

## Sir2 : une désacétylase qui contrôle le vieillissement

*L'utilisation d'organismes modèles simples permet de mieux comprendre le vieillissement cellulaire. Des résultats récents obtenus chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* expliquent pourquoi la restriction calorique étend la longévité chez cet organisme, et soulignent*

*le rôle central de la protéine Sir2, une désacétylase d'histones. On sait depuis peu que cette protéine contrôle également la durée de vie du nématode, et Sir2 pourrait donc être un régulateur « universel » de la longévité.*

Cette dernière décennie a vu de rapides progrès dans le domaine de la génétique du vieillissement, en particulier grâce aux études effectuées sur plusieurs organismes modèles comme la drosophile, la levure ou le nématode *Caenorhabditis elegans*. De nombreuses protéines susceptibles d'influencer la longévité ainsi que certaines voies de signalisation impliquées ont ainsi pu être identifiées. La protéine Sir2 (*Silent information regulator 2*), qui appartient à une famille de protéines présentes chez tous les eucaryotes ainsi que chez les procaryotes et les archaebactéries, vient maintenant compléter ce tableau. Cette protéine a été particulièrement bien étudiée chez la levure où elle agit comme répresseur transcriptionnel. Des résultats récents montrent qu'elle remplit cette fonction en désacétylant les histones par un mécanisme nouveau. Il apparaît de plus que Sir2 retarde le vieillissement de deux organismes très différents : la levure *Saccharomyces cerevisiae* et le nématode *Caenorhabditis elegans*.

### Sir2 : une nouvelle désacétylase d'histones

L'ADN des eucaryotes est organisé en nucléosomes, unités de base de la chromatine, où la fibre nucléique est enroulée autour d'un noyau protéique qui contient deux molécules de chacune des histones H2A, H2B, H3 et H4. Ces histones présentent des extensions amino-terminales, appelées aussi queues, qui sont exposées à la surface du nucléosome (*revue dans* [1]). Les acides aminés

présents dans les queues des histones sont soumis à diverses modifications postraductionnelles dont l'une des mieux connues est l'acétylation/désacétylation (*revue dans* [2]). Il existe une correspondance particulièrement claire entre l'état d'acétylation des lysines de la queue de H3 et H4 et l'activité transcriptionnelle locale [1]. Dans les régions activement transcrites, ces résidus sont acétylés, tandis qu'ils sont désacétylés dans les régions où la transcription est inhibée. Si une relation de cause à effet entre ces deux phénomènes existe très vraisemblablement, son mécanisme n'est pas connu avec certitude. La désacétylation des histones pourrait favoriser les interactions entre nucléosomes, et donc gêner l'accès des facteurs de transcription à la molécule d'ADN [1]. Les histones désacétylées pourraient également recruter des protéines inhibant elles-mêmes la transcription [2]. Les enzymes qui ajoutent ou ôtent les groupements acétyl sur les queues des histones sont nommées respectivement histones acétyltransférases (HAT) et histones désacétylases (HDAC). En règle générale, les HAT participent à l'activation des gènes, et les HDAC à leur répression (*revue dans* [3, 4]).

La protéine Sir2 a été particulièrement étudiée chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*. On savait depuis longtemps que chez *Saccharomyces cerevisiae*, Sir2 est associée à la répression transcriptionnelle de plusieurs locus et que sa surexpression entraîne une désacétylation généralisée des histones (*revue dans* [5]). S'il semblait donc bien probable que Sir2

soit aussi une HDAC, aucune similitude de séquence avec les HDAC déjà identifiées n'était observée, et tous les efforts pour lui associer une activité HDAC *in vitro* avaient jusqu'à présent échoué. Une série d'articles récents viennent d'établir que Sir2 est bien une histone désacétylase, mais son mécanisme d'action est nouveau et diffère de celui des classes d'HDAC préalablement décrites [5, 6-8]. En effet, à la différence des autres enzymes, Sir2 ne présente d'activité HDAC qu'en présence d'un cofacteur, le NAD (*nicotinamide adenine dinucleotide*). Le NAD est une molécule abondante dans la cellule, qui est notamment associée à de nombreuses enzymes du métabolisme. La désacétylation des histones par Sir2 est couplée à l'hydrolyse du NAD, et libère un nouveau métabolite, l'acétyl-ADP-ribose, ainsi que de la nicotinamide (*revue dans* [5]). Il faut souligner que l'hydrolyse de la liaison entre nicotinamide et ADP-ribose requiert un apport d'énergie équivalent à celui fourni par l'hydrolyse d'une molécule d'ATP en ADP. Ce mécanisme d'action enzymatique était d'autant plus inattendu que la réaction de désacétylation est énergétiquement favorable et que les autres HDAC la réalisent de façon plus simple, sans le concours de cofacteurs, en libérant de l'acétate (*figure 1*). Il paraît surprenant que la cellule consomme de l'énergie pour réaliser une réaction qui est favorisée d'un point de vue thermodynamique. L'hypothèse la plus vraisemblable est que ce mécanisme ait pour principal effet de lier la désacétylation des histones à la présence de NAD. Sir2

étant localisée de façon constitutive à ses sites d'action (au moins chez la levure), on peut envisager que ce soit la présence ou non de NAD qui contrôle son activité. Un tel mode de contrôle serait sans précédent parmi les HDAC.

La plupart des organismes possèdent plusieurs protéines apparentées à Sir2, nommées « Sirtuïnes » (*revue dans* [9]). La levure en a cinq (Sir2, Hst1, Hst2, Hst3 et Hst4), l'homme six (SirT1-SirT6). Pour toutes celles qui ont été étudiées jusqu'à présent, une activité désacétylase dépendante du NAD a pu être démontrée [8, 10]. Notons que la localisation de certaines « sirtuïnes » est seulement cytoplasmique [10]. Il est donc possible que ces « sirtuïnes » désacétylent seulement des protéines cytoplasmiques et ne soient pas directement impliquées dans le contrôle transcriptionnel. Toutefois, on ne peut pas écarter la possibilité, comme cela a été observé pour d'autres HDAC [11, 12], que certains signaux cellulaires entraînent leur localisation dans le noyau où elles pourraient alors désacétyler les histones et inhiber la transcription.

### La restriction calorique agit sur Sir2 pour augmenter la durée de vie de la levure

La levure *Saccharomyces cerevisiae* est un eucaryote unicellulaire simple qui est soumis au processus de vieillissement selon un mécanisme particulier (*revue dans* [13], *m/s* 1999, *n°* 12, *p.* 1454). En effet, la mitose de cette levure est asymétrique et l'on peut, à chaque division, distinguer la cellule mère de la cellule fille qui est plus petite. Chaque cellule mère ne peut se diviser qu'une vingtaine de fois et l'on définit son âge par le nombre de divisions qu'elle a effectuées. De façon remarquable, les cellules filles sortent de la mitose avec un potentiel de réplication intact, même si leur cellule mère est « âgée ». Ainsi, il existe bien un vieillissement à l'échelon cellulaire mais, contrairement à ce qui est observé pour des cellules d'eucaryotes supérieurs, une culture de levure ne « vieillit » pas. Un des facteurs causant la sénescence de cet organisme est maintenant connu [14]. *S. cerevisiae* porte sur l'un de ses chromosomes une centaine de répéti-

tions directes des gènes codant pour les ARN ribosomiques, qui constituent l'ADN ribosomique (ADNr). La recombinaison homologue entre ces copies peut aboutir à l'excision d'une ou de plusieurs d'entre elles qui persistent alors dans le noyau sous forme de cercles extrachromosomiques. Pendant la mitose, ces cercles se répliquent et, pour une raison inconnue, ne se répartissent pas également entre cellule mère et cellule fille, mais tendent à demeurer tous dans la cellule mère. Cette accumulation exponentielle d'ADN dans la cellule mère au cours des divisions successives finit par causer sa sénescence, sans doute en saturant les capacités de réplication de l'ADN de la cellule. Ainsi, des mutations favorisant la formation des cercles d'ADNr diminuent la durée de vie des cellules, tandis que celles qui inhibent ce phénomène augmentent leur longévité [15] et (*m/s* 1999, *n°* 12, *p.* 1454).

Lin *et al.* viennent de montrer comment Sir2, en liant restriction calorique et formation de cercles d'ADNr, règle la longévité de la levure [16]. On sait en effet que la restriction calorique augmente l'espérance de vie de nombreux organismes, unicellulaires et pluricellulaires, invertébrés et vertébrés (*revue dans* [17]). Il s'agit à ce jour du seul traitement connu pour augmenter la durée de vie de mammifères, mais son mécanisme d'action n'est pas compris. Lin *et al.* ont reproduit la restriction calorique chez *Saccharomyces cerevisiae* en diminuant la quantité de glucose présente dans le milieu de culture, et montré que ce traitement augmentait la durée de vie des cellules [16]. L'utilisation de puissants outils d'analyse génétique disponibles chez la levure leur a permis de mettre en évidence les gènes intervenant dans l'extension de la longévité en réponse à la restriction calorique. La présence de glucose est en effet perçue par différents détecteurs, dont les protéines Ras, et active une voie de signalisation qui aboutit à la stimulation de la protéine kinase A (PKA) (*figure* 2A). Les mutations des divers composants de cette voie de signalisation reproduisent les effets de la restriction calorique et augmen-

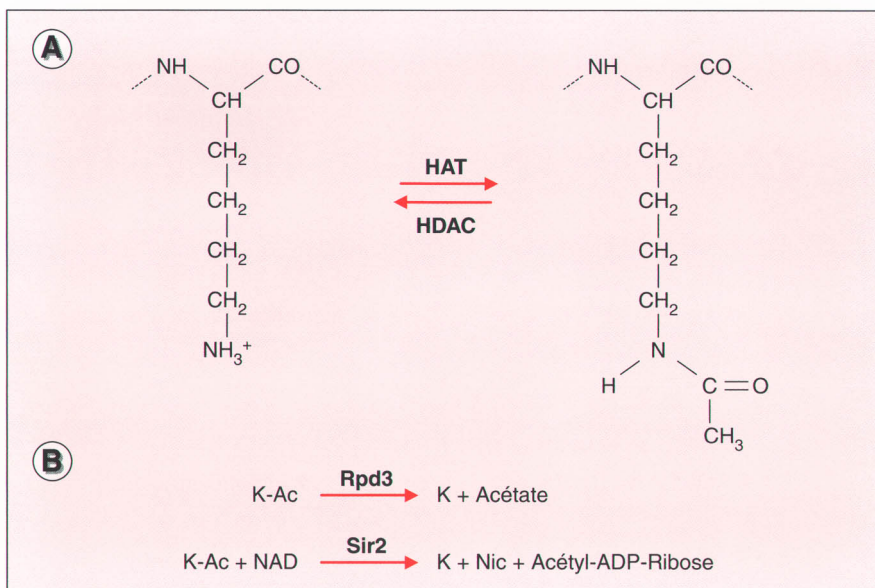


Figure 1. **Sir2 inhibe la transcription en désacétylant les histones.** **A.** Les résidus lysine présents dans les queues des histones peuvent être acétylés par des histones acétyltransférases (HAT), ou désacétylés par des histones désacétylases (HDAC). **B.** Sir2 est une histone désacétylase d'un type particulier dont l'action nécessite un co-facteur, le nicotinamide adénine dinucléotide (NAD), et produit de la nicotinamide (Nic) et de l'acétyl-ADP-ribose. Les autres désacétylases comme Rpd3 n'utilisent pas de co-facteurs. K: lysine; K-Ac: lysine acétylée.

tent la longévité. L'effecteur de ce signal n'est autre que Sir2 dont la mutation abolit ces effets sur la durée de vie. Il apparaît donc qu'une réduction de la concentration de glucose diminue l'activité de la voie Ras/PKA, provoquant ainsi l'activation de Sir2. La conséquence de cette activation est une inhibition des processus de recombinaison homologue au niveau des locus de l'ADNr. Les cercles d'ADNr sont donc moins nombreux, ce qui retarde la sénescence cellulaire.

Deux étapes de cet enchaînement ne sont pas totalement élucidées. En effet, on ne connaît pas avec certitude le mécanisme par lequel la voie Ras/PKA contrôle l'activité de Sir2. Toutefois, Lin *et al.* montrent que *Npt1*, un gène impliqué dans la synthèse de NAD, est requis pour que la restriction calorique exerce son effet bénéfique sur la longévité. On peut donc envisager que la restriction calorique, en activant *Npt1*, permette une production accrue de NAD, lequel pourrait alors activer Sir2. En outre, le mécanisme couplant l'activation de Sir2 à la diminution de la

recombinaison homologue de l'ADNr n'est pas connu. Il paraît vraisemblable, cependant, que ce soit la stabilisation de la chromatine, favorisée par la désacétylation des histones sous l'action de Sir2, qui ait pour effet d'inhiber la recombinaison homologue.

### La surexpression de Sir2 augmente la longévité de *C. elegans*

Le nématode *C. elegans* est un autre organisme modèle qui se prête bien à l'analyse génétique et chez lequel le vieillissement a été étudié avec succès (*revue dans* [17]). Il est important de préciser qu'il constitue un système tout à fait différent de la levure. Tout d'abord le nématode est un organisme multicellulaire. Surtout, la plupart des cellules des vers adultes sont postmitotiques, c'est-à-dire qu'elles ont perdu la capacité à se diviser. On appelle durée de vie du ver le nombre de jours que vit le ver adulte. En s'inspirant d'expériences réalisées antérieurement chez la levure [18], Tissenbaum et Guarente ont étudié l'effet de la surexpression de Sir2 sur

la longévité du nématode [19]. Cet organisme possède quatre gènes apparentés à *Sir2*: *Sir2-1* à *Sir2-4*. Les auteurs ont d'abord étudié des animaux présentant des duplications de certains chromosomes ou fragments de chromosomes, et observé que des vers portant une duplication de la région comprenant le locus *Sir2-1* vivaient jusqu'à 50% plus longtemps que des vers sauvages. Les duplications intéressant les autres gènes *Sir2* n'ont pas d'effet. Ils ont ensuite obtenu des animaux transgéniques possédant de multiples copies du gène *Sir2-1*, et observé une fois encore une remarquable extension de longévité.

On ne connaît que deux voies génétiques de contrôle de la longévité chez *C. elegans* (*revue dans* [17]). La première contient une série de gènes appelés *clk*, pour *clock* c'est-à-dire horloge, qui contrôlent l'activité métabolique de l'animal. Leur inactivation freine considérablement le métabolisme et l'activité du ver, qui vit en quelque sorte au ralenti, et peut ainsi atteindre une durée de vie bien supérieure à celle des animaux non mutés. L'autre voie est bien distincte. Elle met

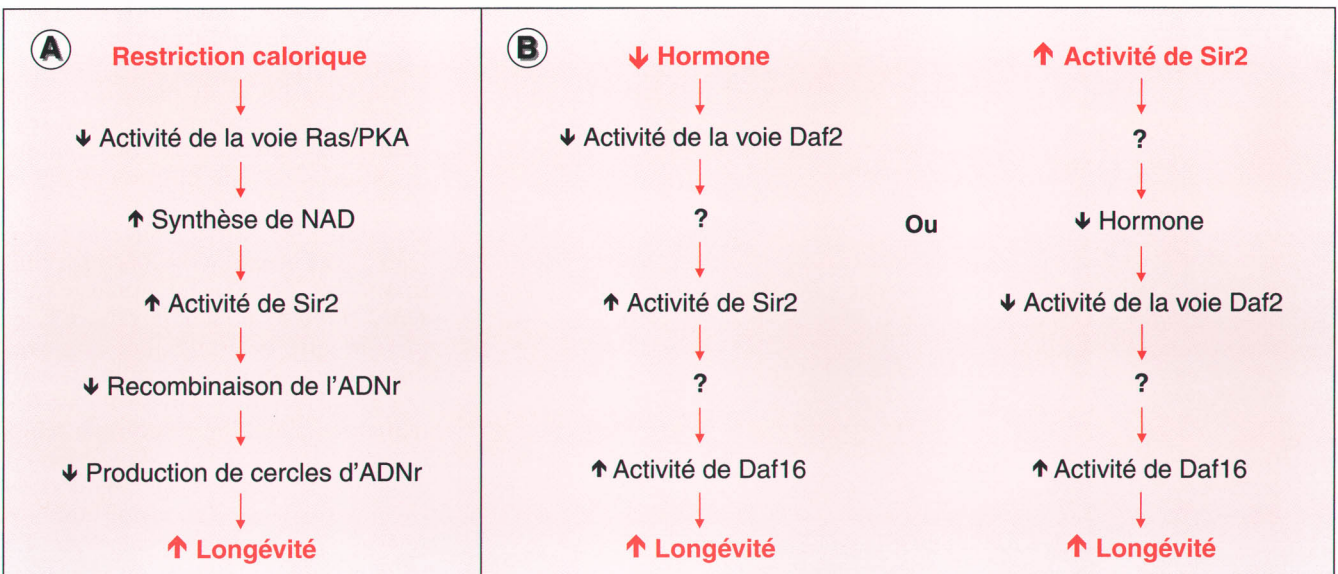


Figure 2. **L'activation de Sir2 ralentit le vieillissement chez *S. cerevisiae* et *C. elegans*.** **A.** Chez la levure, la restriction de l'apport calorique diminue l'activité de la voie de signalisation comprenant Ras et la protéine kinase A (PKA). Ceci semble provoquer une augmentation de la synthèse de NAD, qui active Sir2. Sir2 inhibe alors la recombinaison au sein de l'ADN ribosomique (ADNr) et ralentit la formation de cercles d'ADN ribosomique qui causent le vieillissement de la levure. **B.** Chez *C. elegans*, une hormone apparentée à l'insuline active la voie de signalisation comprenant les gènes *Daf2* et *Daf16*, et contrôle négativement la longévité. L'activation de Sir2 a un effet positif sur la durée de vie du nématode, et il est possible que la protéine soit une cible de la voie *Daf2* ou au contraire règle l'activité de cette voie, par exemple en diminuant la sécrétion d'hormone.



en jeu une voie de signalisation similaire à celle de l'insuline, qui comprend notamment le récepteur transmembranaire Daf-2. La diminution de la concentration de l'hormone, ou les mutations inactivant cette voie de signalisation, provoquent une extension de la longévité. Celle-ci requiert l'activation de Daf-16, un facteur de transcription du type *forkhead* (*m/s* 1999, n° 6-7, p. 897), qui est normalement contrôlé négativement par la voie Daf-2. Il est vraisemblable que Daf-16 agisse en activant la transcription de gènes ayant un effet protecteur contre le vieillissement, mais ceux-ci ne sont pas connus. Dans le cas d'une mutation de la voie Daf-2, l'animal vit plus longtemps sans que ses rythmes physiologiques ne soient ralentis. En réalisant une série de croisements entre animaux mutants, Tissenbaum et Guarente ont montré que le gène *Sir2-1* agit sur la voie Daf-2 [19]. On observe en effet une prolongation de la vie en l'absence de *Daf-2*, mais la surexpression de *Sir2-1* ne provoque aucun effet additif. De plus, ce phénotype de longévité, observé soit par les mutations de *Daf-2* soit par la surexpression de *Sir2-1*, est aboli, dans les deux cas, par la mutation du gène *Daf16*.

On peut donc conclure que Daf-16 se trouve en aval de *Sir2-1* pour l'effet sur la longévité, et Tissenbaum et Guarente proposent un modèle dans lequel *Sir2-1* fait partie intégrante de la voie Daf-2, soit en tant que régulateur, soit en tant qu'effecteur. Notons que d'autres expériences seront nécessaires pour valider cette hypothèse. Il faudra notamment déterminer la durée de vie d'un mutant dépourvu de *Sir2-1*, et d'étudier l'effet d'une mutation de *Daf-2* dans ce fonds génétique.

## Perspectives

Il est remarquable que *Sir2* contrôle la longévité d'organismes aussi distincts que la levure et le nématode. Dans le premier cas, *Sir2* freine l'apparition de cercles d'ADNr, qui sont toxiques pour la cellule. Dans l'autre, *Sir2* inhibe l'activité de la voie Daf-2 qui, elle-même, diminue la longévité des vers. Cependant, ni l'un ni l'autre de ces mécanismes ne semble être directement transposable aux

mammifères. En effet, si des cercles d'ADNr ont bien été détectés chez les mammifères, leur abondance ne semble pas corrélée à l'âge [13]. De même, bien qu'un équivalent de la voie Daf-2 existe chez les mammifères, il ne contrôle pas le vieillissement, mais l'apoptose [20]. Ces expériences laissent toutefois imaginer que *Sir2* puisse être un régulateur « universel » du vieillissement, dont les cibles seraient différentes d'un organisme à l'autre. Il faudra attendre que des expériences de transgénèse et d'inactivation des différents homologues de *Sir2* soient réalisées chez la souris pour voir si tel est effectivement le cas chez les mammifères.

Enfin, une étude plus approfondie du mécanisme par lequel *Sir2* assure sa fonction de désacétylase permettra sans doute de développer des agonistes et des antagonistes de cette enzyme. Il sera fascinant d'étudier l'effet de ces composés sur le vieillissement des organismes ■

## Remerciements

Je remercie Guillaume Adelmant et Allison Bardin pour leur aide, l'arbitre qui a relu cette revue pour ses suggestions, et Éric Gilson pour son soutien.

## RÉFÉRENCES

- Luger K, Richmond TJ. The histone tails of the nucleosome. *Curr Opin Genet Dev* 1998; 8: 140-6.
- Strahl BD, Allis CD. The language of covalent histone modifications. *Nature* 2000; 403: 41-5.
- Chen H, Tini M, Evans RM. HATs on and beyond chromatin. *Curr Opin Cell Biol* 2001; 13: 218-24.
- Khochbin S, Verdel A, Lemerrier C, Seigneurin-Berny D. Functional significance of histone desacetylase diversity. *Curr Opin Genet Dev* 2000; 11: 162-6.
- Moazed D. Enzymatic activities of *Sir2* and chromatin silencing. *Curr Opin Cell Biol* 2001; 13: 232-8.
- Imai S, Armstrong CM, Kaeberlein M, Guarente L. Transcriptional silencing and longevity protein *Sir2* is an NAD-dependent histone desacetylase. *Nature* 2000; 403: 795-800.
- Landry J, Sutton A, Tafrov ST, et al. The silencing protein *Sir2* and its homologs are NAD-dependent protein deacetylases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 5807-11.

8. Smith JS, Brachmann CB, Celic I, et al. A phylogenetically conserved NAD<sup>+</sup>-dependent protein desacetylase activity in the *Sir2* protein family. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 6658-63.

9. Defossez PA, Lin S, McNabb DS. Sound silencing: the *Sir2* protein and cellular senescence. *Bioessays* 2001; 23: 327-32.

10. Perrod S, Cockell MM, Laroche T, et al. A cytosolic NAD-dependent desacetylase, *Hst2p*, can modulate nucleolar and telomeric silencing in yeast. *EMBO J* 2001; 20: 197-209.

11. Grozinger CM, Shreiber SL. Regulation of histone desacetylase 4 and 5 transcriptional activity by 14-3-3-dependent cellular localization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 7835-40.

12. McKinsey TA, Zhang CL, Lu J, Olson EN. Signal-dependent nuclear export of a histone desacetylase regulates muscle differentiation. *Nature* 2000; 408: 106-11.

13. Johnson FB, Sinclair DA, Guarente L. Molecular biology of aging. *Cell* 1999; 96: 291-302.

14. Sinclair DA, Guarente L. Extrachromosomal rDNA circles: a cause of aging in yeast. *Cell* 1997; 91: 1033-42.

15. Defossez PA, Rusty R, Kaeberlein M, et al. Elimination of replication block protein Fob1 extends the life span of yeast mother cells. *Mol Cell* 1999; 3: 447-55.

16. Lin S-J, Defossez PA, Guarente L. Requirement of NAD and *SIR2* for life-span extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science* 2000; 289: 2126-8.

17. Guarente L, Kenyon C. Genetic pathways that regulate aging in model organisms. *Nature* 2000; 408: 255-62.

18. Kaeberlein M, McVey M, Guarente L. The *SIR2/3/4* complex and *SIR2* alone promote longevity in *Saccharomyces cerevisiae* by two different mechanisms. *Genes Dev* 1999; 13: 2570-80.

19. Tissenbaum HA, Guarente L. Increased dosage of a *sir-2* gene extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2001; 410: 227-30.

20. Brunet A, Bonni A, Zigmond MJ, et al. Akt promotes cell survival by phosphorylating and inhibiting a Forkhead transcription factor. *Cell* 1999; 96: 857-68.

## Pierre-Antoine Defossez

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

pierre-antoine.defossez@ens-lyon.fr

## TIRÉS À PART

P.A. Defossez.