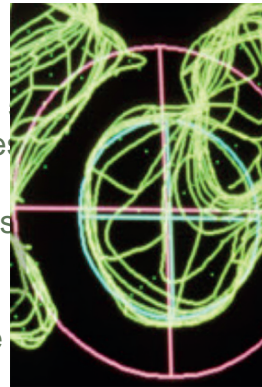


# Cibler les cellules sénescentes

## Une révolution dans le traitement des pathologies ostéo-articulaires

Yassin Tachikar, Olivier Malaise, Michaël Constantinides, Christian Jorgensen, Jean-Marc Brondello

>Avec le vieillissement des populations, nos sociétés doivent faire face à l'émergence d'un nombre exponentiel de patients atteints de maladies chroniques dégénératives liées à l'âge, telles que l'arthrose ou l'ostéoporose. Le « mieux » vieillir sera ainsi au centre des prochains défis médicaux par un maintien de l'autonomie des sujets âgés et une réduction des coûts des services de santé. Au cours des dernières années, en se fondant sur des modèles murins innovants ou des études in vitro, de nombreuses équipes ont démontré que plusieurs pathologies dégénératives liées à l'âge avaient en commun une accumulation délétère de cellules dites sénescentes. Sous le concept de sénolyse, il a ainsi été proposé d'éliminer pharmacologiquement ces cellules afin de retarder l'émergence de ces pathologies chroniques chez le sujet âgé. Nous nous proposons ici de faire le point sur les stratégies récemment mises en place, permettant l'identification de composés sénolytiques, ainsi que de définir leurs utilisations thérapeutiques comme traitement de l'arthrose et de l'ostéoporose.



<sup>1</sup>IRMB (institut de médecine régénératrice et de biothérapie de Montpellier), Inserm U1183, Univ Montpellier, 80, avenue Augustin Fliche, 34298 Montpellier, France.

<sup>2</sup>GIGA Research (grappe interdisciplinaire de génoprotéomique appliquée), CHU de Liège et Université de Liège, Liège, Belgique.

<sup>3</sup>Service de rhumatologie, CHU La Peyronie, 34090 Montpellier, France.

à des changements de morphologie cellulaire, qui devient ainsi hypertrophique, à des adaptations métaboliques, à des modifications épigénétiques, et à une signature génomique particulière. Plusieurs inhibiteurs du cycle cellulaire comme les protéines p16 ou p21, contrôlant l'activité des kinases dépendantes des cyclines, participent à l'arrêt total de la prolifération. Le programme de sénescence va ainsi induire de changements dans les fonctions de la cellule touchée tout en permettant à l'établissement d'un phénotype sécrétoire spécifique appelé SASP pour « phénotype sécrétoire associé à la sénescence », influence alors l'homéostasie du tissu environnant par la production de métallo-protéinases et de facteurs inflammatoires et/ou de croissance [4]. Plusieurs sous-types de sénescence cellulaire semblent exister, selon la cellule concernée ou les modes d'induction [5, 6]. La sénescence peut ainsi être considérée comme un syndrome cellulaire plutôt qu'un phénotype unique transposable à toutes les cellules dites sénescentes. Néanmoins, des marqueurs communs à ces cellules sénescentes ont été trouvés tels que l'expression de la beta-galactosidase acide [7]. Des inhibiteurs du cycle cellulaire, ont permis de révéler in vivo la présence de ces cellules dans de nombreux tissus et cela tout le long de la vie mais aussi en réponse à des stimulus extrinsèques de type stress oxydatif [5]. Ainsi, au cours de l'établissement du placenta inappropriés tels que les radicaux libres, l'exposition transitoire, la sénescence favorise l'implantation de l'embryon. Elle joue également un rôle dans la formation de facteurs trophiques [2]. La sénescence est associée

### Le concept de sénescence cellulaire : une vieille histoire à la mode

Décrite et conceptualisée par Hayflick et Moorhead dans les années 1960, la sénescence cellulaire est résumée en un syndrome cellulaire caractérisé par une sortie robuste du cycle cellulaire associé à un sécrétome particulier [1]. Elle peut être induite par des signaux intrinsèques, comme l'érosion des télomères, mais aussi en réponse à des stimulus extrinsèques inappropriés tels que les radicaux libres, l'exposition chronique à des cytokines inflammatoires ou la présence de facteurs trophiques [2]. La sénescence est associée

Vignette (Photo © Inserm - Marie-Christine Hobatho).

<sup>1</sup> p16<sup>INK4a</sup> correspond à la protéine p16 également appelée INK4a (cyclin-dependent kinase 4 inhibitor A). De même, p21 correspond à la protéine également nommée p21<sup>WAF1</sup> (153-activated fragment 1).

membres au cours de l'embryogenèse ailleurs, tout au long de la vie, la sénescence a une fonction suppressive de tumeurs essentielle en bloquant la prolifération de cellules pré-néoplasiques, avant qu'elles n'acquiescent une instabilité génétique (→). Elle peut également intervenir comme mécanisme de régulation de la réponse immunitaire et participe à la régulation terminale de certains sous-types cellulaires rares. Enfin, elle favorise la réparation tissulaire comme la cicatrisation, chez les mammifères et la régénération chez la salamandre.

## Accumulation de cellules sénescents au cours du vieillissement

À côté de ces nombreux rôles positifs, il a été observé chez de nombreuses espèces, que les cellules sénescents s'accumulent dans des tissus mitotiques ou post-mitotiques. Cette accumulation pourrait être le résultat des signaux intrinsèques ou extrinsèques itératifs qui agissent en continu sur l'homéostasie des tissus au long de la vie. On retrouve ainsi une présence chronique de cellules sénescents dans les tissus cartilagineux, osseux ou musculaires du sujet âgé, en lien avec l'émergence de pathologies dégénératives telles que, respectivement, l'arthrose, l'ostéoporose ou la sarcopénie [13]. En dehors du système musculo-squelettique, l'accumulation de cellules sénescents dans le tissu adipeux, l'intima artérielle ou le poumon, a été reliée à, respectivement, l'athérosclérose, ou des insuffisances respiratoires [10-14]. En outre, cette accumulation de cellules sénescents pourrait participer à l'émergence de ces différentes pathologies du sujet âgé en diminuant les capacités de renouvellement et de réparation des organes ciblés, tout en créant un environnement catabolique et pro-inflammatoire par l'intermédiaire du SASP. Bien que attractif, il restait néanmoins nécessaire de démontrer un véritable lien causal entre l'accumulation de cellules sénescents et une perte de fonction des tissus, puis des organes chez le sujet âgé. Cette démonstration a été rendue possible grâce à l'utilisation de animaux transgéniques pour des biosenseurs spécifiques de la sénescence. Un premier modèle murin appelé p16-3MR et INK-ATTAC, ont pu être conçus, sous le contrôle du promoteur du gène codant p16, pour exprimer le gène rapporteur de la luciférase fusionné à une thymidine kinase du virus herpès simplex 1. En présence de ganciclovir, un antiviral ciblant les herpès virus, les cellules exprimant cette thymidine kinase meurent rapidement. Le second modèle, appelé INK-4a-linked apoptosis through targeted activation of caspase 8 (INK4a-C8), consiste en l'expression sous le contrôle du promoteur du gène codant p16 de la luciférase et du gène « suicide » de la caspase 8, activable après addition de AP20187. Ces deux modèles permettent à la fois la détection des cellules sénescents dans l'animal anesthésié sous caméra CCD et la présence de luciférase, et la

élimination sélective par modulation pharmacologique. La première démonstration d'un effet bénéfique de cette élimination spécifique des cellules sénescents, dite sénolyse, a été réalisée sur le modèle murin de vieillissement prématuré (BubR1) dont les souris expriment une forme hypomorphique de BubR1. Les souris développent, entre autres, cataracte, stropénie, arythmies cardiaques, et ont une espérance de vie très courte [15]. Néanmoins, un croisement de ces animaux avec les souris du modèle INK-ATTAC a permis l'induction de la sénolyse des cellules sénescents par administration d'AP20187, entraînant un retard de l'apparition de ces pathologies et une augmentation de la longévité des souris [15].

## Lien causal entre sénescence cellulaire et pathologies ostéo-articulaires du sujet âgé

L'arthrose est la plus fréquente des maladies dégénératives cellulaires articulaires du sujet âgé. Plus d'un tiers de la population âgée de plus de 60 ans présente des signes radiographiques d'arthrose (Figure 1) [16]. Cette pathologie conduit à des incapacités de travail importantes, un isolement social et une dégradation de la qualité de vie du patient atteint. Plusieurs structures articulaires jouent un rôle dans l'étiologie de l'arthrose : le cartilage, mais également la membrane synoviale. Cette membrane, qui a une fonction mécanique, va acquérir un phénotype inflammatoire et hypertrophique, contribuant alors à la sévérité des symptômes, à la formation d'ostéophytes et à l'ostéolyse articulaire [17]. De même, le remodelage de la matrice extracellulaire chondrale, situé sous le cartilage articulaire, est également une conséquence, mais aussi un facteur actif de la maladie, générant des douleurs articulaires. Récemment, en utilisant les modèles murins p16-3MR et INK-ATTAC, on a pu établir un lien causal entre la pathologie de l'arthrose et la présence de cellules sénescents dans le tissu cartilagineux [18]. Dans un premier temps, une arthrose expérimentale induite a été réalisée sur des souris p16-3MR âgées de deux mois. Le ligament croisé antérieur d'un des deux genoux. L'injection intra-articulaire de luciférase a permis de visualiser la présence de cellules sénescents dans le tissu cartilagineux. L'administration de ganciclovir a permis de réduire la présence de cellules sénescents et de diminuer la sévérité de l'arthrose. Ces résultats démontrent un lien causal entre l'accumulation de cellules sénescents et l'arthrose.





Drogues	Cibles	Pathologies traitées	Réf.
Approche pharmacogénétique			
AP20187	Active la caspase 8 et la cascade conduisant à l'apoptose dans le modèle murin INK-ATTAC	Arthrose, ostéoporose, sarcopénie, cataracte, arythmie et insuffisance cardiaque, insuffisance rénale	[10, 11, 14, 15]
Ganciclovir	Inhibiteur de la tyrosine kinase du virus herpes simplex 1 dans le modèle murin P16-3MR	Arthrose, ostéoporose	[10, 11]
Levée de la résistance à l'apoptose			
Navitoclax	Protéines anti-apoptotiques Bcl-xl et Bcl-w	Arthrose, fibrose pulmonaire, athérosclérose	[10, 13, 32]
Dasatinib + Quercetin	D : pan-inhibiteur de tyrosine kinase, inhibiteur de la voie de signalisation des éphrines Q : inhibiteur des serpinés	Ostéoporose	[11]
Peptide FOXO4-DRI	Entraîne l'apoptose en empêchant l'interaction entre FOXO4 et p53	Insuffisance rénale	[28]
Modification du profil métabolique			
2-déoxyglucose	Inhibiteur de la glycolyse	Lymphome	[34]
Inhibition du SASP			
Ruxolitinib	Inhibiteur des janus kinases 1 et 2	Ostéoporose	[11]

**Tableau 1.** Liste des approches sénolytiques appliquées aux pathologies ostéo-articulaires du sujet âgé.

symptomatiques et la physiothérapie (dont la kinésithérapie) restent les principales alternatives avant le remplacement de l'articulation physisée par une prothèse lorsque cela est possible. Une réelle et efficace approche thérapeutique est donc très attendue par le monde médical en matière d'arthrose. Tout d'abord, le navitoclax est déjà utilisé comme traitement de divers cancers, dans des essais de phase I/II. Ces essais cliniques ont fait apparaître des effets secondaires importants, comme une toxicité hépatique [36]. Le choix d'injecter ce sénolytique intra-articulaire était détectable. Ce traitement a significativement réduit l'exposition systémique de cellules sénescentes articulaires, la dégradation du cartilage fait, ses potentiels effets secondaires. Pour traduire ces résultats expérimentaux aux patients, les auteurs ont réalisé, en parallèle, des essais chez des souris âgées souffrant d'arthrose spontanée. Dans ce cas, l'injection intra-articulaire de navitoclax seul n'a présenté aucun effet sur la production de collagène de type II et d'aggrecane. Pour traduire ces résultats de modélisation du cartilage et n'a pas amélioré l'expression des gènes chondrogéniques, à la différence de ce qui a été observé avec des souris jeunes. En revanche, sur des explants de cartilage réduits in vitro, le navitoclax a augmenté l'expression des gènes liés à la sénescence tout en augmentant le taux de prolifération des chondrocytes d'une semaine chaque mois, à partir de cellules non sénescentes. En éliminant les cellules sénescentes, le navitoclax a prolongé la durée de vie jusqu'à leur mort naturelle, mais n'a pas restauré l'environnement pro-chondrogénique. Ces résultats confirment que cibler la sénescence était une voie prometteuse chez les patients âgés. Les auteurs ajoutent une nouvelle catégorie de médicaments dans l'arsenal thérapeutique de tous les médecins impliqués dans la prise en charge de l'arthrose.

<sup>10</sup> Diminution du nombre de plaquettes sanguines.

L'injection intra-articulaire chez les patients arthrosiques ne présente pas de risques secondaires possibles probablement pas suffisante et un traitement systémique ne peut être adapté aux traitements de pathologies bien envisagé. Le rapport bénéfice/risque de l'administration systémique d'AgeMed, l'un des deux premiers programmes de thérapies anticancéreuses pour retarder l'apparition de maladies dégénératives nationales regroupant 13 équipes de l'Inserm, nécessite ainsi d'être soigneusement étudié et accepté par le patient. L'arthrose n'est pas la seule pathologie rhumatologique dégénérative à proposer des cibles pour de futurs sénolytiques en à pouvoir espérer bénéficier des traitements sénolytiques soit par différents types cellulaires dont la sénescence porose compte également parmi ces pathologies. Les médicaments ciblés pourraient être inhibiteurs de la résorption osseuse, comme les bisphosphonates utilisés chez des sujets âgés, sous la forme de cures relatives à la réputation auprès des patients ostéoporotiques, entraînant une dégradation de l'articulation malade, laissant alors la possibilité d'adhérence thérapeutique. Il y a donc une vraie nécessité médicale de cibler les cellules sénescents, ailleurs dans l'organisme, pour exprimer leurs propriétés bénéfiques.

Après les résultats prometteurs de l'approche pharmacogénétique consistant en l'élimination des ostéoclastes dans les souris transgéniques INK-ATTAC, la combinaison du dasatinib et la quercétine a été testée. L'administration intermittente de ces deux principes actifs (1 gavage, 1 fois par semaine pendant 4 mois) à des souris ostéoporotiques de 20 mois, montre une diminution des ostéocytes sénescents, une réduction de l'expression de la protéine p16 mais aussi et surtout une amélioration significative de l'architecture osseuse trabéculaire et l'augmentation de la densité osseuse. Précisé plus haut, ces mêmes souris âgées, traitées cette fois-ci chroniquement pendant 2 mois avec le ruxolitinib, un inhibiteur des kinases JAK1 et JAK2, à l'origine du SASP, montrent une amélioration tout à fait similaire des paramètres osseux trabéculaires et corticaux tout en réduisant le nombre d'ostéoclastes. C'est donc par la sécrétion du SASP que les cellules sénescents exercent leurs effets délétères sur les os en favorisant l'émergence d'ostéoclastes.

Bien que toutes ces approches sénolytiques, développées chez la souris, ne ciblent pas spécifiquement les ostéocytes sénescents mais l'intégrité des cellules sénescents des animaux traités, cibler par sénolytiques ces cellules chez une souris âgée souffrant d'ostéoporose, permet de réduire les signes cliniques de la maladie, ouvrant des pistes thérapeutiques innovantes.

## Une révolution médicale en marche pour la prise en charge des sujets âgés

Les évidences s'accumulent pour établir un lien physiopathologique entre présence de sénescence cellulaire et apparition des pathologies liées à l'âge, en particulier ostéo-articulaires. Les sénotherapies constituent une révolution médicale dans la prise en charge des sujets âgés, en offrant des solutions thérapeutiques nouvelles, en particulier pour soigner l'arthrose et l'ostéoporose. Néanmoins, la sénescence cellulaire est un processus physiologique qui est bénéfique à l'organisme par son implication dans la cicatrisation et la suppression tumorale. Nous manquons ainsi de recul sur les effets à long terme et l'innocuité de ces traitements sénolytiques sur la santé humaine. De nombreux travaux sont encore nécessaires, il est notamment essentiel de déterminer les signatures omiques caractéristiques des cellules sénescents de différents tissus et en réponse à différents types de signaux inducteurs. Cela permettra de définir les sénolytiques

### REMERCIEMENTS

Nos remerciements à Giuseppe Fusi pour sa relecture et correction du manuscrit.

Une dotation Inserm-projet transversal a été attribuée à l'équipe de C. Jorgensen dans le cadre du projet AgeMed.

### CONFLIT D'INTÉRÊT

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

### RÉFÉRENCES

1. Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *J Cell Physiol* ; 25 : 585-621.
2. Hol S, Sharpless NE. Senescence in health and disease. *Nat Rev Clin Oncol* ; 1000-1111.
3. Childs BC, Glusac M, Baker DJ. Senescent cells: an emerging target for cancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol* ; 16 : 718-35.
4. Coppe JP, Patil CK, Rodier SE, et al. Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor. *Cancer Res* ; 70 : 3081-92.

