

Inhiber HDAC5 : un outil pour couper court à l'immortalité des cellules cancéreuses

Catherine Polese, Denis Mottet

Laboratoire de recherche sur les métastases, groupe HDAC, Université de Liège, Institut de pathologie B23, B-4000 Liège (Sart-Tilman), Belgique.

Adresse actuelle : Signalisation et interaction des protéines, GIGA-R (B34), avenue de l'Hôpital, 1, B-4000 Liège, Belgique.

dmottet@ulg.ac.be

Les télomères

Chez l'homme, les télomères sont des séquences répétées d'ADN (5'-TTAGGG-3') présentes à l'extrémité des chromosomes. Ces télomères sont couverts d'un complexe de protéines (*shelterin complex*) qui assure une protection des terminaisons chromosomiques et évite que l'extrémité du chromosome ne soit considérée comme une rupture du double brin d'ADN ; ceci pourrait en effet conduire à des soudures de chromosomes par fusion de leurs télomères respectifs et une perte de l'intégrité du matériel génétique [1] (Figure 1a).

À chaque duplication d'un chromosome lors de la division cellulaire, l'ADN polymérase est incapable de recopier complètement l'extrémité des télomères. Ces télomères raccourcissent donc progressivement et, lorsque leur taille devient critique, la cellule stoppe irréversiblement sa croissance. On dit que la cellule entre en sénescence : elle « vieillit ». Les télomères constituent donc des « horloges biologiques » [2]. Pour proliférer indéfiniment et déjouer la barrière imposée par le raccourcissement des télomères, la plupart des cellules cancéreuses expriment une enzyme, baptisée télomérase, dont l'activité permet de recopier les extrémités télomériques, permettant ainsi de maintenir la longueur des télomères constante au cours des divisions cellulaires [2, 11, 12].

Régulation de la chromatine télomérique : rôle des histones déacétylases ?

Le maintien de la longueur des télomères n'est pas simplement assuré par

l'activité de la télomérase, il dépend également de l'état de compaction de la chromatine. La chromatine est constituée d'acide désoxyribonucléique (ADN) et d'un octamère de 4 protéines appelées les histones (H2A, H2B, H3 et H4). Les histones H3 et H4 présentes au niveau de la chromatine télomérique présentent un faible niveau d'acétylation [3].

L'état d'acétylation des histones dépend de deux groupes d'enzymes aux activités opposées : les histone acétyltransférases (HAT) et les histone déacétylases (HDAC), qui ajoutent et enlèvent respectivement un groupement acétyle sur les lysines conservées des histones ; l'absence de ce groupement favorise la condensation de la chromatine (Figure 1b). Le statut hypoacétylé de la chromatine télomérique renforce donc l'intérêt de mieux comprendre le rôle des HDAC dans le maintien des télomères.

À ce jour, 18 HDAC humaines ont été identifiées. Elles sont répertoriées en quatre classes (classe I : HDAC1, 2, 3 et 8 ; classe II subdivisée en classe IIa : HDAC4, 5, 7 et 9 et classe IIb : HDAC6 et 10 ; classe III : sirtuines (SIRT) 1-7 ; classe IV : HDAC11) [4] (Figure 1c).

Une inhibition spécifique des HDAC de classe III telles que SIRT1 et SIRT6 a permis de mettre en évidence un rôle de ces enzymes dans la régulation des télomères. Par exemple, SIRT6 assure la déacétylation de l'histone H3 sur les lysines 9 et 56, et sa présence est essentielle au maintien de l'intégrité télomérique [5-7] (Figure 1d).

L'utilisation de molécules pharmacologiques capables d'inhiber de manière

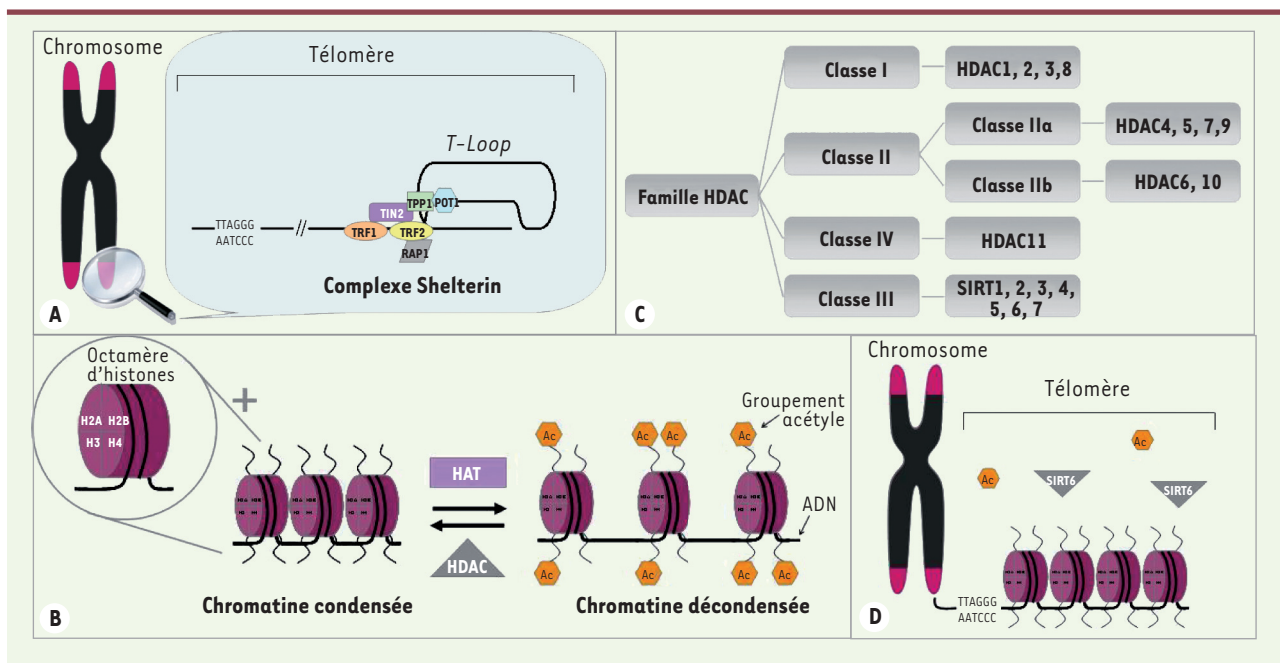
non sélective les HDAC de classe I, II et IV sans affecter la classe III a permis de démontrer que de telles molécules inhibent l'activité de la télomérase et induisent la mort cellulaire par apoptose des cellules cancéreuses [8]. Néanmoins, peu d'études démontrent l'impact de ces inhibiteurs sur la structure des télomères. D'autre part, le rôle précis des différents membres des HDAC dans la biologie des télomères reste à ce jour peu exploré.

HDAC5, un acteur clé dans la maintenance des longs télomères

Nos travaux antérieurs ont démontré l'importance d'HDAC5 dans le maintien de la structure de l'hétérochromatine, une zone de chromatine hypercondensée [9]. Étant donné que les télomères sont des zones d'hétérochromatine, nos recherches se sont alors intéressées au rôle d'HDAC5 dans la biologie des télomères.

Par des expériences d'immunofluorescence-FISH (*fluorescent in situ hybridization*), la localisation télomérique d'HDAC5 a été évaluée dans différents types cellulaires dont les télomères étaient soit assez courts (HT1080, une lignée de fibrosarcome et HUVEC, *human umbilical vein endothelial cells*), soit plus longs (U2OS, une lignée d'ostéosarcome et HT1080-ST, *super telomerase*, en raison d'une activité télomérase élevée). Les résultats ont démontré qu'HDAC5 colocalise préférentiellement avec les régions télomériques relativement longues (Figure 2a).

Par conséquent, une inhibition sélective de l'expression d'HDAC5 par siRNA



a permis d'observer un raccourcissement significatif des télomères des cellules cancéreuses aux télomères longs, démontrant un rôle prépondérant d'HDAC5 dans le maintien de la taille des télomères (Figure 2B).

Les mécanismes de raccourcissement des télomères peuvent s'accompagner d'une accumulation de télomères circulaires extrachromosomiques. Une technique de séparation des séquences télomériques basée sur leurs tailles et leurs conformations (double ou simple brin, linéaire ou circulaire) a permis de démontrer la présence de structures télomériques simple brin dans

les cellules HT1080-ST et ce, uniquement lorsque la quantité d'HDAC5 est réduite. Au regard de nos récents travaux démontrant l'importance d'HDAC5 dans la progression de la fourche de réplication [9], ces séquences télomériques simple brin pourraient résulter de structures intermédiaires non résolues, formées durant une réplication non adéquate des longs télomères due à l'absence d'HDAC5.

Perspectives thérapeutiques

Fort de nos constatations que l'inhibition d'HDAC5 induit un raccourcissement télomérique et au regard des

données de la littérature indiquant que le raccourcissement des télomères peut augmenter la sensibilité des cellules cancéreuses à certains agents cytotoxiques [10], nos expérimentations ont finalement consisté à explorer l'effet d'un traitement combinant la déplétion d'HDAC5 et une molécule chimiothérapeutique, la doxorubicine, sur la mort de cellules cancéreuses à longs télomères. Alors que la doxorubicine seule n'entraîne qu'une très faible induction de la mort cellulaire par apoptose dans les cellules HT1080-ST, ce même traitement chimiothérapeutique induit plus massivement la mort des cellules

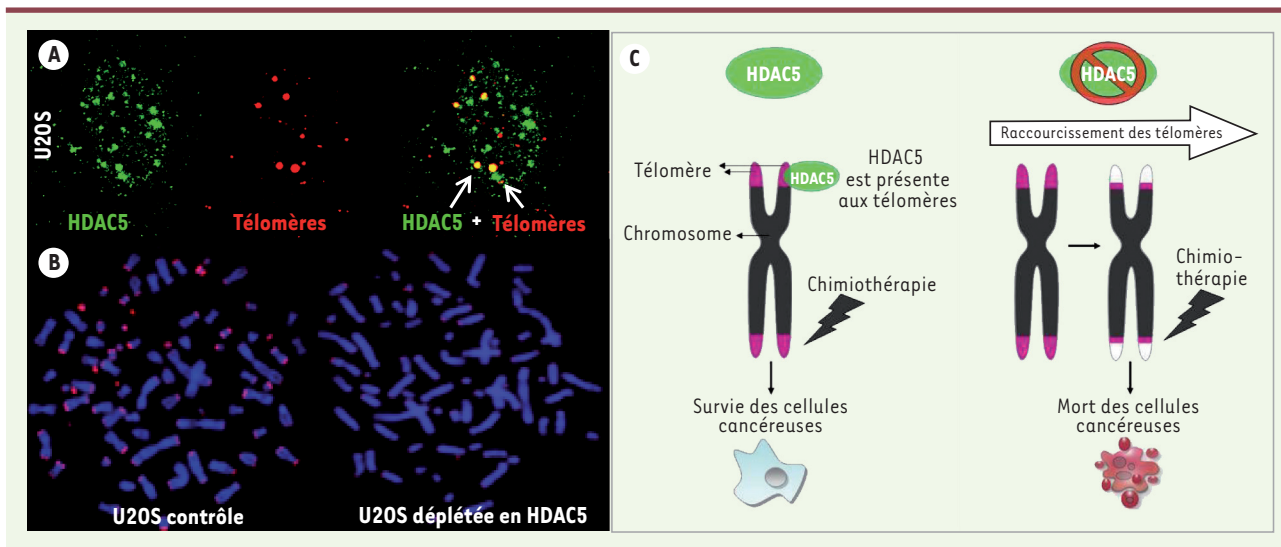


Figure 2. Colocalisation d'HDAC5 et des télomères et effet sur le maintien de la longueur télomérique. **A.** Immunofluorescence-FISH montrant la colocalisation d'HDAC5 (vert) et des télomères (rouge) dans des cellules cancéreuses de type U2OS caractérisées notamment par de longs télomères. **B.** Ensemble des chromosomes d'une cellule cancéreuse de type U2OS. Le chromosome est marqué en bleu et les télomères en rouge. L'intensité du signal rouge est proportionnelle à la longueur du télomère. L'intensité des signaux rouges est plus faible dans des cellules U2OS déplétées en HDAC5, suggérant donc que les télomères sont raccourcis lorsque HDAC5 est absente. **C.** Sensibilisation des cellules cancéreuses présentant de longs télomères aux effets des agents chimiothérapeutiques lorsque HDAC5 est absente. L'inhibition de l'expression d'HDAC5 par l'utilisation de siRNA (*small interfering RNA*) diminue la longueur des télomères dans les cellules cancéreuses à longs télomères et rend celles-ci plus sensibles aux traitements chimiothérapeutiques, permettant ainsi de proposer de nouvelles stratégies combinatoires prometteuses dans l'arsenal thérapeutique des cancers.

HT1080-ST lorsque celles-ci sont préablement transfectées avec des siRNA dirigés contre HDAC5 (Figure 2C).

En conclusion, nos recherches ont permis de démontrer pour la première fois que HDAC5 joue un rôle important dans le maintien des longs télomères dans les cellules cancéreuses. De plus, nos résultats pourraient avoir un réel intérêt thérapeutique puisqu'invalider HDAC5 afin de raccourcir les télomères permet de sensibiliser les cellules cancéreuses dont les télomères sont longs à la chimiothérapie. ♦


HDAC5 inhibition: a tool to stop cancer cell immortality

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

- De Lange T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev* 2005 ; 19 : 2100-10.
- Neidle S. and Parkinson GN. The structure of telomeric DNA. *Curr Op Struct Biol* 2003 ; 13 : 275-83.
- Benetti R. Telomere length regulates the epigenetic status of mammalian telomeres and subtelomeres. *Nat Genet* 2007 ; 39 : 243-50.
- Tang J. Histone deacetylases as targets for treatment of multiple diseases. *Clin Sci* 2013 ; 124 : 651-62.
- Palacios JA. SIRT1 contributes to telomere maintenance and augments global homologous recombination. *J Cell Biol* 2010 ; 191 : 1299-313.
- Michishita E. SIRT6 is a histone H3 lysine 9 deacetylase that modulates telomeric chromatin. *Nature* 2008 ; 452 : 492-6.
- Michishita E. Cell cycle-dependent deacetylation of telomeric histone H3 lysine K56 by human SIRT6. *Cell Cycle* 2009 ; 8 : 2664-6.
- Woo HJ. Induction of apoptosis and inhibition of telomerase activity by trichostatin A, a histone deacetylase inhibitor, in human leukemic U937 cells. *Exp Mol Pathol* 2007 ; 82 : 77-84.
- Peixoto P. HDAC5 is required for maintenance of pericentric heterochromatin, and controls cell-cycle progression and survival of human cancer cells. *Cell Death Diff* 2012 ; 19 : 1239-52.
- Uziel O. Telomere shortening sensitizes cancer cells to selected cytotoxic agents: In vitro and in vivo studies and putative mechanisms. *PLoS One* 2010 ; 5 : 1-14.
- Arturo Londoño-Vallejo J. Un Nobel centenaire célèbre télomères et télomérase *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 973-6.
- Touzot F, Le Guen T, de Villartay JP, Révy P. Nouvelles formes de dyskératoses congénitales. *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 618-24.



Tarifs d'abonnement m/s - 2014

Abonnez-vous

à médecine/sciences

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement

page 813 dans ce numéro de m/s

