



## Restriction calorique et longévité : résultats inattendus chez la levure

Pierre-Antoine Defossez

Cnrs UMR 5665,  
École Normale Supérieure  
de Lyon, 46, allée d'Italie,  
69364 Lyon Cedex 07, France.

[Pierre-Antoine.Defossez](mailto: pierre-antoine.defossez@ens-lyon.fr)  
[@ens-lyon.fr](mailto: pierre-antoine.defossez@ens-lyon.fr)

> La restriction calorique prolonge la durée de vie de nombreux animaux [1]. Ainsi, la longévité d'une souris dont l'alimentation est limitée peut être jusqu'à 30 % supérieure à celle d'une souris qui se nourrit à volonté. Des expériences sont en cours sur de grands singes pour déterminer si ce phénomène existe également chez les primates. Les résultats préliminaires obtenus sont prometteurs et suggèrent que la restriction calorique pourrait augmenter la longévité humaine [2, 3]. Il s'agirait alors du seul traitement connu pour accroître notre espérance de vie. Les mécanismes par lesquels la restriction calorique agit sur la longévité sont inconnus. L'explication la plus couramment invoquée implique les radicaux libres. Ces molécules, produites par la respiration cellulaire, sont fortement réactives et peuvent oxyder lipides, protéines et acides nucléiques dans la cellule. L'accumulation de dommages dus aux radicaux libres serait l'une des causes du vieillissement cellulaire [4,5]. De nombreux résultats expérimentaux confortent cette théorie: par exemple, la durée de vie de la drosophile est accrue par l'augmentation de l'expression des enzymes qui neutralisent les radicaux libres dans cet organisme. Chez les mammifères, la restriction calorique semble s'accompagner d'une diminution des dommages oxydatifs [5]. Ainsi, la restriction calorique pourrait diminuer la formation des radicaux libres en ralentissant le métabolisme et/ou en renforçant les mécanismes de défense cellulaire contre l'oxydation. La levure de boulanger *Saccharomyces cerevisiae* est, elle aussi, soumise au vieillissement, et on appelle durée de vie des cellules le nombre de divisions qu'elles peuvent effectuer avant d'atteindre la sénescence (→). Leonard Guarente et son équipe ont montré que les effets bénéfiques de la restriction calorique s'appliquent également à *S. cerevisiae* [6]. Ces cellules sont habituellement cultivées en présence de glucose. Or, la diminution de la concentration de glucose dans le milieu de culture augmente la durée de vie des cellules de 20 à 30 % [6] (→). Partant de cette observation, Lin *et al.* ont utilisé des techniques de génétique et de biologie moléculaire pour disséquer les mécanismes par lesquels la restriction calorique augmente la longévité des cellules de levure [7]. Leurs résultats sont surprenants à plus d'un titre. En effet, contrairement aux résultats attendus, les cellules carencées ne sont pas plus résistantes aux dommages oxydatifs que des cellules témoins. Au contraire, la restriction calorique s'accompagne d'un accroissement de la respiration et, de façon surprenante, c'est cet accroissement de la respiration qui est lui-même responsable de l'allongement de la longévité. Le groupe de Guarente, en mesurant l'oxygène consommé par les cellules, a tout d'abord observé que la restriction calorique provoquait une augmentation de la respiration cellulaire. On peut proposer une explication simple à ce phénomène. La levure dispose de deux voies métaboliques principales pour produire de l'ATP à partir de nutriments: la respiration et la fermentation. La fermentation est une

(→) m/s  
1999, n° 12,  
p. 1454

(→) m/s  
2001, n° 6-7,  
p. 764

cascade de réactions enzymatiques qui a lieu dans le cytoplasme. En revanche, la respiration met en œuvre le cycle de l'acide tricarboxylique et les réactions de phosphorylation oxydative qui ont lieu dans les mitochondries. Quand les ressources nutritives sont abondantes, la fermentation est prédominante. Quand ces ressources se raréfient, les cellules privilégient la respiration, qui produit plus d'ATP. L'augmentation de l'activité respiratoire des cellules soumises à une restriction calorique peut donc se comprendre, mais a-t-elle un rôle dans l'accroissement de la longévité? Pour le savoir, les auteurs ont d'abord produit des cellules incapables de respirer. Pour ce faire, ils ont délété des cellules le gène *CY1*, qui code pour le cytochrome c1. Ce transporteur des électrons de la membrane mitochondriale est indispensable à la respiration. Dans un milieu riche en glucose, des cellules dépourvues de *CY1* ont une durée de vie normale, ce qui confirme le caractère facultatif de la respiration sur milieu riche. Mais l'observation clé de Lin et de ses collègues, c'est que ces cellules dépourvues de *CY1* ne vivent pas plus longtemps en milieu carencé en glucose qu'en milieu riche, contrairement aux cellules de type sauvage. La respiration est donc nécessaire à l'accroissement de longévité des cellules de levure induit par la restriction calorique. Les auteurs ont ensuite cherché à déterminer si l'augmentation de la respiration pouvait suffire à augmenter la longévité des cellules. Ils ont à cet effet utilisé un intéressant stratagème génétique. Le facteur de transcription Hap4 est le prin-

Article disponible sur le site <http://www.medecinesciences.org> ou <http://dx.doi.org/10.1051/medsci/200218121191>

principal activateur des gènes nécessaires à la respiration. Quand la concentration de glucose dans le milieu est élevée, l'expression de Hap4 est réprimée et la respiration est faible. Mais en surexprimant artificiellement Hap4, on peut induire la respiration même en milieu riche [8]. Lin *et al.* observent que la surexpression de Hap4 augmente effectivement la consommation d'oxygène des cellules, et que cette respiration accrue s'accompagne d'un accroissement de la longévité cellulaire. L'effet de Hap4 est bien dû à la respiration, car sa surexpression reste sans effet sur un mutant privé de *CYT1*, qui ne peut donc pas respirer. Ces résultats démontrent que l'augmentation de la respiration suffit, à elle seule, à prolonger la durée de vie des cellules.

Cette situation est pour le moins inattendue, car l'accroissement de la respiration devrait s'accompagner d'une production accrue de radicaux libres, dont on sait qu'ils accélèrent le vieillissement. L'accroissement de la respiration augmenterait-il la résistance des cellules aux radicaux libres? Deux observations des auteurs réfutent cette possibilité.

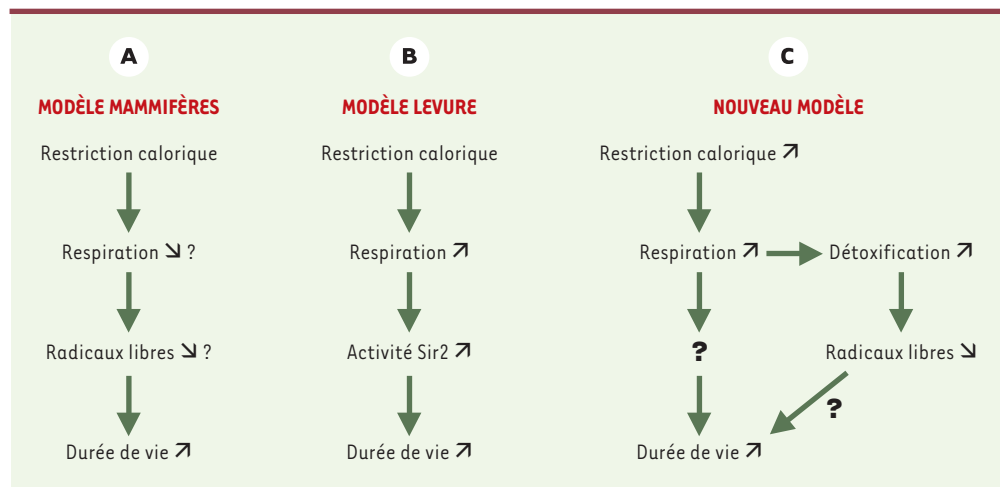
Tout d'abord, l'analyse du transcriptome des cellules par micropuces à ADN montre que la restriction calorique n'induit pas les enzymes de détoxification des radicaux libres. De plus, les auteurs observent que la restriction calorique ne rend pas les cellules plus résistantes à différents agents producteurs de radicaux libres. Pour disséquer ce phénomène au niveau moléculaire, les auteurs se sont intéressés à la protéine Sir2, une désacétylase impliquée dans le contrôle de la durée de vie de la levure, et probablement aussi d'autres organismes [9] (→). En effet, des

(→) *m/s*  
2001, n° 6-7,  
p. 764

expériences antérieures ont montré que Sir2 est nécessaire à l'effet de la restriction calorique sur la longévité de la levure [6]. Cet effet de Sir2 passe-t-il par la respiration? Sir2 peut-il stimuler la respiration ou au contraire l'augmentation de la respiration active-t-elle Sir2? Pour répondre à ces questions, deux séries d'expériences ont été réalisées. D'une part, l'activité de Sir2 a été estimée en mesurant l'expression d'un gène rapporteur inséré dans l'ADN ribosomique de levure, dont Sir2 est un répresseur transcriptionnel [9]. Les auteurs montrent par cette mesure indirecte que la restriction calorique augmente l'activité de Sir2. La surexpression de Hap4, qui induit la respiration même en milieu riche, a le même effet. De plus, les auteurs rapportent qu'en l'absence de Sir2, la surexpression de Hap4 augmente la respiration mais n'augmente pas la longévité. Ces observations montrent sans ambiguïté que Sir2 se trouve en aval de la respiration dans la cascade de facteurs contrôlant la durée de vie de la levure (Figure 1). En revanche, le mécanisme par lequel la respiration active Sir2 reste spéculatif.

Sachant qu'*in vitro*, l'activité de Sir2 dépend directement de la concentration de son co-facteur, le nicotinamide adénine dinucléotide (NAD), les auteurs proposent que le NAD produit par la respiration dans la mitochondrie soit exporté vers le cytoplasme où il activerait Sir2. L'article de Lin *et al.* montre de façon convaincante que les radicaux libres ne sont pas impliqués dans le vieillissement de la levure *S. cerevisiae*. Contrairement aux apparences, ce résultat n'est pas incompatible avec la théorie impliquant les radicaux libres dans la sénescence. En effet, et comme le rappellent Lin *et al.*, il est presque certain que les radicaux libres sont en partie responsables du vieillissement des cellules post-mitotiques, c'est-à-dire les cellules ayant perdu la capacité de se diviser [4, 5]. Ces résultats mettent peut-être en lumière une différence fondamentale entre les mécanismes de vieillissement des cellules mitotiques et post-mitotiques qu'il sera intéressant d'explorer dans les cellules des organismes supérieurs. ♦

### Caloric restriction and lifespan: unexpected results in yeast



**Figure 1. Restriction calorique, radicaux libres et longévité : anciens et nouveaux modèles.** **A.** La restriction calorique prolonge la durée de vie des mammifères. Cet effet est généralement attribué à une diminution de la production de radicaux libres, que l'on pense due à une diminution de la respiration. **B.** La restriction calorique augmente le potentiel de division des cellules de levure. Lin *et al.* montrent que la respiration des levures soumises à la restriction calorique augmente. Cette augmentation accroît l'activité de la protéine Sir2, mais n'a pas d'effet sur la résistance aux radicaux libres. **C.** Si le mécanisme découvert chez *S. cerevisiae* est également à l'œuvre chez les mammifères, la diminution des radicaux libres pourrait être une conséquence de l'augmentation de la respiration.



## RÉFÉRENCES

- Masoro EJ. Caloric restriction and aging: an update. *Exp Gerontol* 2000; 35: 299-305.
- Lane MA, Tilmont EM, De Angelis H, et al. Short-term calorie restriction improves disease-related markers in older male rhesus monkeys. *Mech Ageing Dev* 2000; 112: 185-96.
- Roth GS, Lane MA, Ingram DK, et al. Biomarkers of caloric restriction may predict longevity in humans. *Science* 2002; 297: 811.
- Johnson FB, Sinclair DA, Guarente L. Molecular biology of aging. *Cell* 1999; 96: 291-302.
- Lee CK, Klopp RG, Weindruch R, Prolla TA. Gene expression profile of aging and its retardation by caloric restriction. *Science* 1999; 285: 1390-3.
- Lin SJ, Defossez PA, Guarente L. Requirement of NAD and SIR2 for life-span extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science* 2000; 289: 2126-8.
- Lin SJ, Kaeberlein M, Andalis AA, et al. Calorie restriction extends *Saccharomyces cerevisiae* lifespan by increasing respiration. *Nature* 2002; 418: 344-8.
- Blom J, De Mattos MJ, Grivell LA. Redirection of the respiro-fermentative flux distribution in *Saccharomyces cerevisiae* by overexpression of the transcription factor Hap4p. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66: 1970-3.
- Defossez PA, Lin SJ, McNabb DS. Sound silencing: the Sir2 protein and cellular senescence. *Bioessays* 2001; 23: 327-32.

## NOUVELLE

### Un dénominateur commun aux voies de signalisation Hedgehog et Wntless

Muriel Navarro, Pascal Théron

Les protéines sécrétées des familles Hedgehog (Hh) et Wnt/Wingless (Wg) sont des protéines conservées au cours de l'évolution. Elles interviennent dans l'induction et l'organisation de nombreux tissus au cours de l'embryogenèse. Par exemple, chez les vertébrés, elles sont impliquées dans la ventralisation du tube neural et dans le développement des membres. Le dérèglement de leurs voies de signalisation est responsable chez l'homme de nombreuses maladies, comme des syndromes malformatifs au cours de l'embryogenèse précoce ou l'apparition de divers cancers chez l'adulte [1]. Un parallèle peut être fait entre les deux voies de signalisation activées par Hh [2] et Wg [3] (Figure 1). Les molécules Hh et Wg activent respectivement les protéines Smoothened (Smo) et Frizzled (Fz), qui ont une structure semblable aux récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G. Cela provoque dans les deux cas l'activation de complexes cytoplasmiques multi-protéiques comprenant des protéines clés pour la régulation de la réponse génique, telles que le régulateur transcriptionnel Armadillo de la famille  $\beta$ -caténine (Arm/ $\beta$ -cat) pour la voie Wg et le facteur de transcription *Cubitus interruptus* (Ci) pour la voie Hh.

En l'absence du signal Wg, la protéine Arm est phosphorylée par Shaggy, homologue de la *glycogen synthase kinase 3* (Sgg/GSK3). Ainsi phosphorylée, Arm/ $\beta$ -cat est aussitôt dégradée par le processus d'ubiquitylation/protéasome 26S, grâce à la protéine Slimb, qui l'adresse vers le complexe ubiquitine ligase [4]. L'activation de la voie Wg inhibe l'activité Sgg/GSK3, ce qui favorise l'accumulation de la forme cytoplasmique de Arm/ $\beta$ -cat et conduit à sa translocation nucléaire. Arm/ $\beta$ -cat s'associe alors au facteur de transcription *Pangolin/T cell factor* (TCF) pour contrôler les gènes cibles de la voie. Concernant la voie Hh, en l'absence du ligand, Ci est phosphorylée par la protéine kinase dépendante de l'AMPc (PKA), entraînant son clivage en une forme répressive de la transcription (Ci<sub>rep</sub>) [5]. Ce clivage dépend lui aussi de l'activité de Slimb et donc certainement d'un adressage au protéasome. Lorsque la voie est activée, le clivage de Ci est inhibé. La protéine Ci stabilisée est alors activée par un mécanisme encore inconnu [6], conduisant à sa translocation nucléaire et à l'activation maximale des cibles géniques de la voie.

Des travaux récents montrent maintenant que la protéine Sgg/GSK3, initialement impliquée dans la voie Wg comme effecteur négatif, est également un inhibiteur de la voie Hh [7, 8]. L'analyse de la séquence de Ci et la comparaison avec ses homologues de vertébrés, les protéines de la famille Gli, révèlent qu'au tour de trois sérines cibles de la phosphorylation par la PKA, il existe une séquence consensus S<sub>N</sub>RRXS<sub>PKA</sub>XXS<sub>C</sub>, où S<sub>N</sub> serait phosphorylée par Sgg/GSK3 et S<sub>C</sub> par la caséine kinase 1 (CK1). Des expériences *in vitro* d'activités kinases associées à la mutagenèse de ces sites possibles de phosphorylation ont confirmé que Ci est bien un substrat de Sgg/GSK3 et de CK1, mais seulement après avoir été précédemment phosphorylée par la PKA. De plus, des expériences réalisées *in vivo* chez la drosophile montrent qu'en l'absence de fonction de Sgg/GSK3, ou après la mutation des sites S<sub>N</sub> reconnus par Sgg/GSK3 sur Ci, le clivage de Ci en Ci<sub>rep</sub> est aboli. Il en résulte une accumulation de Ci, suggérant que Sgg/GSK3 participe à sa protéolyse dans des conditions physiologiques. Il reste à déterminer si l'activation par Hh contrôle la stabilité de Ci en réglant l'activité d'une phosphatase, qui s'opposerait à l'action de la PKA, et/ou de Sgg/GSK3 et CK. Alternativement, Hh pourrait déphosphoryler Ci en inhibant directement ces protéine kinases. Finalement, le fait que Sgg/GSK3, déjà

Institut de Recherches  
« Signalisation, Biologie du  
Développement et Cancer »,  
Cnrs UMR 6543, Centre de  
Biochimie, Faculté des  
Sciences, Parc Valrose, 06108  
Nice Cedex 2, France.  
[navarrom@unice.fr](mailto:navarrom@unice.fr)