

# COMPRENDRE LE VIEILLISSEMENT

**Jean-Pierre HENRY**

*Directeur de Recherche émérite au CNRS*

*Ancien Directeur de l'IBPC (Institut de Biologie Physico-Chimique, Paris, Fondation Edmond de Rothchild)*

Le vieillissement, c'est le déclin progressif des fonctions physiologiques et psychologiques, conduisant exponentiellement à la prévalence et à l'incidence de certaines maladies chroniques : cancer, diabète, maladies cardio-vasculaires, maladies neurodégénératives. Cet enchaînement, que l'on retrouve chez tous les mammifères, pose une question au zoologiste darwinien : quel intérêt sélectif offre à l'espèce cette longue période suivant la maturation sexuelle ?

Le romancier Eric-Emmanuel Schmitt écrit : « Selon ce préjugé, la nature consacrait 20 ans à bâtir un individu, lequel profitait de son physique durant 10 à 15 ans, puis elle occupait les décennies suivantes à le détruire ».

Nous allons examiner trois aspects : Comprendre le vieillissement ; Détecter le vieillissement ; Combattre le vieillissement.

### Comprendre le vieillissement.

À la question posée par ce phénomène, les évolutionnistes proposent la réponse suivante : le vieillissement est le produit de phénomènes physiologiques utiles dans les phases précédant la vieillesse, et qui, par la suite, provoquent des troubles. C'est l'hypothèse de la pléiotropie antagoniste, avancée en 1957 par George Williams (1926-2010).

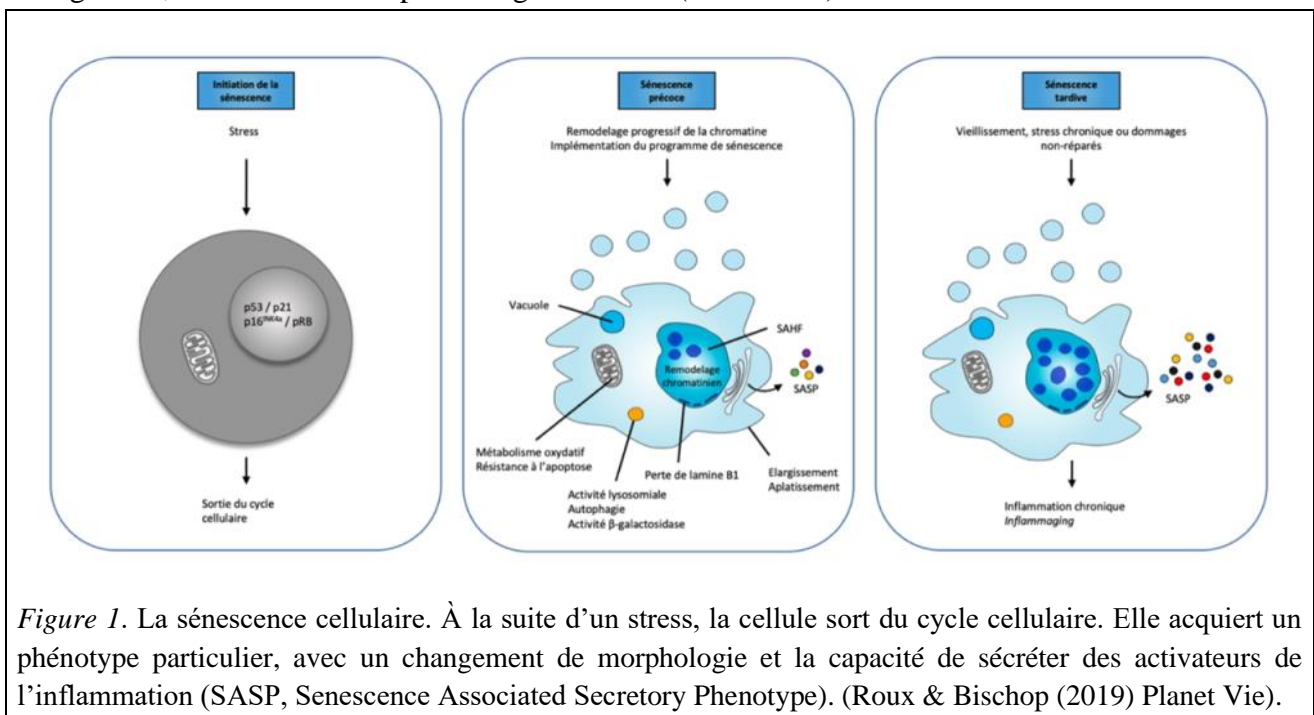


Figure 1. La sénescence cellulaire. À la suite d'un stress, la cellule sort du cycle cellulaire. Elle acquiert un phénotype particulier, avec un changement de morphologie et la capacité de sécréter des activateurs de l'inflammation (SASP, Senescence Associated Secretory Phenotype). (Roux & Bischof (2019) Planet Vie).

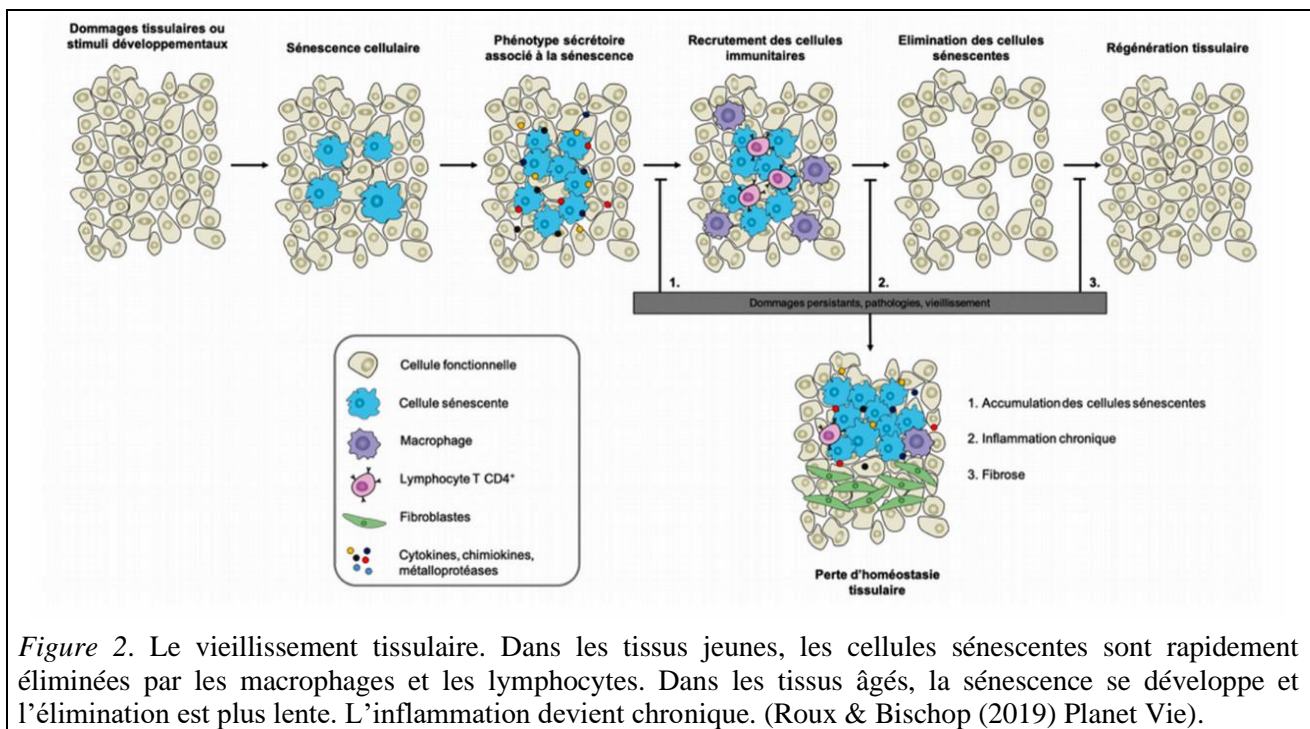
L'ensemble des recherches place le vieillissement au niveau cellulaire et pointe vers un état particulier des cellules, la *sénescence* (Fig. 1). Les cellules dans cet état sortent du cycle cellulaire, ne sont plus capables de mitose. En outre, leur morphologie et leur organisation intracellulaire sont modifiées. Elles acquièrent un phénotype sécrétoire, libérant des molécules (peptides et ARN) qui déclenchent l'inflammation et l'arrivée de cellules de nettoyage (lymphocytes T et macrophages). Ce processus va donc participer à une sélection cellulaire, utile dans certains aspects du développement ou de la cicatrisation. Le passage à l'état sénescence permet aussi l'élimination de cellules cancéreuses. Dans la première partie de la vie, son rôle bénéfique est clair.

Quelle est l'origine de la sénescence ? On considère qu'elle est induite par un stress, qui peut provenir de l'environnement (rayonnement ionisant, stress génotoxique), mais aussi du fonctionnement de la cellule : des altérations des structures nucléaires, l'activation d'oncogènes, l'érosion télomérique ou le stress oxydant.

Dans la première partie de la vie, les cellules sénescence éliminées sont rapidement remplacées dans le tissu à partir de cellules souches (Fig. 2). En revanche, dans la deuxième partie, ce remplacement est moins efficace, les cellules sénescence s'accumulent, et cela, d'autant plus que

leurs sécrétions induisent de nouvelles cellules sénescents. L'inflammation devient chronique, favorisant maintenant la cancérisation.

L'importance de la sénescence dans le vieillissement a été montrée par des expériences effectuées chez la souris. Les animaux ont été manipulés génétiquement pour que les cellules sénescents soient éliminées dès leur apparition [1]. La durée de vie des souris a été allongée et les pathologies liées à l'âge ont été atténuées. La démarche inverse est aussi significative [2] : la greffe de cellules sénescents sur des animaux jeunes a entraîné l'apparition des troubles caractéristiques du vieillissement.



Ces résultats ont motivé la recherche de molécules « sénolytiques », capables de détruire les cellules sénescents et « sénomorphes », capables de bloquer leurs actions. Actuellement, les recherches sont effectuées un peu au hasard : test de molécules de phase 1 (non toxiques, mais sans effet thérapeutique). La firme GSK a acheté pour plus de sept cents millions de dollars la Biotech Sirtris, qui proposait une drogue anti-âge, le Resvératrol, mais elle a abandonné les essais cliniques. Des molécules comme la Quercétine (présente dans la pelure de pomme) et le Dasatinib (un anticancéreux) sont en essai clinique. L'INSERM a lancé en 2016 le programme AGEMED sur ce type de recherche.

### Détecter le vieillissement.

Si le vieillissement est le produit de la sénescence cellulaire, détecter ces cellules le plus tôt possible est un objectif important. Malgré la différence phénotypique, il n'y a pas de marquage simple des cellules sénescents. L'avancée dans ce domaine est venue d'une approche bio-statistique, initiée par un jeune chercheur américain d'origine allemande, Steve Horvath. Elle s'appuie sur l'étude de l'épigénétique.

Rappelons-en rapidement les bases. Toutes les cellules d'un organisme possèdent le même ADN dans leur noyau, ADN représentant la mémoire génétique de l'individu. Chez l'Homme, l'ADN comporte plus de 3 milliards de signaux nucléotidiques, répartis sur 46 chromosomes. La longueur totale de l'ADN d'environ 1,80 m, une longueur qu'il faut loger dans un noyau sphérique d'environ

10 microns de diamètre (0,01 mm) ! Les molécules d'ADN sont compactées autour et par des protéines qui organisent la structure. L'ensemble doit garder une dynamique permettant aux enzymes qui viennent lire l'information des gènes (l'ARN polymérase) de se fixer et de se déplacer sur l'ADN. Lorsque la structure est accessible, on parle d'*euchromatine*, que l'on oppose à l'*hétérochromatine*, silencieuse. La distribution entre eu- et hétéro-chromatine varie d'une cellule à l'autre, et pour une cellule, en fonction de ses besoins. Il y a donc là un contrôle important de l'expression génétique, ce que l'on appelle *épigénétique*.

Les organisations de l'eu- et de l'hétéro-chromatine sont différentes. Les protéines de structuration, en particulier les histones, sont différentes. De plus, dans l'hétérochromatine, les nucléosides cytosine, lorsqu'ils sont suivis d'une guanosine, peuvent être méthylés.

À l'issue de travaux préalables, Steve Horvath a avancé l'hypothèse que la méthylation de l'ADN variait avec le vieillissement. Devant le scepticisme général, il a entrepris, seul, un énorme travail publié en 2013, dans *Genome Biology* [3]. Il a examiné 8000 échantillons, prélevés dans 51 tissus de 82 individus. Il a ensuite élaboré un algorithme qui utilise la méthylation de 353 sites CpG, dont 193 varient positivement et 160 négativement avec l'âge (dans l'ADN, il existe 28 millions de sites CpG). L'algorithme donne un âge épigénétique défini à 3,6 années près (il y a 50 % de chances pour que l'âge du sujet soit dans un intervalle de 3,6 ans autour de l'âge épigénétique). De manière surprenante, l'âge épigénétique peut être déterminé à partir de cellules pures ou en mélange, et à partir de tissus ayant des durées de vie différentes (Fig. 3). Les leucocytes sanguins ont des temps de vie courts (jours, semaines) alors que le cortex cérébral contient des neurones qui ont l'âge du propriétaire du cerveau et les résultats sont voisins chez le même individu. À l'exception de certains tissus (sein, utérus, cœur), les résultats sont très cohérents. Des cellules souches embryonnaires ont un âge voisin de zéro.

Ce n'est pas l'histoire de la cellule que révèle l'épigénétique, mais l'histoire du propriétaire de la cellule, histoire qui est remise à zéro au moment de la fécondation.

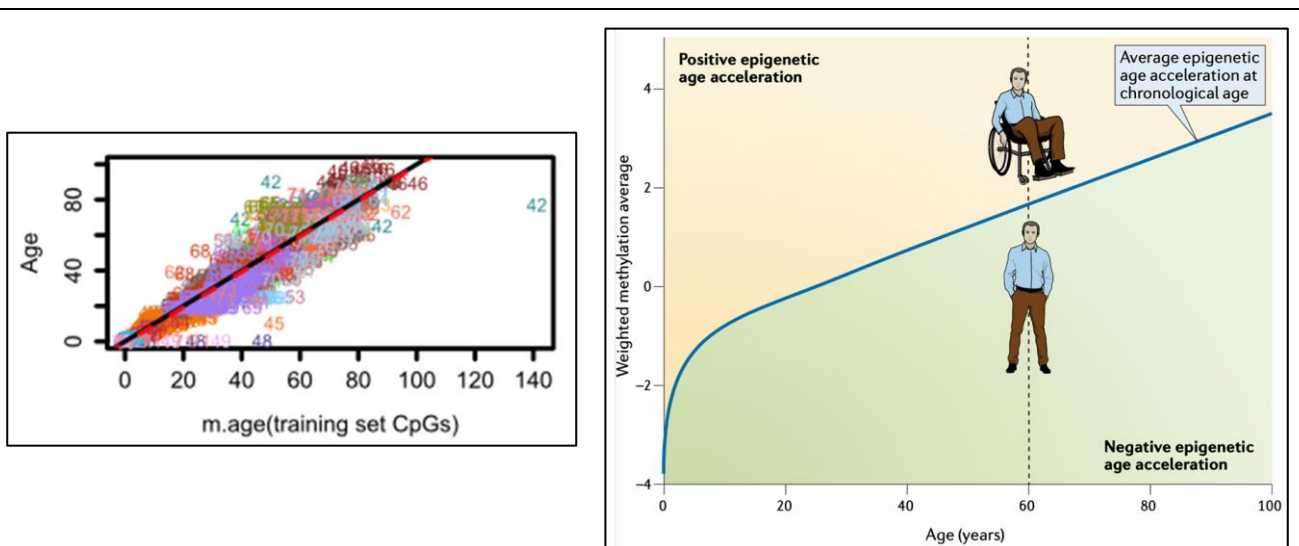


Figure 3 (à gauche). Âge et âge épigénétique. Synthèse des résultats indiquant la proportionnalité de l'âge épigénétique déterminé d'après la méthylation de l'ADN avec l'âge du sujet [3].

Figure 4 (à droite). Courbe de méthylation de l'ADN en fonction de l'âge. La courbe bleue partage le plan en deux parties : la partie haute correspond à des sujets dont l'âge épigénétique est supérieur à l'âge chronologique, indiquant un vieillissement précoce (Horvath & Raj (2018) *Nature Rev Genet*, **19**, 371).

Steve Horvath a aussi tracé la courbe mesurant le taux de méthylation en fonction de l'âge (Fig.4), représentant la vitesse avec laquelle l'horloge épigénétique marque le temps. Très rapide initialement, elle ralentit vers l'âge de 20 ans et continue ensuite linéairement. Cette courbe sépare le plan en deux parties : un âge épigénétique dans la partie supérieure correspond à un vieillissement anormalement rapide, alors que dans la partie inférieure se trouvent des sujets qui vieillissent lentement [4].

Ces prédictions ont été vérifiées. En utilisant la cohorte de Framingham (Massachusetts) dont les dossiers médicaux et des échantillons ont été conservés depuis 1948, les chercheurs ont montré qu'une année d'accélération de l'âge épigénétique indiquait une probabilité de mortalité augmentée de 4,5 %, toutes causes confondues [5]. Inversement, l'examen d'une cohorte de 82 centenaires italiens [6], d'un âge moyen de 105 ans, a indiqué une diminution de l'âge épigénétique moyen de 8,6 ans.

Ces travaux remarquables sont très largement repris et affinés. Ils posent de nouvelles questions : l'âge épigénétique est-il simplement un indicateur passif du vieillissement ou l'épigénétique est-elle partie prenante ? Pourra-t-on modifier le vieillissement en modifiant l'épigénétique ?

### Combattre le vieillissement.

Le prix Nobel de 2012 a récompensé des travaux importants, tant sur le plan théorique qu'appliqué. Le récipiendaire le plus âgé, Sir John Gurdon, a montré dans les années 1960 que la transplantation du noyau d'une cellule épidermique de crapaud adulte dans un œuf dont le noyau avait été inactivé pouvait conduire au développement d'un embryon puis d'un adulte. Ce noyau avait certainement un âge épigénétique et lorsqu'il s'est développé en cellules souches embryonnaires, cet âge s'est annulé : il est redevenu zéro. Cette expérience indique la possibilité d'un rajeunissement, induit dans cette expérience par le cytoplasme de la cellule receveuse.

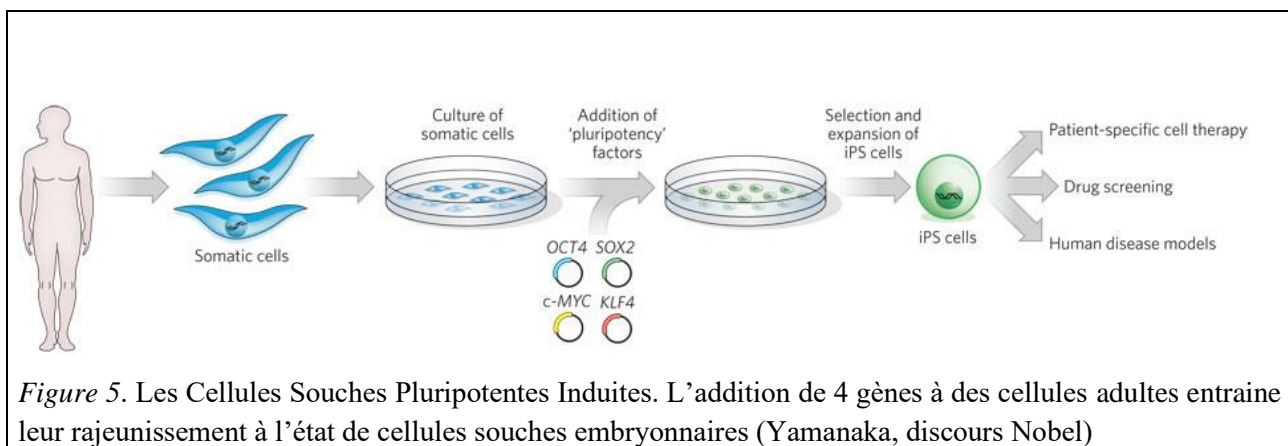


Figure 5. Les Cellules Souches Pluripotentes Induites. L'addition de 4 gènes à des cellules adultes entraîne leur rajeunissement à l'état de cellules souches embryonnaires (Yamanaka, discours Nobel)

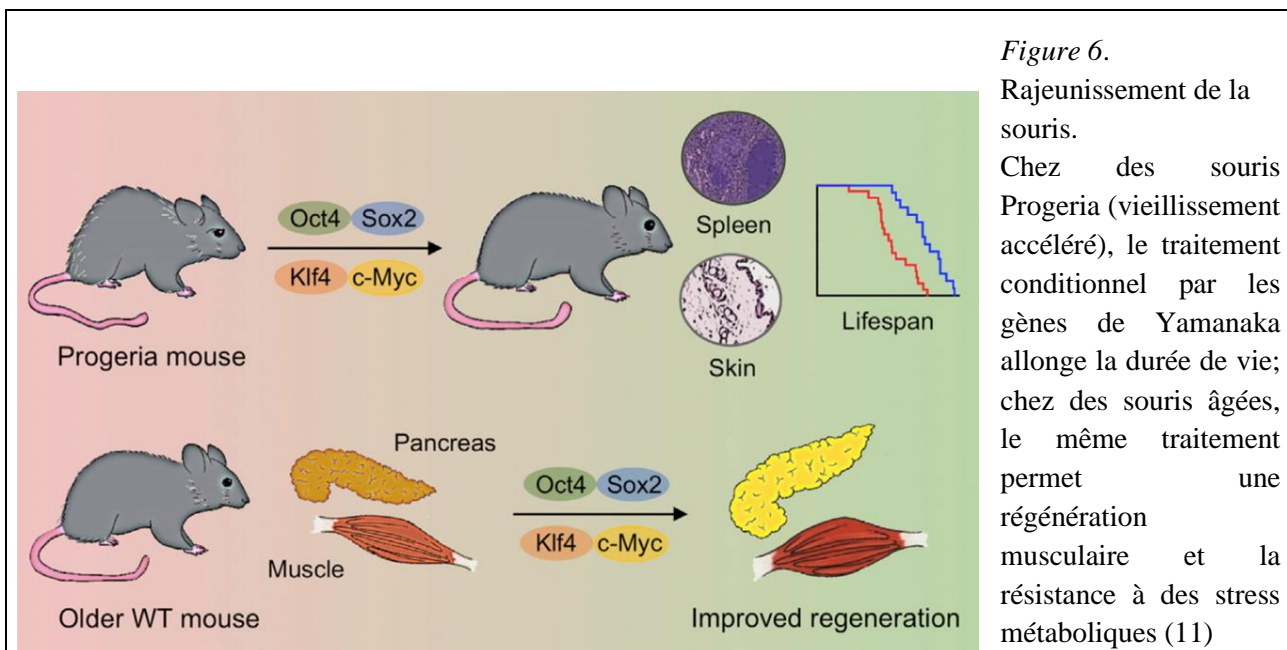
Le deuxième récipiendaire est le japonais Shinya Yamanaka, qui a réussi à créer des cellules souches embryonnaires à partir de cellules somatiques adultes (Fig. 5). On parle dans ce cas de *cellules souches pluripotentes induites* (iPS cells). Les cellules souches embryonnaires ont deux destins différents : se diviser en se différenciant pour donner les différents types cellulaires formant l'organisme ou se diviser en gardant leur propriété de pluripotence. Yamanaka, travaillant sur cet équilibre, a montré que l'expression de quatre gènes était nécessaire et suffisante pour garder la pluripotence. C'est en faisant exprimer ces quatre gènes par des cellules adultes qu'il a fabriqué les cellules souches pluripotentes induites. Là encore, la possibilité de rajeunissement cellulaire était

démontrée. Cependant, dans les deux cas, le rajeunissement s'accompagne d'une perte d'identité cellulaire. Comment effectuer un rajeunissement contrôlé ?

Dans les travaux de Gurdon, le rajeunissement était induit par le cytoplasme d'une cellule jeune, un œuf fécondé. Cette possibilité a été exploitée dans des expériences de parabiose entre des animaux d'âge différent [7]. On couple chirurgicalement la circulation sanguine d'une souris jeune avec celle d'une souris âgée. Après un certain temps, on observe une amélioration des signes de vieillissement de la souris âgée, aux niveaux épidermique et musculaire et au niveau de la moelle osseuse. Cette utilisation de facteurs sanguins juvéniles a donné lieu à différentes recherches [8]. Elles sont généralement interprétées comme un apport nutritionnel permettant de revigorer les cellules souches à potentialités limitées présentes chez l'adulte vieillissant.

Ce sont surtout vers les travaux de Yamanaka que se sont tournées les recherches les plus récentes. La difficulté la plus grande est d'induire le rajeunissement sans perte d'identité, la perte d'identité étant souvent accompagnée de cancérisation. Les travaux ont été entrepris sur des cellules humaines en culture. Dans le laboratoire de Jean-Marc Lemaître, à Montpellier, un cocktail voisin de celui de Yamanaka a été appliqué à des fibroblastes sénescents humains et des fibroblastes de centenaires [9]. La perte des caractéristiques de sénescence a été observée, accompagnant la transformation en cellules souches embryonnaires. Plus récemment [10], les mêmes gènes ont été utilisés différemment : ils n'ont pas été introduits dans les cellules à l'aide de virus (pour obtenir leur intégration dans l'ADN nucléaire), mais les ARN messagers correspondants ont été préparés et introduits dans le cytoplasme des cellules souches. Les cellules traitées ont gardé leur identité tout en perdant les caractéristiques de cellules âgées.

Peut-on rajeunir des organismes vivants ? Deux travaux importants ont abordé la question. Dans le premier [11], Juan Carlos Izpisua Belmonte (Salk Institute, Californie) a réalisé une expression contrôlée des gènes de Yamanaka. Par des manipulations génétiques, il a préparé des animaux qui expriment ces gènes lorsqu'une drogue est ajoutée à leur boisson (Fig. 6). On peut ainsi limiter les périodes d'expression des gènes et les répéter, en contrôlant l'absence de toxicité. L'expérience a été faite sur des souris « Progeria », des animaux mutés avec un vieillissement anormalement rapide. Le traitement a significativement retardé la mort des animaux. Répété sur des animaux âgés, il a démontré son efficacité contre des maladies métaboliques liées à l'âge.



Le second travail a été publié en décembre 2020, par l'équipe de David Sinclair à l'université Harvard [12]. Les gènes sont insérés dans des virus qui sont injectés dans la cavité oculaire. Comme précédemment, on contrôle l'expression des gènes par des drogues. Les gènes vont s'exprimer dans les neurones de la rétine, les cellules ganglionnaires qui forment le premier étage du nerf optique. Le traitement « rajeunit » le nerf optique, qui est alors capable de réparation et de récupération après différents traumatismes y compris un glaucome expérimental.

La conclusion de cette dernière partie est que combattre le vieillissement est théoriquement possible, mais demandera encore de gros efforts. C'est ce qu'ont compris des acteurs privés puissants comme Jeff Bezos qui, en janvier 2022, a investi dans la création du laboratoire Altos Labs, et qui s'est adjoint les compétences de Yamanaka et Belmonte.

## Références

1. Baker DJ, Childs BG, Durik M, et al. Naturally occurring p16Ink4a-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature* 2016 ; 530 : 184-9.
2. Xu M, Pirtskhalava T, Farr JN, et al. Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age. *Nature Medicine* 2018 ; 24 : 1246-56.
3. Horvath S. DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biol* 2013 ; 14 : R115.
4. Horvath S, Raj K. DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing. *Nature Reviews Genetics* 2018 ; 19 : 371-84.
5. Marioni RE, Shah S, McRae AF, et al. DNA methylation age of blood predicts all-cause mortality in later life. *Genome Biology* 2015 ; 16 : 25.
6. Horvath S, Pirazzini C, Bacalini MG, et al. Decreased epigenetic age of PBMCs from Italian semi-supercentenarians and their offspring. *Aging* 2015 ; 7 : 1159-70.
7. Conboy IM, Conboy MJ, Wagers AJ, et al. Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic environment. *Nature* 2005 ; 433 : 760-4.
8. Villeda SA, Luo J, Mosher KI, et al. The ageing systemic milieu negatively regulates neurogenesis and cognitive function. *Nature* 2011 ; 477 : 90-4.
9. Lapasset L, Milhavel O, Prieur A, et al. Rejuvenating senescent and centenarian human cells by reprogramming through the pluripotent state. *Genes & Development* 2011 ; 25 : 2248-53.
10. Sarkar TJ, Quarta M, Mukherjee S, et al. Transient non-integrative expression of nuclear reprogramming factors promotes multifaceted amelioration of aging in human cells. *Nat Commun* 2020 ; 11 : 1545.
11. Ocampo A, Reddy P, Martinez-Redondo P, et al. In Vivo Amelioration of Age-Associated Hallmarks by Partial Reprogramming. *Cell* 2016 ; 167 : 1719-33.e12.
12. Lu Y, Brommer B, Tian X, et al. Reprogramming to recover youthful epigenetic information and restore vision. *Nature* 2020 ; 588 : 124-9.