

L'accumulation de cellules sénescentes dans un organe ne conduit pas toujours à son déclin fonctionnel

Olivier Albagli¹, Hélène Pelczar²

► La sénescence cellulaire est un processus multi-étapes qui entraîne un arrêt de la prolifération des cellules. Différents stimulus définissent différents types de sénescence, dont les liens sont discutés [1-3] (→). Bien qu'il n'existe aucun marqueur

(→) Voir les Synthèses de J.M. Brondello et al., m/s n° 3, mars 2012, page 288, et Y. Tachikart et al., m/s n° 6-7, juin-juillet 2018, page 547

à la fois universel et spécifique de la sénescence, elle implique souvent l'induction transcriptionnelle de la protéine P16^{Ink4a} (P16), et elle est couramment mise en évidence par l'augmentation de l'activité de la β-galactosidase (SA-βGal, senescence associated beta-galactosidase) [1-3]. La sénescence cellulaire joue un rôle dans le développement, la cicatrisation, la régénération, et la suppression tumorale [1-4]. En contrepartie de ces bénéfices à court terme, l'accumulation de cellules sénescentes dans un tissu ou un organe paraît conduire, directement ou indirectement, à son dysfonctionnement et contribuer à des maladies liées à l'âge [1-4]. Ce lien entre accumulation de cellules sénescentes et déclin fonctionnel motive des stratégies thérapeutiques ciblant les cellules sénescentes [2-4]. Pourtant, ce lien semble devoir parfois être nuancé. Une équipe de chercheurs a récemment produit des souris transgéniques permettant l'élimination sélective des cellules sénescentes (P16^{high}) au fur et à mesure de leur apparition (Figure 1) [5]. Alors que des travaux antérieurs pouvaient laisser supposer un effet bénéfique [3, 5], les chercheurs ont constaté, au

contraire, que la santé d'une partie de ces souris se dégrade vers un an [5]. Les souris malades souffrent de la perte de cellules endothéliales sénescentes, tout particulièrement de celles des sinusoides hépatiques (*liver sinusoidal endothelial cells*, LSEC). Les LSEC jouent un rôle fondamental dans l'élimination de nombreux déchets, toxines ou agents infectieux présents dans le sang. Cette fonction repose sur des récepteurs membranaires spécialisés, qui confèrent aux LSEC une remarquable capacité d'endocytose, la plus forte parmi toutes les cellules de l'organisme [5]. Les auteurs montrent, chez les souris témoins, que les LSEC sénescentes s'accumulent progressivement au cours de la vie, passant de moins de 1 % des LSEC chez les souris âgées de deux mois, à 10 % à l'âge de un an et à plus de 50 % à l'âge de deux ans. Chez les souris âgées de un an, les LSEC sénescentes présentent une expression de nombreux récepteurs spécialisés dans l'endocytose et une capacité d'internalisation des LDL (*low-density lipoproteins*) oxydées (LDL-ox) ou acétylées supérieures à celles des LSEC non sénescentes [5] (Figure 1). À cet âge, les LSEC sénescentes sont donc dotées d'une fonction détoxifiante accrue. Ce gain fonctionnel compense la diminution progressive de la porosité des sinusoides avec l'âge par pseudo-capillarisation (diminution du nombre des fenêtres entre les LSEC et formation d'une membrane basale), et la réduction corrélative de l'épuration du sang par les hépatocytes voisins [5]. Les auteurs montrent par ailleurs que la perte des LSEC sénescentes chez les souris transgéniques est irré-

¹Inserm U1016, CNRS UMR8104, Institut Cochin, Groupe hospitalier Cochin-Port-Royal, bâtiment Cassini, 123 boulevard de Port-Royal, 75014 Paris, France.

²UFR927 Sciences de la vie, Sorbonne université, 4 place Jussieu, 75005 Paris, France.

olivier.albagli-curiel@inserm.fr

versible : les LSEC éliminées ne sont pas remplacées par de nouvelles LSEC, mais par des dépôts de collagène. Cette perte conduit, chez les souris âgées de un an, à une fibrose périvasculaire dans le foie, et dans d'autres organes (cœur, poumon, rein)¹, et à une détérioration du fonctionnement hépatique [5] (Figure 1). Ces résultats montrent l'importance structurale et fonctionnelle du maintien des LSEC sénescentes.

Le pancréas fournit aussi un exemple de corrélation positive entre accumulation de cellules sénescentes et fonctionnement d'un organe. Les cellules β du pancréas jouent un rôle essentiel dans le contrôle de la glycémie car elles sont les productrices exclusives de l'insuline, l'unique hormone hypoglycémiant. Afin d'étudier directement l'effet de la sénescence sur la fonction des cellules β du pancréas, une autre équipe de chercheurs y a induit sélectivement et temporairement (pendant dix jours) l'expression de P16, chez des souris âgées de trois à quatre semaines (Figure 2). Comme escompté, cette induction arrête la prolifération des cellules β et déclenche leur sénescence, attestée par l'augmentation de l'expression de nombreux marqueurs, dont celle de SA-βGal et de l'ARNm *Cdkn1a* codant P21 [6, 7]. Surtout, elle s'accompagne d'une amélioration fonctionnelle de ces cellules. En effet, leur taille, le nombre et l'activité de leurs mitochondries, leur absorption

¹ Les auteurs de cette étude rapportent qu'il n'y a pas d'effet de l'élimination des cellules P16^{high} sur la structure histologique du pancréas. Cependant, sa fonction endocrine n'a pas été analysée.



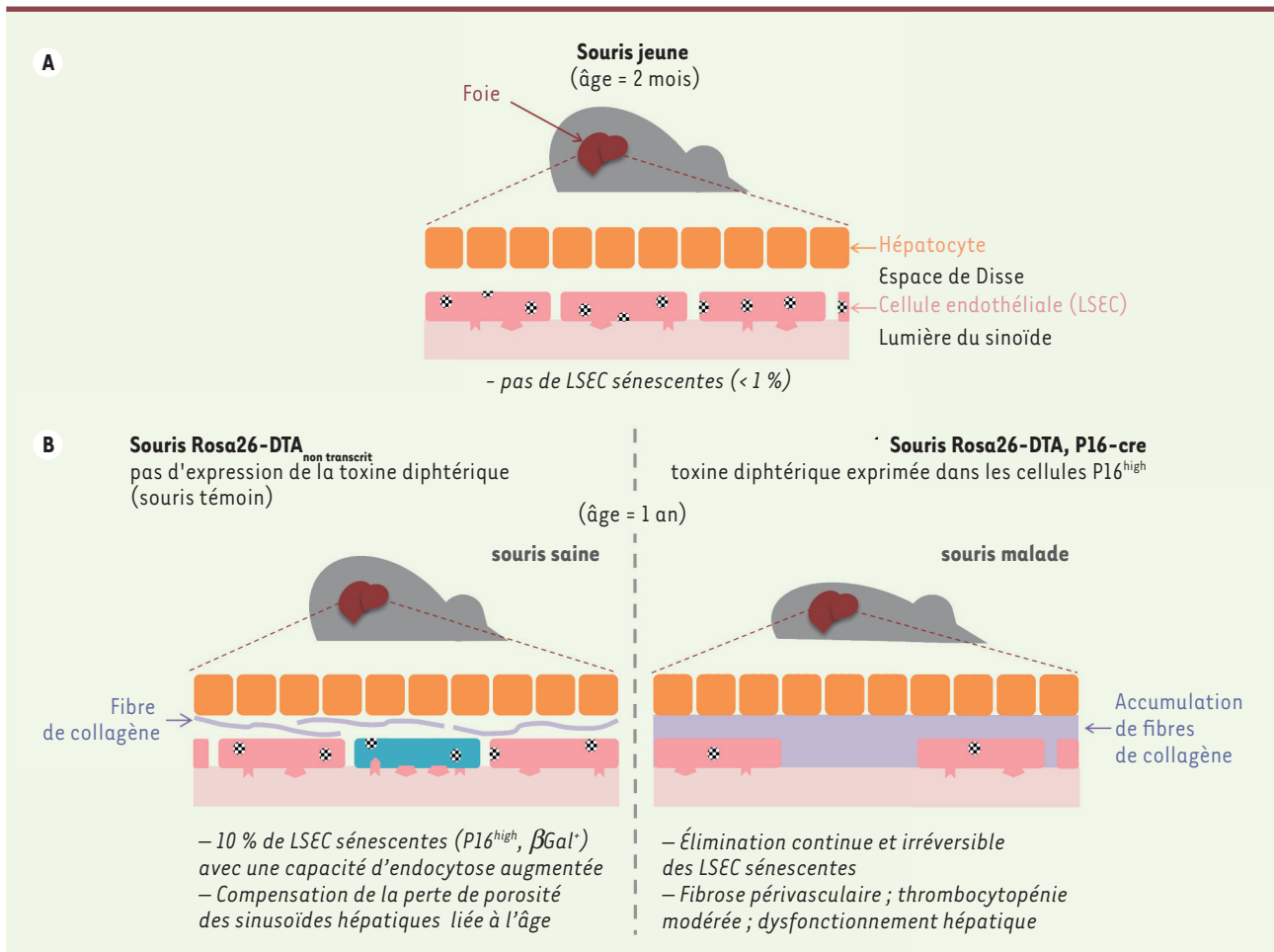


Figure 1. Les cellules endothéliales des sinusoides du foie (LSEC) sénescences sont indispensables au fonctionnement hépatique. Ce modèle d'étude requiert l'utilisation de deux cassettes insérées chacune dans une des deux copies d'un locus spécifique (*knock-in*). La première, constituée de l'ADNc codant le fragment A de la toxine diphtérique (DTA), est insérée dans le gène murin d'expression ubiquitaire *Rosa26* (*Rosa26-DTA_{non transcrit}*). L'ADN inséré comporte aussi un signal d'interruption de la transcription éliminable par la recombinaison Cre et présent entre le promoteur de *Rosa26* et *DTA* : la transcription de *DTA* est donc conditionnée par l'expression de Cre. La seconde, constituée de l'ADNc codant la recombinaison Cre, est insérée dans la partie 3' du gène codant P16 (*P16-cre*). La production de Cre, et donc celle de DTA, sont ainsi restreintes aux cellules exprimant l'ARNm *P16* et la protéine P16 elle-même au-dessus d'un seuil critique (*P16^{high}*). Notons que chez ces souris, la production de Cre n'est pas couplée à celle de *P19^{Arf}*, l'autre produit majeur du gène codant P16 (gène *Cdkn2a* ou *Ink4a/Arf*) et que la version recombinée du gène code toujours une protéine P16 entière [5]. Les souris témoins ne portent que *Rosa26-DTA_{non transcrit}*. Jusqu'à alors, les stratégies d'élimination sélective des cellules sénescences utilisaient un transgène « non ciblé » (intégration au hasard dans le génome), contenant à la fois des régions régulatrices du gène codant P16 et un gène suicide codant une protéine dont l'activité toxique est inducible [3, 5, 9]. **A.** Chez les souris âgées de deux mois, les LSEC sont densément fenestrées (disques pointillés), ce qui favorise les échanges avec les hépatocytes, et ne sont pas sénescences (moins de 1 % de cellules SA-βGal⁺). **B.** La proportion de LSEC sénescences (cellule bleue) augmente ensuite et atteint 10 % à l'âge de 12 mois (souris témoin *Rosa26-DTA_{non transcrit}*, à gauche). À cet âge, les LSEC sénescences ont une expression plus forte de nombreux récepteurs spécialisés dans l'endocytose (en rose, par exemple *scavenger* et *mannose-like receptors*) et une fonction détoxifiante accrue. Lorsque les LSEC *P16^{high}* (sénescences) sont sélectivement éliminées de façon continue (souris doublement transgéniques), 10 % à 20 % des souris âgées de un an sont malades (à droite). Les LSEC éliminées sont remplacées par des fibres de collagène, qui remplissent l'espace entre ces cellules et les hépatocytes (espace de Disse). Une fibrose périvasculaire s'installe dans le foie (et dans d'autres organes), associée à une thrombocytopénie modérée. Des cellules endothéliales *P16^{high}* sont également éliminées dans d'autres organes que le foie, ce qui contribue vraisemblablement au phénotype de ces souris. Une élimination en une fois des cellules *P16^{high}* chez des souris âgées de 18 mois grâce à une version inducible de Cre provoque des effets similaires, mais plus sévères : fibrose périvasculaire avec détérioration généralisée de la perméabilité vasculaire, thrombocytopénie plus marquée, et accumulation de LDL (*low-density lipoproteins*) oxydées dans le sang. Les auteurs utilisent aussi une variante de leur méthode dans laquelle la protéine fluorescente verte (*green fluorescent protein*, GFP) remplace DTA afin d'identifier, et non d'éliminer, les cellules *P16^{high}* [5].

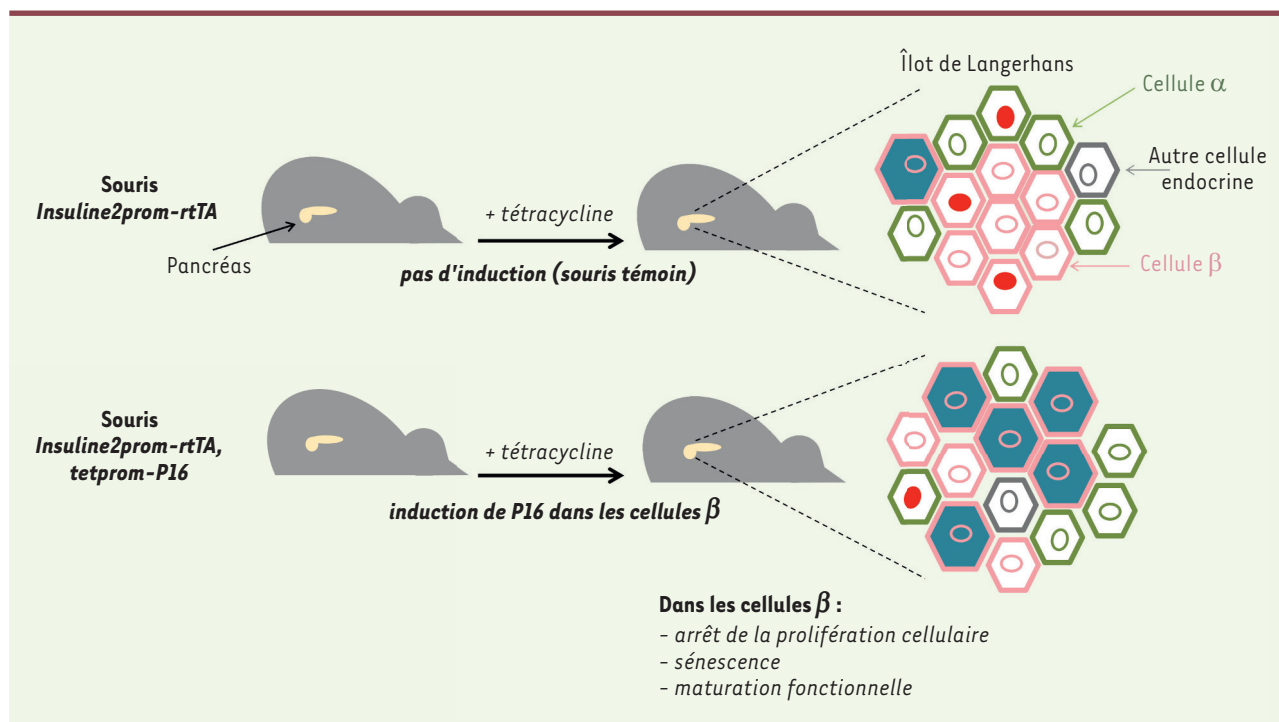


Figure 2. La surexpression de P16 induit la sénescence et accroît la maturité fonctionnelle des cellules β du pancréas. Ce modèle d'étude requiert l'utilisation de deux transgènes. Le premier, *Insuline2prom-rtTA*, est constitué de l'ADNc codant le transactivateur transcriptionnel rtTA, activable par la tétracycline et placé sous le contrôle du promoteur du gène *insuline2* de rat (*Insuline2prom*) ; rtTA est donc produit exclusivement dans les cellules β du pancréas. Le second, *tetprom-P16*, est constitué de l'ADNc codant P16 (humain) sous le contrôle du promoteur tet (*tetprom*), reconnu et activé par rtTA uniquement en présence de tétracycline (système *Tet-on*). Chez les souris portant ces deux transgènes (en bas), P16 est donc exprimée exclusivement dans les cellules β et uniquement en présence de tétracycline. Les souris témoins (en haut) ne portent que le transgène *Insuline2prom-rtTA*. La tétracycline a été administrée à ces deux lignées de souris dans leur alimentation. Ce traitement induit P16 dans les cellules β (en rose) des souris doublement transgéniques (en bas), ce qui arrête leur prolifération (perte de Ki67, un marqueur de prolifération en rouge dans le noyau), augmente leur taille, accroît l'expression de nombreux marqueurs de sénescence, dont SA- β Gal (cellules bleues), et amplifie certains traits caractéristiques de leur maturation fonctionnelle, en particulier la GSIS (*glucose-stimulated insulin secretion*). La proportion réelle de cellules β prolifératives (Ki67⁺) dans les conditions témoins est de 3,5 % (souris âgées de trois à quatre semaines). P16 (exogène) arrête la prolifération dans toutes les cellules β qui l'expriment, mais une petite proportion des cellules β demeurent prolifératives car l'expression de P16 n'est pas induite dans toutes les cellules β . Réciproquement, une petite proportion des cellules β sont sénescents (SA- β Gal⁺) chez les souris témoins. Les cellules α (en vert) et les cellules β (en rose) constituent la grande majorité (> 80 %) des cellules des îlots de Langerhans, mais d'autres types de cellules endocrines minoritaires existent, représentés ici par une cellule de couleur anthracite. Les résultats ont été obtenus après une induction de P16 pendant 10 jours chez des souris âgées de trois à quatre semaines, et corroborés par l'augmentation de la GSIS après une induction de P16 pendant 15 jours chez des souris âgées de cinq à six semaines. L'effet positif de P16 sur la GSIS se maintient après une induction de P16 pendant deux mois [6, 7].

du glucose et leur contenu en insuline augmentent. Plus remarquable encore, l'induction de P16 augmente la sécrétion d'insuline par les cellules β en réponse à une concentration élevée de glucose (*glucose-stimulated insulin secretion*, GSIS) sans augmenter la sécrétion basale de l'hormone, ce qui témoigne d'accroissement de leur maturité fonctionnelle [6, 7]. Cet effet persiste après une induction durable de P16 (pendant 2 mois) [6]. En outre, la surexpression brève (15

jours) ou durable (2 mois) de P16 dans les cellules β améliore le contrôle de la glycémie d'un type de souris diabétiques²

² Dans ce modèle, distinct de celui présenté dans la Figure 2, le génome des souris contient la séquence codant l'inducteur tTA (*tetracycline-controlled transactivator*) dans l'une des deux copies du gène *Pdx1* (*Pancreatic and duodenal homeobox 1*), ce qui permet la surexpression conditionnelle du transgène codant P16 dans les cellules β lorsque la tétracycline cesse d'être administrée aux souris (système *Tet-off*). Ces souris ne portant qu'une copie intacte du gène *Pdx1* modélisent une forme monogénique de diabète humain : MODY-4 (*maturity-onset diabetes of the young-4*) [6].

[6]. Réciproquement, le blocage de la fonction de P16 endogène perturbe la maturation fonctionnelle des cellules β murines *in vivo* et d'une lignée de cellules β humaines (EndoC- β H2) *in vitro*. Enfin, des cellules β sénescents s'accumulent avec le temps chez la souris et chez l'homme et, au moins chez l'homme, ces cellules sont plus grandes et contiennent des mitochondries plus actives que les autres cellules β [6, 7]. Chez les mammifères, la sénescence des cellules β

peut donc être associée à leur maturation. Ce résultat corrobore des résultats plus anciens montrant une amélioration fonctionnelle des cellules β jusque tard (16 mois) dans la vie des souris [8], mais il reste cependant controversé. Par exemple, une autre étude rapporte que le profil transcriptomique des cellules β sénescences (SA- β Gal⁺) de souris âgées de sept à huit mois est moins mature que celui des cellules β non sénescences (SA- β Gal⁻), et que l'élimination des cellules β sénescences, associées à l'âge ou à deux situations d'insulino-résistance, améliore le contrôle de la glycémie [9]³. Des stimulus différenciant par leur nature, leur intensité ou leur temporalité induisent probablement des sénescences distinctes, en particulier pour la composition du SASP (*senescence-associated secretory phenotype*)⁴, avec des conséquences fonctionnelles variables pour les cellules β du pancréas [9, 10]. On considère généralement que la présence de cellules sénescences peut être bénéfique lorsqu'elle est de courte durée, mais qu'elle devient néfaste si elle persiste [2, 4, 10]. Cette « règle » n'est pas toujours vérifiée : dans les deux situations présentées ici, une accumulation durable de cellules sénescences maintient ou améliore le fonctionnement d'un organe⁵, et, dans les deux cas, les cellules sénescences apparaissent plus « performantes » que les cellules non sénescences du même type. La sénescence accompagne également la maturation ou la diffé-

renciation (terminale)⁶ d'autres types cellulaires [3, 4, 11, 12]. La concomitance de ces deux processus (sénescence d'une part, et différenciation/maturation d'autre part) dans quelques situations suggère qu'ils découlent parfois d'une même cause, ou bien qu'ils exercent un effet positif l'un sur l'autre. Ces deux hypothèses sont envisageables. En effet, des déclencheurs classiques de la sénescence cellulaire, par exemple des stress génotoxiques ou oxydants, ou un dysfonctionnement des télomères des chromosomes, peuvent induire la différenciation/maturation de certaines cellules [4]. De plus, dans les cellules β du pancréas, la triiodothyronine, hormone thyroïdienne, induit à la fois des marqueurs de sénescence et de maturation cellulaires [13]. Par ailleurs, l'effet de la surexpression de P16 dans les cellules β suggère que la sénescence favorise parfois la différenciation/maturation cellulaire [6, 7]. Cela résulte vraisemblablement de l'existence de traits à la fois caractéristiques de la sénescence et importants pour la maturation des cellules β (et pour la différenciation/maturation d'autres cellules), tels que l'arrêt de la prolifération et l'augmentation de la taille des cellules et de la masse mitochondriale [1-4, 6, 7, 14]. L'état sénescence pourrait en outre favoriser la mise en place ou la survie de certaines cellules différenciées/matures en augmentant leur résistance à l'apoptose [4]. Réciproquement, la différenciation/maturation peut promouvoir la sénescence en amplifiant certains stress, notamment le stress oxydant. Ainsi, pour les LSEC, l'augmentation de l'expression de récepteurs spécialisés dans l'endocytose accroît l'absorption des LDL-ox circulant dans le sang, ce qui promeut la sénescence de ces cellules [5]. En outre, il

est possible que la différenciation/maturation accroisse également l'exposition des cellules à un stress oxydant d'origine interne. Par exemple, la respiration mitochondriale, une source majeure d'espèces réactives de l'oxygène dans la cellule [14], s'intensifie avec la maturation des cellules β (et avec la différenciation/maturation d'autres cellules) [6, 7]. Ainsi, la connexion entre sénescence et maturation dans les cellules β du pancréas (entre autres) pourrait résulter de multiples mécanismes et dépendre notamment du niveau d'activité de protéines contrôlant la prolifération et la taille des cellules ou la quantité et la qualité de leurs mitochondries. Cette dernière hypothèse est en accord avec l'implication de RB (*Retinoblastoma*), un relais habituel de P16, de mTOR (*mammalian target of rapamycin*) et, probablement, de PGC-1 α (*peroxisome proliferative-activated receptor γ coactivator 1 α*), dans la maturation associée à la sénescence des cellules β humaines de la lignée EndoC- β H2 [6, 7, 15]. Plus généralement, en dehors des quelques cas évoqués ici, le rapport entre sénescence et différenciation/maturation reste encore à préciser [4]. ♦

The accumulation of senescent cells in an organ does not always result in its functional decline

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Jean-Marc Brondello, Dmitry Bulavin et Willem Staels pour les discussions, conseils, et corrections apportées à cet article.

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Brondello JM, Prieur A, Philipot D, et al. La sénescence cellulaire : un nouveau mythe de Janus ? *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 288-96.
2. Paramos-de-Carvalho D, Jacinto A, Saude L. The right time for senescence. *eLife* 2021 ; 10 : e72449.
3. Tachikart Y, Malaise O, Constantinides M, et al. Cibler les cellules sénescences : une révolution dans le traitement des pathologies ostéo-articulaires. *Med Sci (Paris)* 2018 ; 34 : 547-53.
4. Ruth Ring NA, Valdivieso K, Grillari J, et al. The role of senescence in cellular plasticity : Lessons from regeneration and development and implications for age-related diseases *Dev Cell* 2022 ; 57 : 1083-101.

³ Dans cette étude, les cellules β sénescences sont éliminées par l'expression d'un gène « suicide » placé sous le contrôle d'un fragment du promoteur du gène codant P16, ou par des substances dites sénolytiques. Il est donc possible que l'élimination de cellules autres que les cellules β sénescences contribue aux effets observés [9].

⁴ Le SASP est un ensemble (variable) de molécules, notamment proinflammatoires, sécrétées par les cellules sénescences, qui contribue aux effets positifs à court terme de la sénescence, mais qui favorise aussi l'altération tissulaire et la tumorigénèse avec l'âge [1-4]. Certaines protéines proinflammatoires typiques du SASP pourraient être associées à une sénescence néfaste des cellules β [6, 9, 10].

⁵ Notons cependant que la surexpression très précoce ou très prolongée (durant 5 mois) de P16 entraîne une réduction du nombre de cellules β , au moins en partie à cause du déclin accéléré de leur capacité proliférative [6].

⁶ Les expressions « maturation (fonctionnelle) » et « différenciation (terminale) », utilisées dans les articles cités ici, ne désignent pas toujours des processus distincts. Dans la suite du texte, nous avons utilisé « différenciation/maturation », sauf dans le cas des cellules β pour lesquelles nous avons conservé « maturation », terme couramment utilisé pour désigner les changements post-natals conduisant d'une cellule « différenciée » (exprimant l'insuline) et proliférative, à une cellule pleinement fonctionnelle (avec une GSIS élevée) et moins, ou non, proliférative.

RÉFÉRENCES

5. Grosse L, Wagner N, Emelyanov N, *et al.* Defined p16^{High} senescent cell types are indispensable for mouse healthspan *Cell Metab* 2020 ; 32 : 87-99.
6. Helman A, Klochendler A, Azazmeh N. p16^{Ink4a} -induced senescence of pancreatic beta cells enhances insulin secretion *Nat Med* 2016 ; 22 : 412-20.
7. Helman A, Avrahami D, Klochendler A, *et al.* Effects of ageing and senescence on pancreatic β -cell function. *Diabetes Obes Metab* 2016 ; 18 (Suppl. 1) : 58-62.
8. Avrahami D, Li C, Zhang Z, *et al.* Aging-dependent demethylation of regulatory elements correlates with chromatin state and improved β cell function. *Cell Metab* 2015 ; 22 : 619-32.
9. Aguayo-Mazzucato C, Andle J, Lee TB, *et al.* Acceleration of β cell aging determines diabetes and senolysis improves disease outcomes. *Cell Metab* 2019 ; 30 : 129-42.
10. Thompson PJ, Shah A, Ntranos V, *et al.* Targeted elimination of senescent beta cells prevents type 1 diabetes. *Cell Metab* 2019 ; 29 : 1045-60.
11. Philipot D, Guérit D, Platano D, *et al.* p16^{INK4a} and its regulator miR-24 link senescence and chondrocyte terminal differentiation-associated matrix remodeling in osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 2014 ; 16 : R58.
12. Besancenot R, Chaligné R, Tonetti C, *et al.* A senescence-like cell-cycle arrest occurs during megakaryocytic maturation : implications for physiological and pathological megakaryocytic proliferation. *PLoS Biol* 2010 ; 8 : e1000476.
13. Aguayo-Mazzucato C, Lee Jr TB, Matzko M, *et al.* T3 induces both markers of maturation and aging in pancreatic β -cells *Diabetes* 2018 ; 67 : 1322-31.
14. Correia-Melo C, Passos JF. Mitochondria : are they causal players in cellular senescence? *Biochim Biophys Acta* 2015 ; 1847 : 1373-9.
15. Maugein A, Diedisheim M, Bailly K, *et al.* The RB gene family controls the maturation state of the EndoC- β H2 human pancreatic β -cells. *Differentiation* 2020 ; 113 : 1-9.

