologique entier répond aux lésions du génome et influe sur la physiologie des cellules souches (**DIA III. 14**) à travers des changements autonomes cellulaires ou systémiques. Au cours du vieillissement, une fois passée la période de croissance et venue celle de la maintenance, cette embryogenèse silencieuse, si répétitivement évoquée au fil des cours, les systèmes endocriniens qui contrôlent la croissance déclinent. Ce qui est peut-être une



bonne chose si l'on considère que les lésions du génome favorisent la formation de tumeurs, croissance anarchique aux conséquences très prévisibles. L'axe de la croissance somatique (somatotropique) est contrôlé par l'hormone de croissance (GH) et l'IGF-1. La GH est sécrétée par l'hypophyse (tige pituitaire) et, via son récepteur (GHR), stimule la production d'IGF-1 dans les tissus cibles (**DIA III.15**). Laquelle IGF-1 stimule, via son propre récepteur, la survie et la croissance cellulaire. Pour revenir à un système concret, le plexus choroïde – un de nos organes préférés – sécrète de l'IGF-1 qui est transporté par le liquide céphalorachidien (LCR) et agit sur les cellules souches neurales, mais aussi sur nombre d'autres éléments cellulaires dont il favorise la prolifération ou la survie.

Chez l'adulte, le couple GH-IGF-1 diminue d'activité et cette diminution relative permet une résistance au stress et augmente la survie de tous les organismes, du ver nématode aux souris. À l'inverse, une trop grande activité de cet axe est favorable au développement de tumeurs, d'où l'importance de sa régulation. De ce point de vue, on peut considérer que le nanisme, qui accompagne les phénotypes progeria (*Cockayne syndrome* par exemple dans les mutations de certains systèmes de réparation de l'ADN, voir le cours de l'année dernière), pourrait être un effet secondaire d'un ajustement qui diminue aussi la formation de tumeurs (**DIA III.15**). Mais en même temps, ces ajustements ont des effets sur la prolifération nécessaire des cellules souches. On peut donc prévoir que le renforcement de l'axe somatotropique aura des effets positifs sur le vieillissement, mais il faudrait aussi, dans cette approche « anti-âge » des moyens de bloquer la formation de tumeurs induites par l'augmentation de l'activité somatotropique. L'équilibre est donc fragile et il sera d'importance de comprendre comment maintenir un équilibre entre les effets bénéfiques de l'activation de cet axe pour lutter contre le vieillissement et protéger contre les effets maléfiques, tout particulièrement la formation de tumeurs.

Pour clore momentanément ce point de notre discussion, rappelons que la réponse aux lésions de

l'ADN inclut l'activation de p53, un anti-oncogène qui provoque la sénescence et la mort cellulaire et, aussi, simule les réponses immunitaires innées et acquises (**DIA III.14**). Les cellules ainsi entrées en sénescence acquièrent un SASP, dont la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et de chemokines qui contribuent à l'inflammation de nombreux tissus, dont le tissu cérébral, et contribue, pour ce dernier, au développement de maladies neurodégénératives. Si nous revenons maintenant à notre camembert à neuf tranches (**DIA III.16**), nous constaterons que nous avons abordé nombre de points dont la perte de protéostase, la sénescence cellulaire, l'épuisement des cellules souches et les défauts de communication cellulaire.

Toujours dans le cadre de la mise à jour des données de l'année passée qui, comme on le voit, nous a conduit à aborder quelques points du programme de cette année, je voudrais revenir maintenant sur le phénotype progeria et les laminopathies afin de les étendre à d'autres syndromes de vieillissement pathologique. À cette fin, je vais m'appuyer sur une revue (Ghosh et Zhou, *Current Op. in Genetic and Development*, 26 : 41-46, 2014). Je rappellerai une fois de plus que nombre de mécanismes cellulaires qui conduisent à un vieillissement normal ou pathologique convergent vers la question de l'intégrité du génome. De ce point de vue, le *Hutchinson-Gilford Progeria Syndrom* (HGPS) est paradigmatique. Cette maladie est causée par une mutation dans le gène de la Lamin A qui, je n'y reviens pas, raccourcit la protéine de 50 acides aminés dans sa région C-terminale et empêche que le site de farnésylation ne soit retiré (**DIA III.17**). Les premiers effets touchent évidemment la morphologie nucléaire avec une suite d'événements catastrophiques résumés dans la **DIA III.17**. Ces événements sont multiples et variés avec des effets nucléaires (lésions de l'ADN, modifications épigénétiques,...), cellulaires (activation de p53, réponse inflammatoire, autophagie,...) et systémiques (croissance limitée, maladies cardiovasculaires,...), mais ils prennent tous leur origine dans le retard pris dans le recrutement des systèmes de réparation de



l'ADN. Cette instabilité génomique comme source du vieillissement a aussi été constatée dans d'autres syndromes. Par exemple, on la constate chez des souris hypomorphes pour la Sirtuin 6, ou chez des souris modifiées pour augmenter le taux des mutations mitochondriales (mtDNA *mutator mouse*) que je vous ai déjà présentées (**DIA III.18**).

Ces syndromes de vieillissement précoces sont, heureusement, assez rares en tant que maladies génétiques. Ils peuvent n'affecter qu'un tissu ou tout l'organisme. La **DIA III.19** présente les syndromes de vieillissement précoce principaux avec deux maladies du système nerveux sans la catégorie unimodale (un seul tissu est atteint, ici le tissu nerveux). Pour l'Alzheimer, cela ne vous étonne pas puisque nous avons souvent fait allusion à des travaux démontrant que des souris porteuses des gènes humains mutés réparent mal leur ADN. Pour la maladie de Parkinson, nous y reviendrons dans un prochain cours. Je trouve que le phénotype progéria est particulièrement intéressant du fait de la formation normale de la progérine, ce qui suggère que nous avons là un modèle pour le vieillissement « normal », j'y reviens tout de suite. La **DIA III.20** est instructive de ce point de vue puisqu'elle illustre le fait que la mutation dans la Lamin A à l'origine de HGPS a des effets très larges qui touchent pratiquement toutes les tranches de notre camembert.

Parmi les cibles multiples, je ne reviens pas sur les télomères pour insister, parce que nous en aurons besoin, sur le remodelage de la chromatine. Il existe un très grand nombre de facteurs chromatinien dont l'activité dépend de l'ATP et qui régulent la structure de la chromatine, donc ont une fonction importante dans la réparation de l'ADN. Le complexe NURD (*Nucleosome Remodeling Deacetylase*) joue là un rôle essentiel. Il s'agit d'un complexe de remodelage de la chromatine, qui intervient dans la déacétylation de histones (HDAC1 présentée la semaine dernière fait partie du complexe) et la fixation aux CpG méthylés. Je rappelle que cette méthylation contribue (c'est une règle non absolue mais juste dans sa généralité) à

la répression de l'expression des gènes qui sont au voisinage de ces îlots CpG méthylés. Un des modes d'action de la répression est la fixation de MeCP2, une protéine encodée par un gène porté par le chromosome X et muté dans le syndrome de Rett, maladie neurologique qui atteint les filles (la mutation est portée par le chromosome X).

Les modèles murins de HGPS démontrent une activation de p53, qui mène à sénescence et mort cellulaire, mais le fait que le phénotype HGPS ne soit pas sauvé dans les souris invalidées pour p53 suggère d'autres voies impliquées dans cette laminopathie. Parmi ces voies, on retrouve l'attrition des cellules souches adultes, la dérégulation de l'axe somatotropique et de forts changements dans le métabolisme du glucose et des lipides. Auxquelles voies on ajoutera l'activation ATM-dépendante de NFkB, permettant de lier la laminopathie à une inflammation systémique. Je le répète donc, cette simple mutation engage de nombreuses voies du vieillissement pathologique, suggérant un lien fort entre structuration de l'hétérochromatine et longévité. Le fait que le cerveau ne soit pas touché, ou très peu, ne le place pas hors de notre raisonnement puisque nous savons que la Lamin A y est peu exprimée, à l'avantage de la Lamin B.

Il est évidemment d'intérêt de comprendre si ce vieillissement rapide et pathologique peut servir de modèle au vieillissement normal. On doit penser que oui, car la progerin, forme tronquée et pathologique de la Lamin A existe chez les individus sains et s'accumule régulièrement avec le temps, ce dès les premiers jours de la vie. On pourrait se dire que ce n'est pas grave du fait de la présence très majoritaire de la forme normale. Mais ce serait pécher par optimisme du fait de la nature dominante négative de la progerin, ce qui veut dire que la forme anormale a un avantage sur la forme physiologique – la domine. La bonne nouvelle est que la Lamin A est peu exprimée dans les neurones ce qui pourrait rendre compte du *mens sana in corpore non sano* illustré par nombre de vieillards intellectuellement pointus. Attention cependant de ne pas sombrer dans un excès



d'enthousiasme car le cerveau, ce n'est pas que des neurones, et nous connaissons l'importance des macrophages et des cellules vasculaires – qui expriment la Lamin A – dans la physiologie cérébrale. De là à proposer que le vieillissement cérébral est celui de son système vasculaire, il n'y a qu'un pas. Nous ne le franchirons pas à ce stade.

Nous ne le franchirons pas mais nous réfléchissons à son intérêt car si l'hypothèse était seulement partiellement juste, cela signifierait qu'on pourrait ralentir le vieillissement cérébral en agissant au niveau de la circulation, donc de façon non invasive. De ce point de vue, les cellules iPS obtenues à partir des tissus de patients et différenciées en cellules endothéliales vasculaires ou musculaires, y compris cardiaques, donneraient une possibilité de cribler des drogues susceptibles de ralentir le vieillissement. De simples fibroblastes peuvent aussi être utilisés puisque le phénotype initial est un phénotype nucléaire assez peu spécifique (perte de l'hétérochromatine). Récemment, et en introduction à des développements ultérieurs, il a été montré que la rapamycin, un antibiotique de la famille des macrolides, abolit les phénotypes nucléaires dans des fibroblastes HGPS en culture et diminue leur sénescence en éliminant la progerine par voie d'autophagie. Je consacrerai un développement spécial à la question de l'autophagie et je me contente ici de quelques informations sur la rapamycin qui nous seront utiles plus tard.

La rapamycin a été découverte chez un champignon de l'île de Pâques. Elle a pour cible deux complexes mTORC1 et mTORC2 (TOR pour target/cible of Rapamycin). mTORC1 est immédiatement sensible à l'antibiotique alors que l'atteinte de mTORC2 demande une exposition chronique. C'est dans le domaine du cancer que la rapamycin (ou ses analogues solubles – les rapalogs) a été utilisée en premier. En effet, les cellules transformées ont un fort métabolisme et donc une demande importante en nutriments. Or la capture des nutriments et le métabolisme énergétique (incluant synthèse des protéines et des lipides) sont directement contrôlés

par mTORC1. Pour ce qui est du métabolisme (**DIA III.21**), mTORC1 est au centre de la réponse aux stimulations par les facteurs de croissance et à la présence de nutriments. En période de diète, il favorise la glycogénolyse musculaire et hépatique et libération des acides gras à partir des réserves lipidiques. En présence de nutriments, il a l'effet inverse.

La rapamycin a aussi été utilisée pour certaines maladies du système nerveux. En fait, de nombreuses études indiquent que l'inhibition de mTORC1 est protectrice dans des modèles in vivo d'Alzheimer et de Parkinson. Les auteurs de la revue lient cet effet à l'importance des protéines mal conformées ou agrégées dans ces maladies (je vous renvoie au cours de la semaine dernière) et au fait que l'activité mTORC1 stimule leur biosynthèse et bloque l'autophagie qui contribue à s'en débarrasser. Dans un modèle de syndrome de Leigh (atteinte des ganglions de la base) provoqué par la mutation de l'enzyme mitochondriale Ndufs4 (complexe I de la chaîne de transfert des électrons dans la mitochondrie), la rapamycin diminue le décours de la maladie (modèle murin) ce qui suggère un effet possible au niveau mitochondrial, non sans nous évoquer, une fois encore, la maladie de Parkinson, qui comme le syndrome de Leigh est une maladie des ganglions de la base pour laquelle le complexe l'a été mainte fois mis en cause.

Ce qui m'amène à la longévité. En effet, l'inhibition (pharmacologique ou génétique) de la signalisation par mTOR augmente la survie des invertébrés, de la levure la mouche. Il semble que ce soit aussi le cas chez les souris traitées pour un an à partir de 12 mois. Évidemment cela pourrait être un effet indirect d'une action sur des pathologies non directement liées au vieillissement mais l'accompagnant (par exemple du développement de tumeurs). Chez des souris traitées à partir de 4, 13 ou 20 mois (et avec un traitement poursuivi sur 12 mois), on constate bien une diminution de signes classiques du vieillissement, y compris l'activité exploratoire, l'apprentissage spatial ou la



mémorisation, mais cela indépendamment de l'âge de début du traitement. On peut donc – même si c'est intéressant – s'interroger sur le côté vieillissement au sens strict. À suivre...

Après ce crochet par la rapamycin, je retourne à la progerin à travers un papier récent et un peu provocateur de Lopez-Mejia *et al.* (*EMBO reports* 15 : 529-539, 2014). Dans ce travail, les auteurs partent de l'hypothèse que dans HGPS (progeria), le problème est une mauvaise Lamin A (courte et farnésylée) plutôt que le manque de Lamin A. La Lamin C est une variante d'épissage du même gène et on peut donc faire un *knock-in* de Lamin A dans Lamin A, mais avec une construction ne permettant que l'expression de la Lamin C (exons 11 et 12 non transcrits). Ces souris deviennent obèses et ont une longévité accrue. La **DIA III.22** illustre les constructions et leurs produits. On voit sur le blot que les souris avec la double mutation ponctuelle produisent la progerin et que la mutation LCS augmente la quantité de Lamin C (que de la forme C chez les homozygotes). Si on regarde les phénotypes (**DIA III.23**) la première observation est l'effet vieillissement prématuré des souris progérine, avec un effet dose. Mais aussi un effet de survie prolongée des souris Lamin C (10 % c'est faible, mais à la fin ça compte !). C'est faible, mais on remarque aussi une forte incidence de tumeurs dans la cavité abdominale, ce qui suggère un développement tardif de lymphomes chez des souris très âgées.

Un autre phénotype est une augmentation de poids. Les souris vivent vieilles mais deviennent obèses et résistantes à l'insuline (plus les tumeurs !). Cela peut sembler étrange, mais suggère de façon plutôt intéressante un lien entre les Lamin, nucléaires semble-t-il, et le métabolisme énergétique, donc les mitochondries. En fait, ces souris Lamin C consomment moins d'énergie et préfèrent le gras plutôt que les carbohydrates comme source d'énergie (**DIA III.23**). À moins, évidemment, que les Lamins aient des actions ailleurs que dans le noyau, possiblement au niveau des mitochondries, ce qui rappelle une étude de

2012 du groupe de Christine Holt. Ce travail démontre que la traduction locale au niveau mitochondrial de la Lamin B (neuronal on s'en souvient) est nécessaire au maintien de l'intégrité des synapses de la voie rétino-tectale chez le têtard. À suivre...

Pour en finir et ouvrir là encore sur des développements futurs, signalons une étude (Liu *et al.*, *Cell Metabolism* 16 : 738-750, 2012) qui suggère que le resveratrol, un activateur de SIRT1 qui interagit avec la Lamin A, réduit le phénotype HSPG dans un modèle murin et augmente la durée de vie des souris. Le mécanisme proposé est qu'en présence de progerin, SIRT1 voit son association à la matrice nucléaire diminuée ainsi que son activité déacétylase, ce qui conduit à une perte rapide des cellules souches adultes. Revenons un peu dans les détails. Donc, on le sait la Lamin A est un composant majeur de la matrice nucléaire laquelle contient nombre d'autres facteurs dont des histones déacétylases (HDAC). La mutation qui donne naissance à la progerin avec troncation des 50 derniers acides aminés nous est familière. Les fibroblastes des souris HGPS entrent en sénescence prématurée, des fibroblastes humains aussi avec une participation de l'activation de p53, mais – on s'en souvient – pas seulement. La déacétylase dépendante du NAD⁺, SIRT1, homologue le plus proche de Sir2 de levure, régule de nombreuses voies métaboliques et de multiples études suggèrent que cette sirtuin joue un rôle dans la longévité proche de celui attribué à la restriction calorique. Si je mets des conditionnels, ce n'est pas pour mettre en doute la véracité de ces travaux mais pour inciter à ne pas généraliser à notre espèce des résultats obtenus sur d'autres mammifères, ou même des invertébrés. Cela est tout particulièrement vrai des effets bénéfiques de la restriction calorique.

Le resveratrol est, on s'en souvient, un activateur de SIRT1 qui augmente la durée de vie des levures, vers et mouches et la durée de vie en bonne santé des souris. Son mécanisme d'action est mal connu même s'il est certain qu'il active SIRT1 et que nombre de ses effets bénéfiques dépendent



de cette activation. SIRT1, de son côté, déacétyle de nombreuses protéines. Pour en venir à la progerin, rappelons qu'elle est produite normalement et que cette production augmente avec l'âge ainsi qu'avec le raccourcissement des télomères, ce qui renforce l'idée de sa participation au vieillissement. D'où le projet de rechercher une possible interaction physiologique entre Lamin A et Sirtuin.

Dans une première série d'expériences les auteurs démontrent que SIRT1 et Lamin A (mais pas Lamin C) co-localisent dans des noyaux et co-immunoprecipitent, suggérant une interaction directe entre les deux protéines (**DIA III.24**). SIRT1 déacétyle p53 sur la lysine 382 et un fluoro-acétyl p53 peptide peut donc être utilisé pour mesurer les activités déacétylase. L'activité de SIRT1 recombinante a donc été testée et cela a permis de démontrer directement que Lamin A active l'activité déacétylase de SIRT1 (**DIA III.25**). Pour ce qui est du resveratrol, il stimule l'activité de SIRT1, mais cela demande la présence de Lamin A (pas sur la DIA). Pour le phénotype progeroid, on peut alors supposer qu'il résulte d'une mauvaise interaction entre progerin et SIRT1, soit que le domaine d'interaction soit dans la région C-terminal clivée, soit que le complexe ne soit pas localisé au bon endroit. Sans entrer dans les détails, il apparaît que les deux sont vrais et je renvoie à l'article ceux d'entre vous qui seraient intéressés. Mais, même si l'activité déacétylase est diminuée il s'agit probablement d'une question d'affinité. En effet, les auteurs démontrent que l'addition de resveratrol augmente l'interaction entre Lamin A et SIRT1 ainsi que la localisation dans la matrice nucléaire. On s'y attend, le resveratrol a aussi un effet physiologique. En particulier, il augmente la prolifération des cellules souches, la minéralisation osseuse et la durée de vie des souris progéroïdes (*Zmpste24^{-/-}*), laquelle durée de vie passe de 20 à 27 semaines (**DIA III.26**).