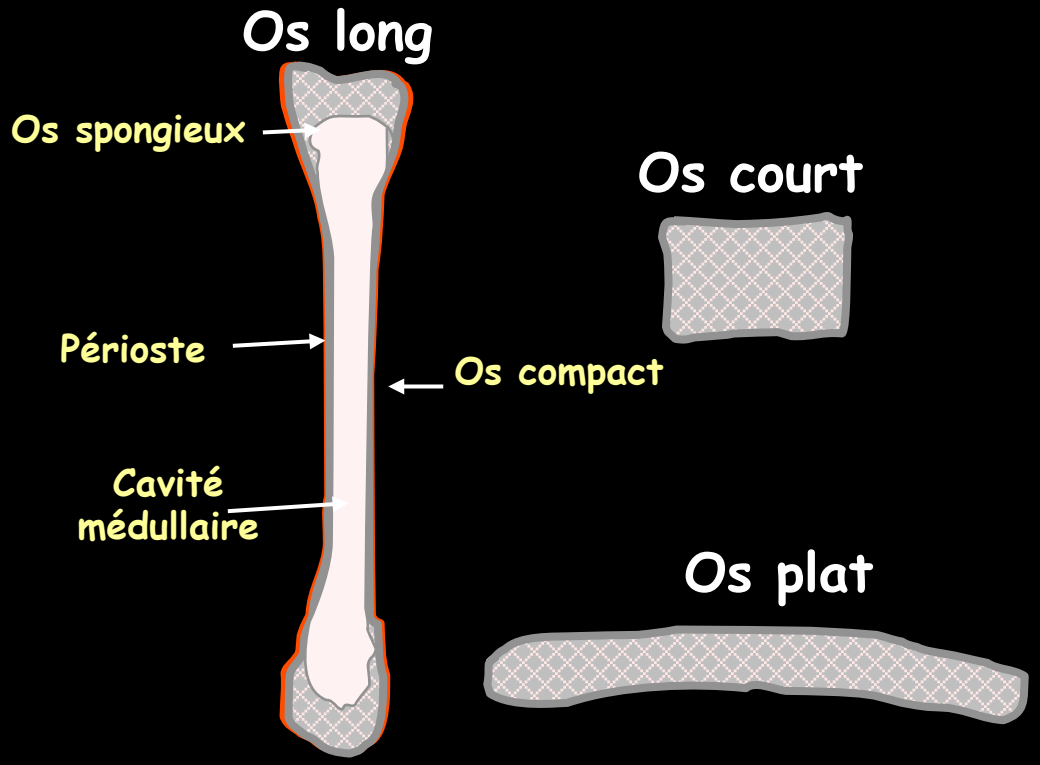
SIGNALISATION DANS LE TISSU OSSEUX : IMPLICATION DANS LE REMODELAGE DES OS

LE TISSU OSSEUX

Tissu conjonctif solide et calcifié assurant 3 fonctions essentielles dans l'organisme:

1) mécanique & protectrice (adaptation aux contraintes mécaniques)
2) métabolique (équilibre phosphocalcique)
3) hématopoiétique (support structural et fonctionnel aux cellules hématopoiétiques)

Répartition des différents types de tissus osseux (compact et spongieux) dans les trois variétés anatomiques d'os



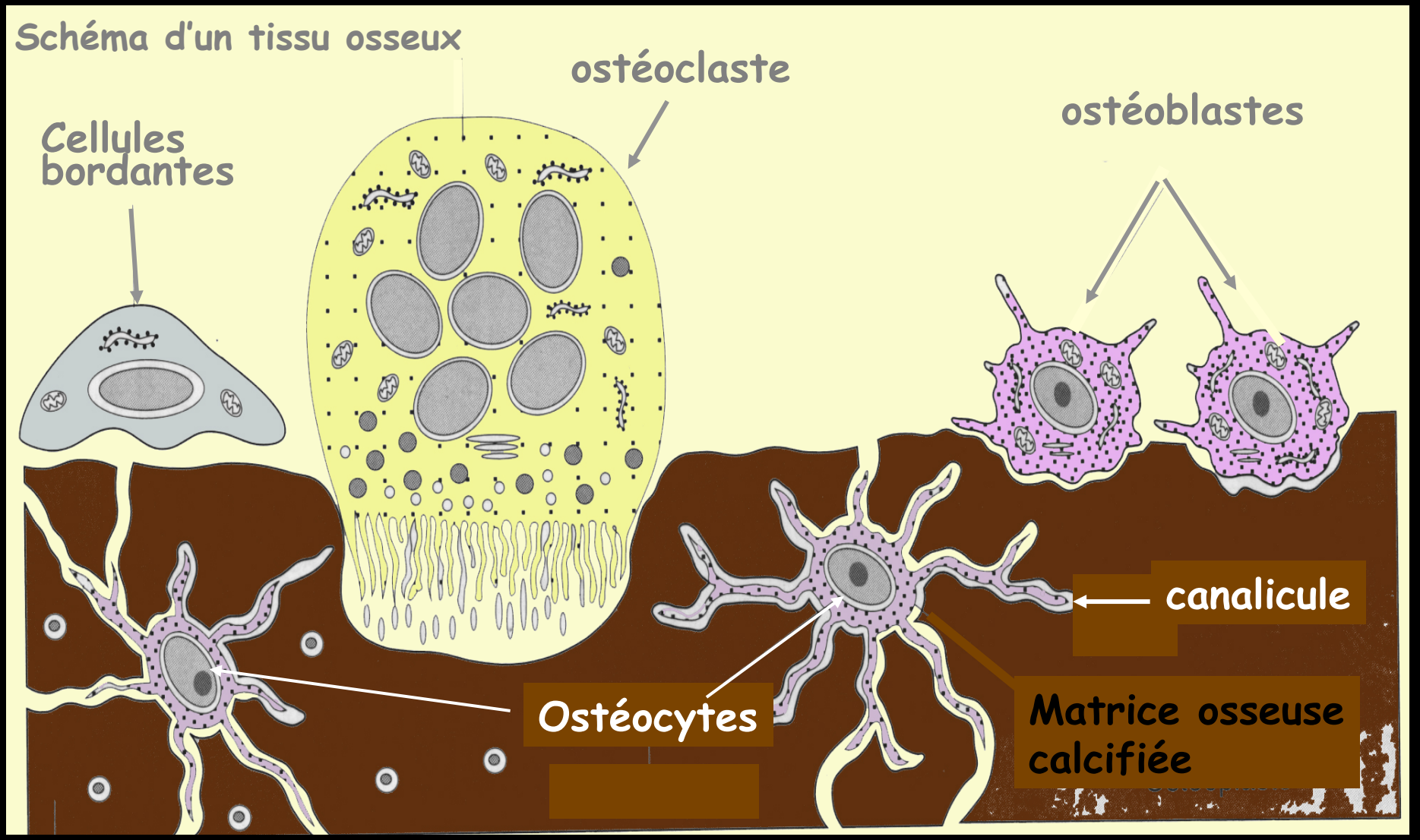
-Tissu osseux de l'adulte est lamellaire

-La plupart des os sont contitués d'une zone externe de tissu osseux compact et d'une zone interne de tissu spongieux

-Os compact résistant = 80-90% calcifié, activité cellulaire réduite (fonction mécanique et protectrice)

-Os spongieux = 15-25 % calcifié, activité cellulaire plus importante (fonction métabolique)

Les cellules du tissu osseux



Histologie Moléculaire, Poirier et al, 5ème édition, 1997, Masson

REMODELAGE OSSEUX

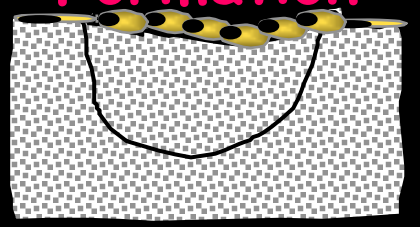
Propriété remarquable et caractéristique des os à se renouveler tout au long de la vie

Résorption

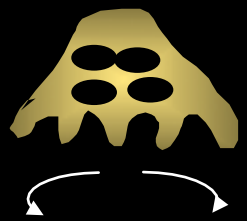


Equilibre

Formation



Ostéoclaste



Protéases + H^+

Ostéoblaste



Matrice osseuse organique

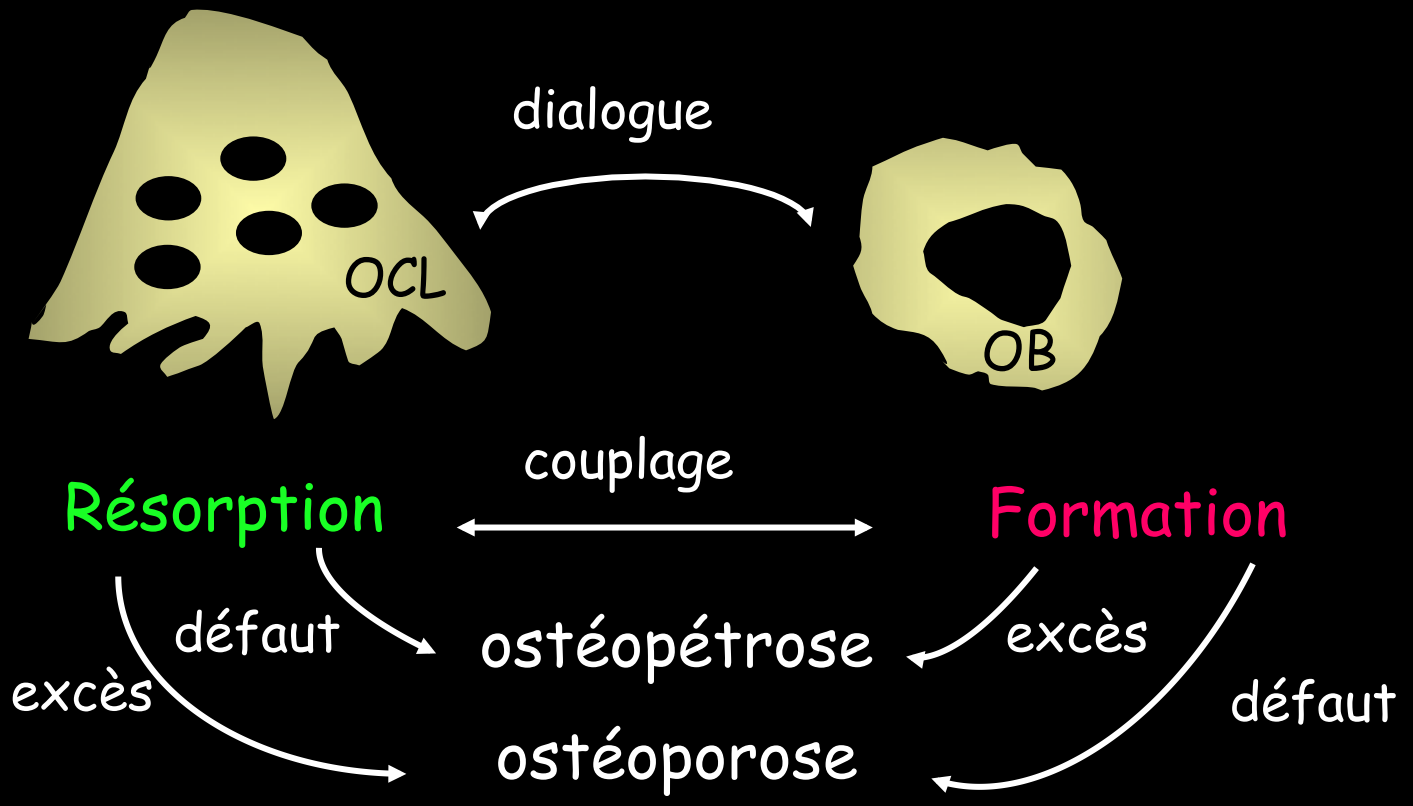
OC/OB: action coordonnée et séquentielle dans le temps et dans l'espace

Un cycle de remodelage = environ 4 mois chez l'adulte

Squelette adulte sain renouvelé totalement en 10 ans

REMODELAGE OSSEUX

Bases du concept : dialogue ostéoblaste/ostéoclaste et couplage de leurs activités



Quantité d'os ancien résorbé doit être compensé par un dépôt équivalent de nouvelle matrice

La matrice osseuse

matrice minérale : hydroxyapatite [$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$] et carbonate de calcium

+

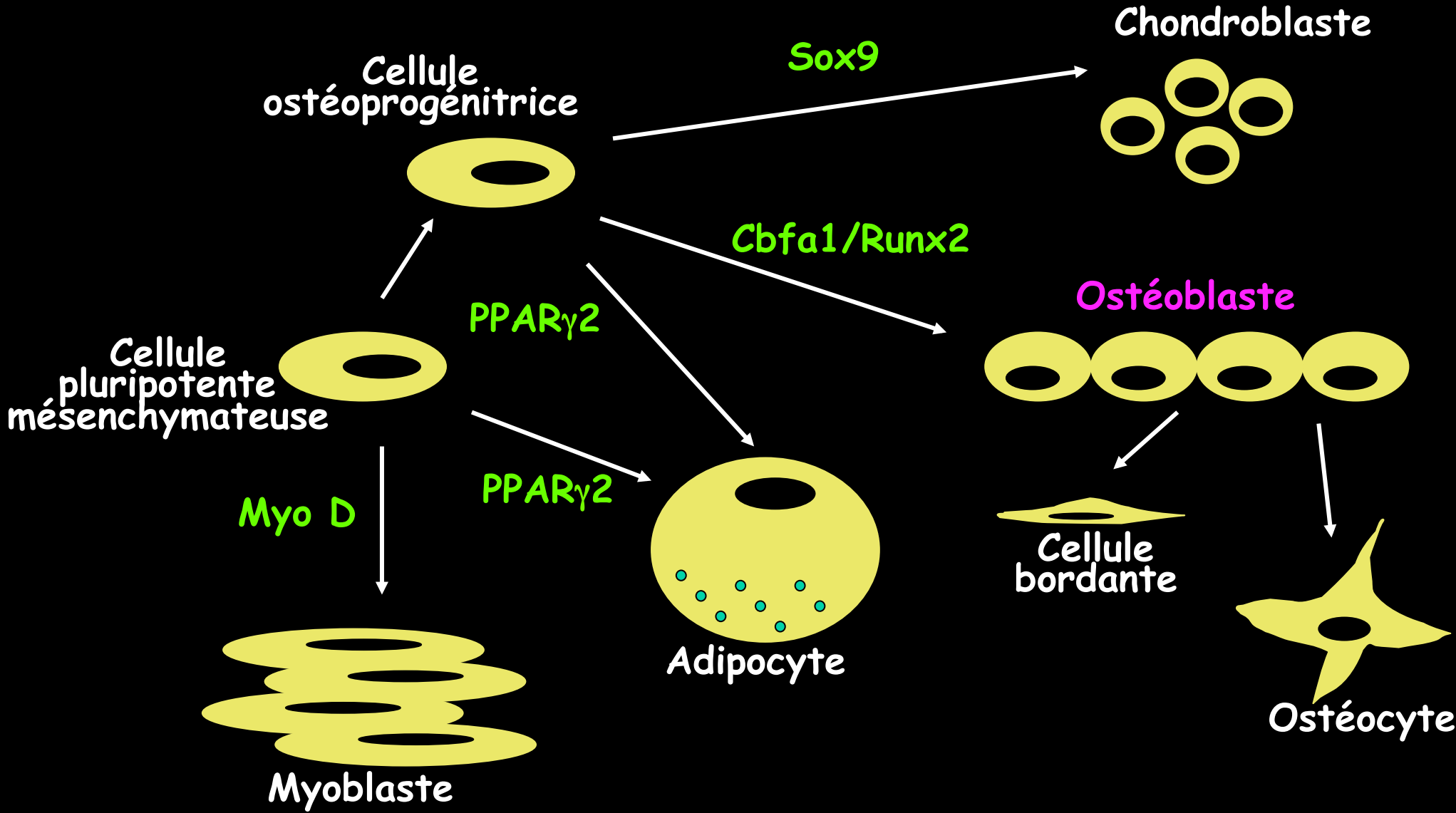
matrice organique:-85 % collagène (type I, traces types X, III, V) organisé en triple hélice α

-15 % protéines non-collagéniques (substance fondamentale)

Composition substance fondamentale

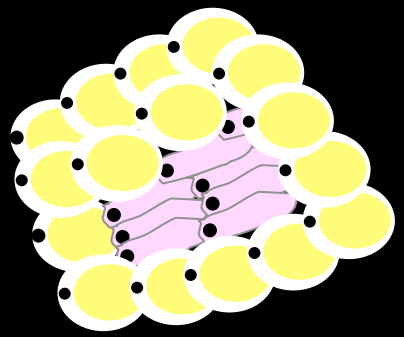
Protéines osseuses non-collagéniques	
Ostéocalcine	15-25 %
Protéine matricielle Gla	2%
Glycoprotéines :	
Phosphatase alcaline	9%
Thrombospondine, ostéonectine, fibronectine, vitronectine	
Tetranectine	15-25%
Sialoprotéines: Ostéopontine, bone sialoprotéine	10%
Protéoglycannes:	
versican, décorine, biglycan, fibromoduline, ostéoadhérine	4%
Facteurs de croissance: (IGFs, TGFsβ, PDGF)	- de 1%
Interleukines (IL-1, IL-6, IFNs-γ, TNFs)	- de 1%
Chimiokines (MCP-1)	- de 1%
Protéines plasmatiques	
Glycoprotéine α_2HS	5-10%
Albumine, immunoglobulines	3%
hormones	- de 1%

Les ostéoblastes proviennent de la différenciation de cellules souches mésenchymateuses pluripotentes

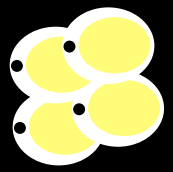


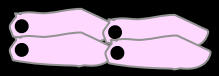
Présence de cellules souches multipotentes dans le tissu adipeux humain

tissu adipeux



fraction adipocytaire





fraction stromale
Population cellulaire hétérogène
ex vivo différenciation en :
ostéoblastes, chondroblastes, cellules endothéliales, myocytes et cardiomyocytes.

transplantation chez l'animal

Potentiel thérapeutique démontré :
-re-vascularisation de membre ischémié
-production de substance ostéoïde

clonage



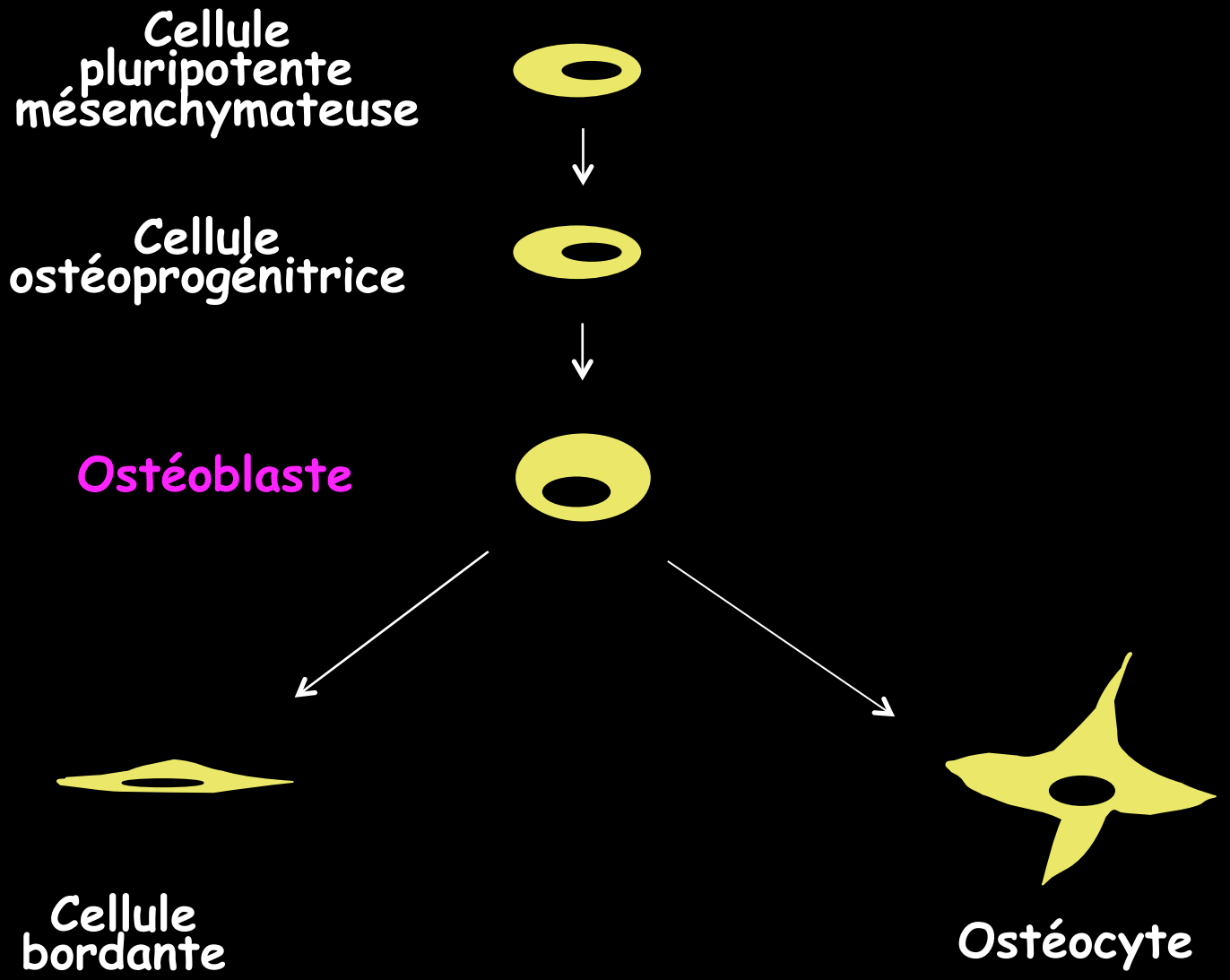
hMADS
human Multipotent Adipose-Derived Stem cell
cellule souche multipotente

transplantation chez l'animal

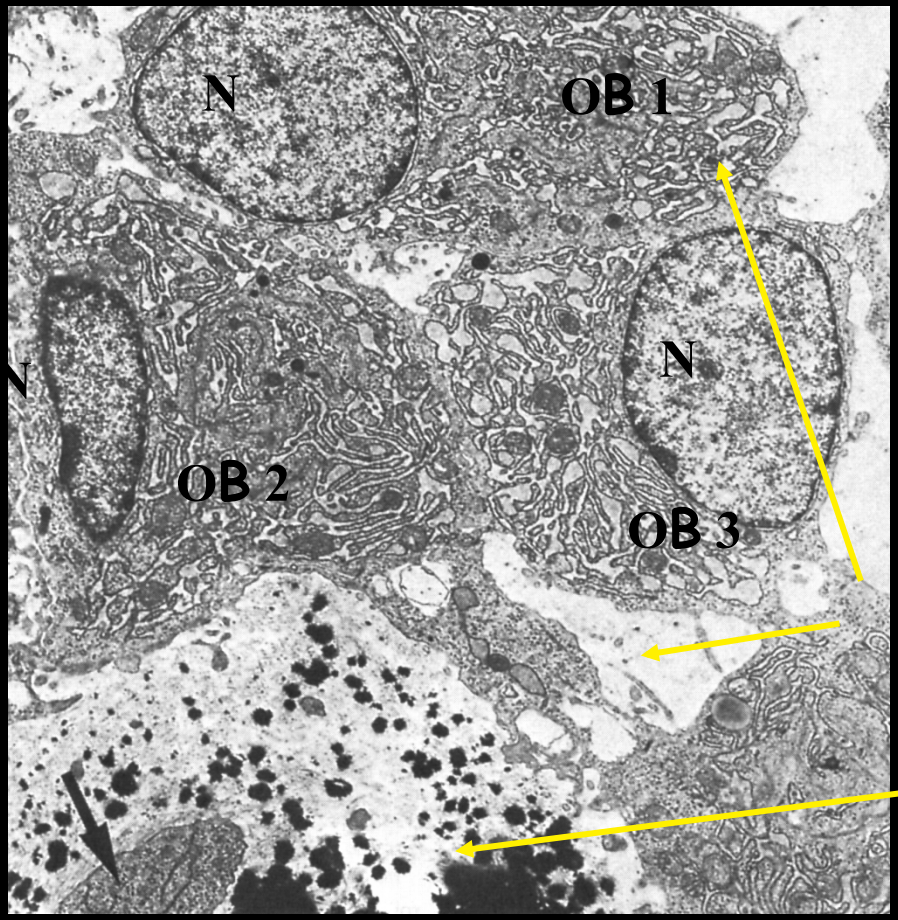
Ex: Régénération musculaire :
expression de dystrophine chez la souris mdx (modèle animal de la maladie de Duchenne)

Allotransplantation sans traitement immunosuppresseur ?
Application à d'autres pathologies (ostéoporose)

Origine commune des cellules ostéogéniques



Ostéoblaste et tissu ostéoide

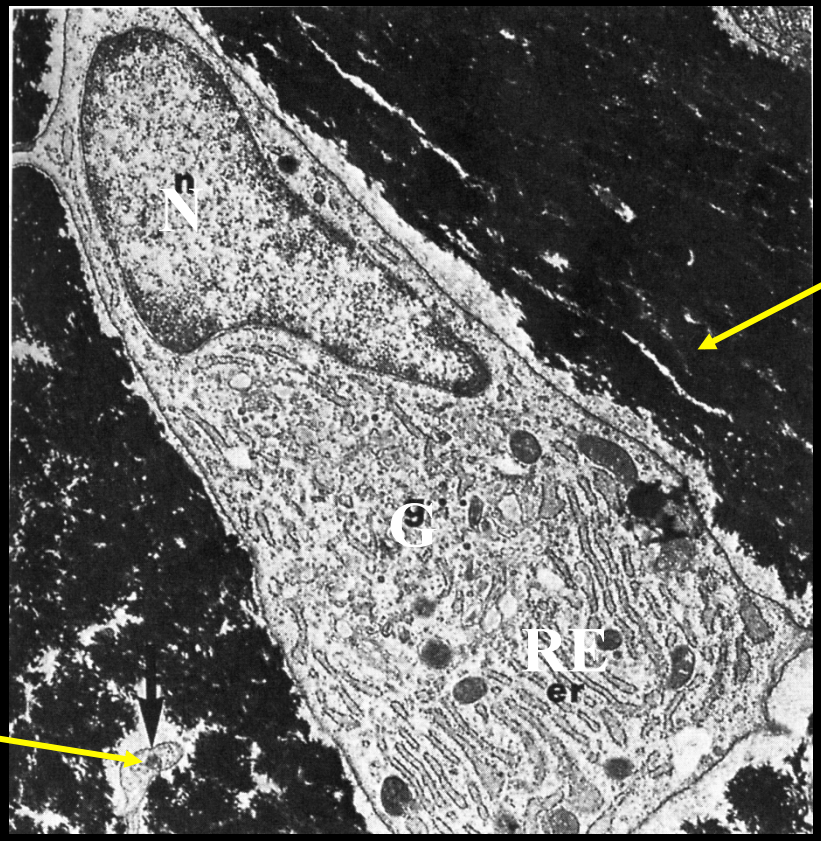


Matrice non-calcifiée (ostéoide)

Matrice calcifiée (hydroxyapatite)

Observation en microscopie électronique d'un groupe d'ostéoblastes recouvrant une couche de tissu ostéoide minéralisé contenant un ostéocyte (flèche).Noyau basal, Golgi proéminent et réticulum endoplasmique développé caractérisent un ostéoblaste actif. (Gr x 3000)

Observation d'un ostéocyte en microscopie électronique



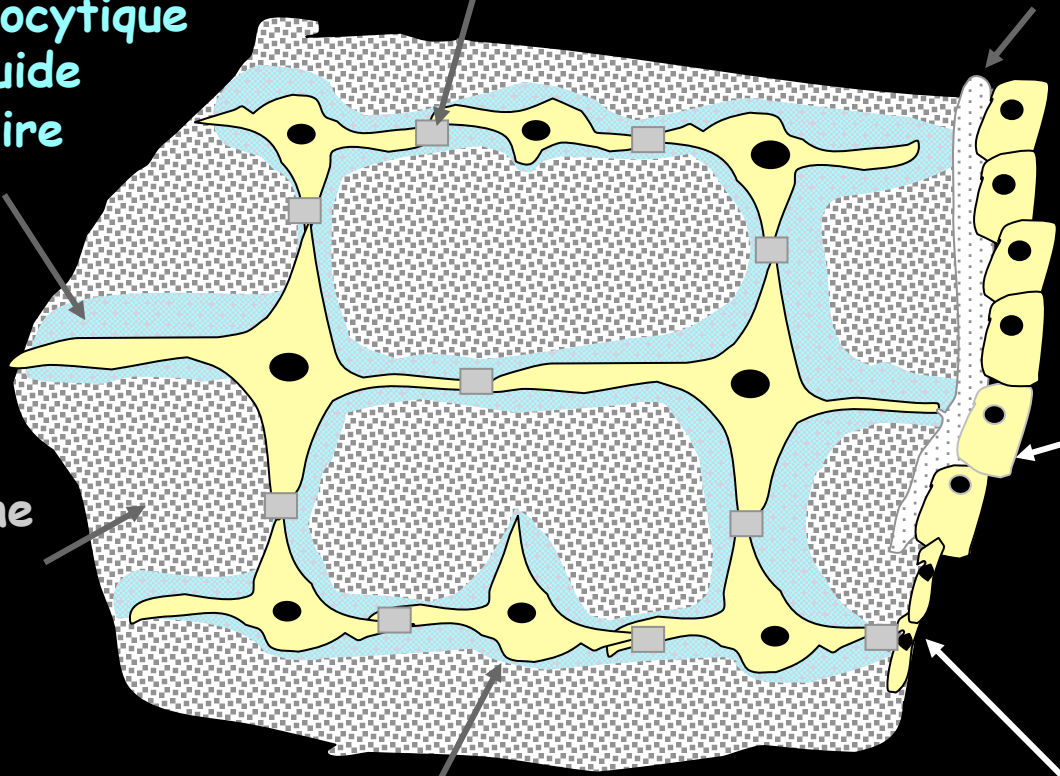
Matrice calcifiée

Extension cytoplasmique

Ostéocyte enchâssé dans une matrice calcifiée (noir=cristaux d'hydroxyapatite). Noyau basal, app. Golgi et RE développés. Présence d'extensions cytoplasmiques dans la matrice calcifiée (Gr x 5000).

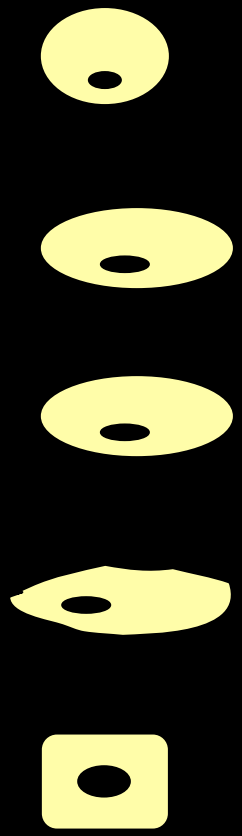
Baron R., 1999, p3-10, In primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism, Edited by Lippinscott and Wiliiams

Schéma de l'organisation des ostéocytes dans la matrice osseuse



d'après Duncan et Turner, 1995

REGULATION DE LA CROISSANCE ET DE LA DIFFERENCIATION DES OSTEOBLASTES

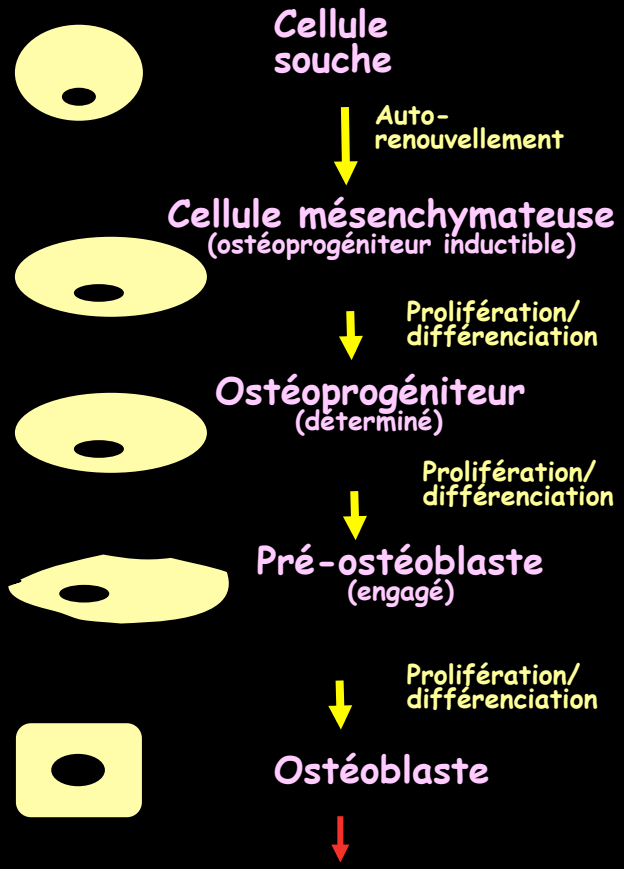


Progression	Marqueurs
Cellule souche (pluripotente)	Sca-1$^+$, Stro-1$^+$
↓ Auto-renouvellement	
Cellule souche mésenchymateuse (indifférencié)	SB-10
↓ Prolifération/ différenciation	
Ostéo-progéniteur (déterminé),	SB2,3,4, Runx2
↓ Prolifération/ différenciation	
Pré-ostéoblaste Engagé	E11,RCC455, Runx2, Collagènes I & III, ostéopontine, Phosphatase alcaline
↓ Prolifération/ différenciation	
Ostéoblaste	E11, SB2, Phos. Alc., Collagène I et V, bone Sialoprotéine Ostéopontine, Ostéocalcine

Ostéogenèse

Olsen etal., 1999, p11-29, In primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism, Edited by Lippinscott and Wiliiams

REGULATION DE LA CROISSANCE ET DE LA DIFFERENCIATION DES OSTEOBLASTES



Facteurs contribuant au phénotype

BMPs *
TGFs β *

Wnts *
LIF
FGFs *
PDGF

Wnts *
PTH/PTHrP *
1,25 Vit D3
PGE2
Cytokines
IGF-1 et 2 *
TGFs β, BMPs *

Olsen et al., 1999, p11-29, In primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism, Edited by Lippinscott & Wiliiams

Contrôle central de la formation osseuse : action anti-ostéogénique de la leptine

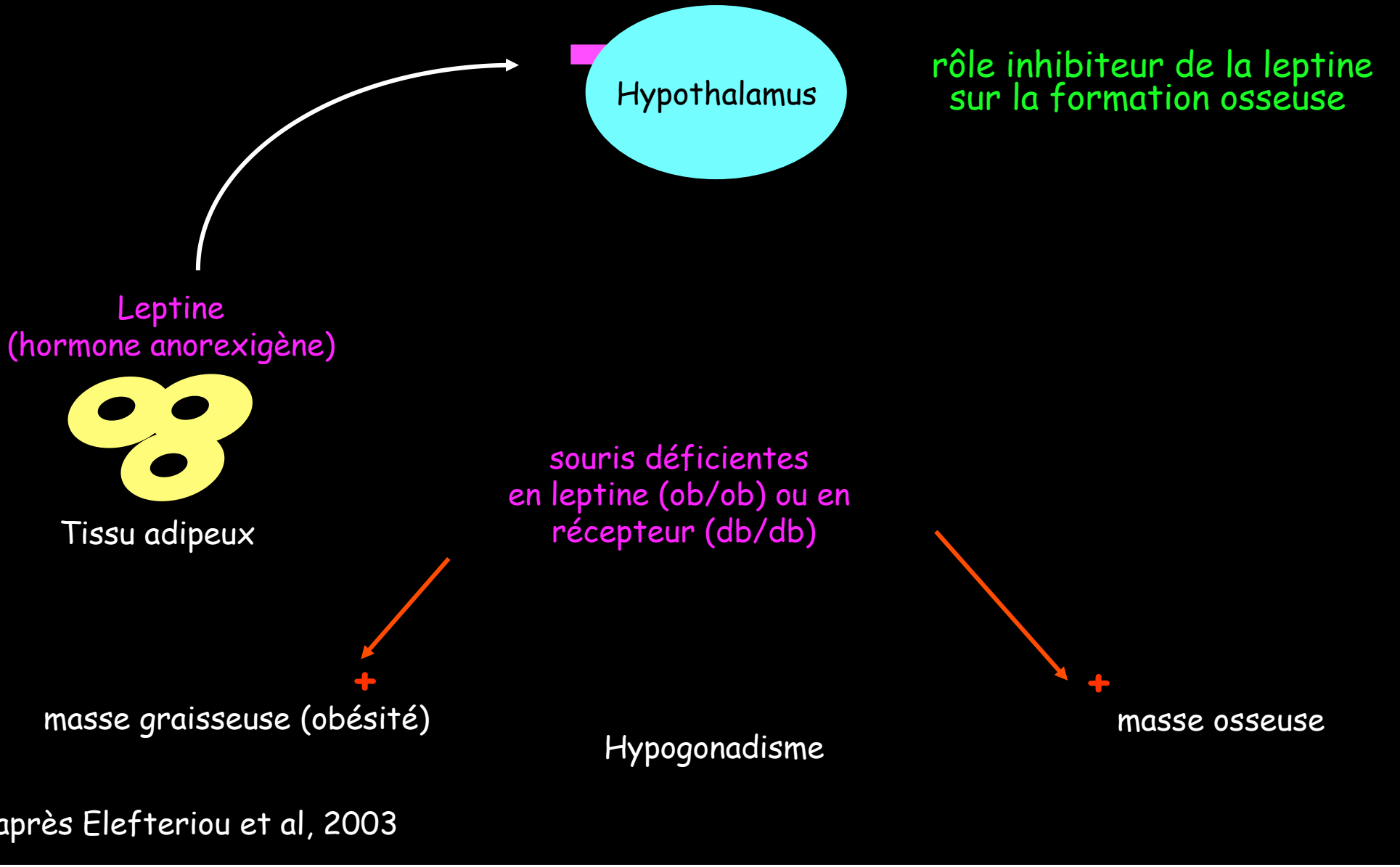
Hypothèse 1 Karsenty et al: Existence d'une régulation coordonnée, de nature endocrine, de la **formation osseuse et du métabolisme**

Anorexie mentale de l'enfant	➜	arrêt de croissance
Anorexie de l'adulte	➜	ostéoporose
Obésité	➜	masse osseuse élevée protection ostéoporose

Ostéoporose	➜	apparition à la ménopause

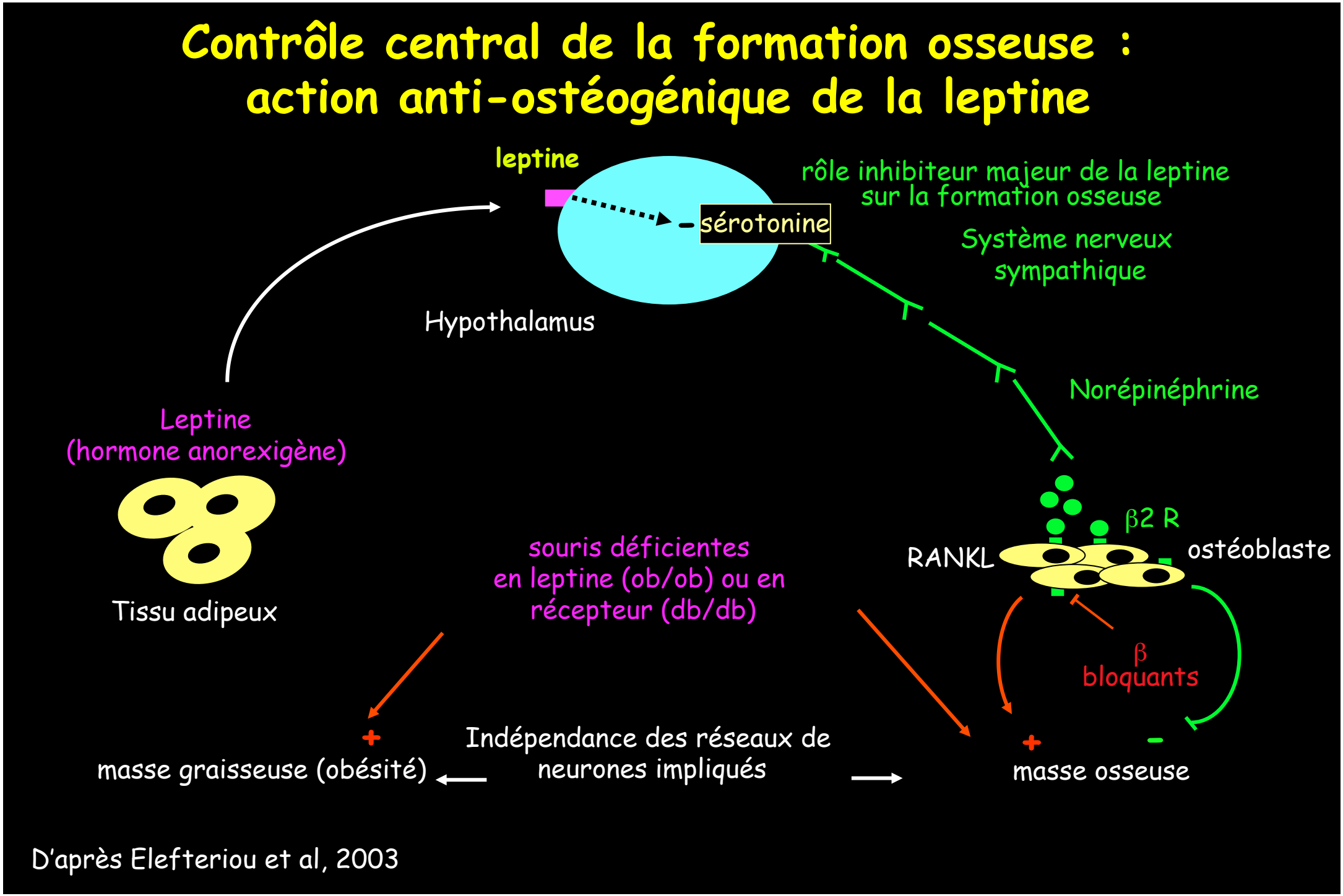
Nouvelle hypothèse Karsenty et al: Régulation coordonnée de la **masse osseuse, du métabolisme énergétique et de la reproduction**

Contrôle central de la formation osseuse : action anti-ostéogénique de la leptine



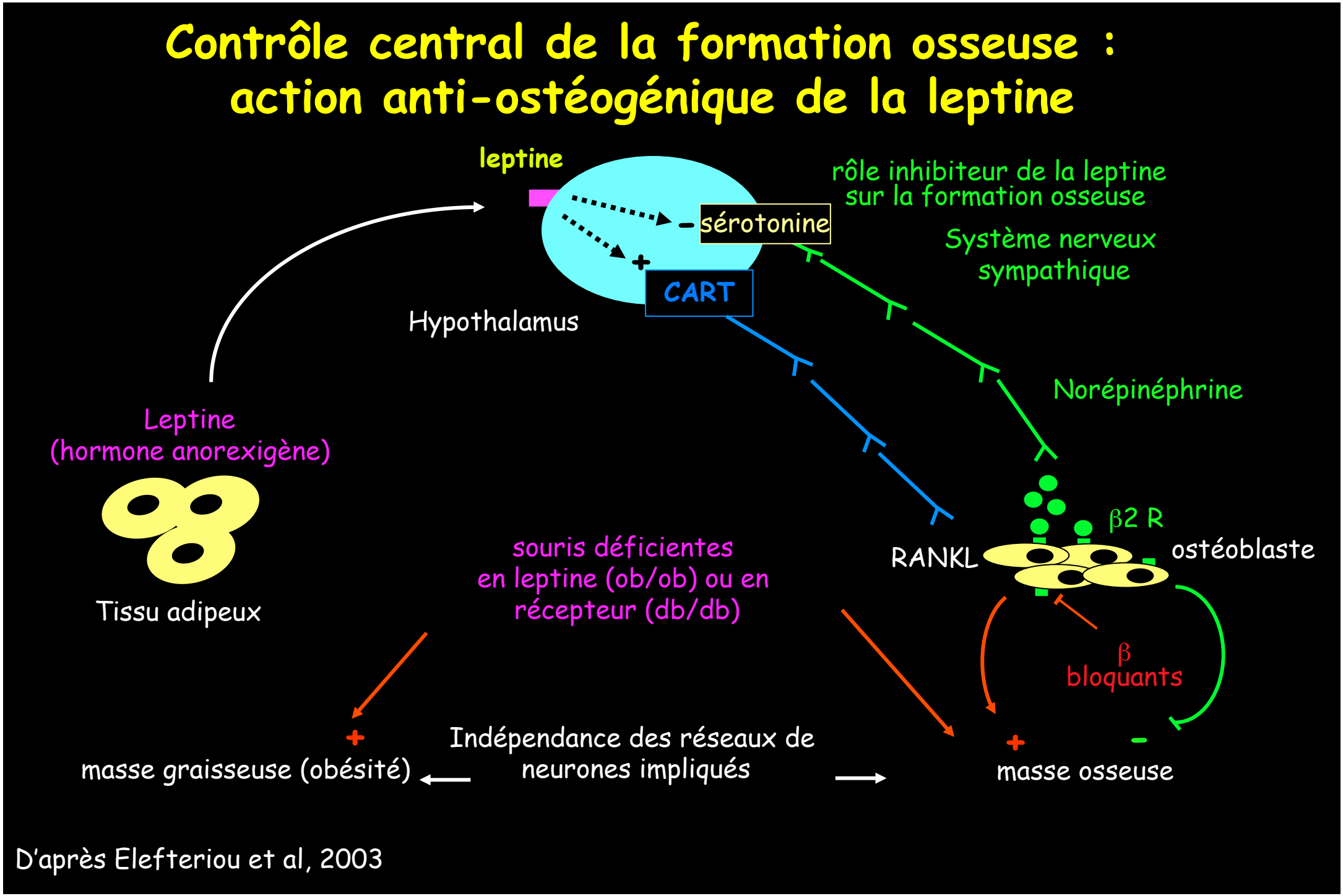
D'après Elefteriou et al, 2003

Contrôle central de la formation osseuse : action anti-ostéogénique de la leptine



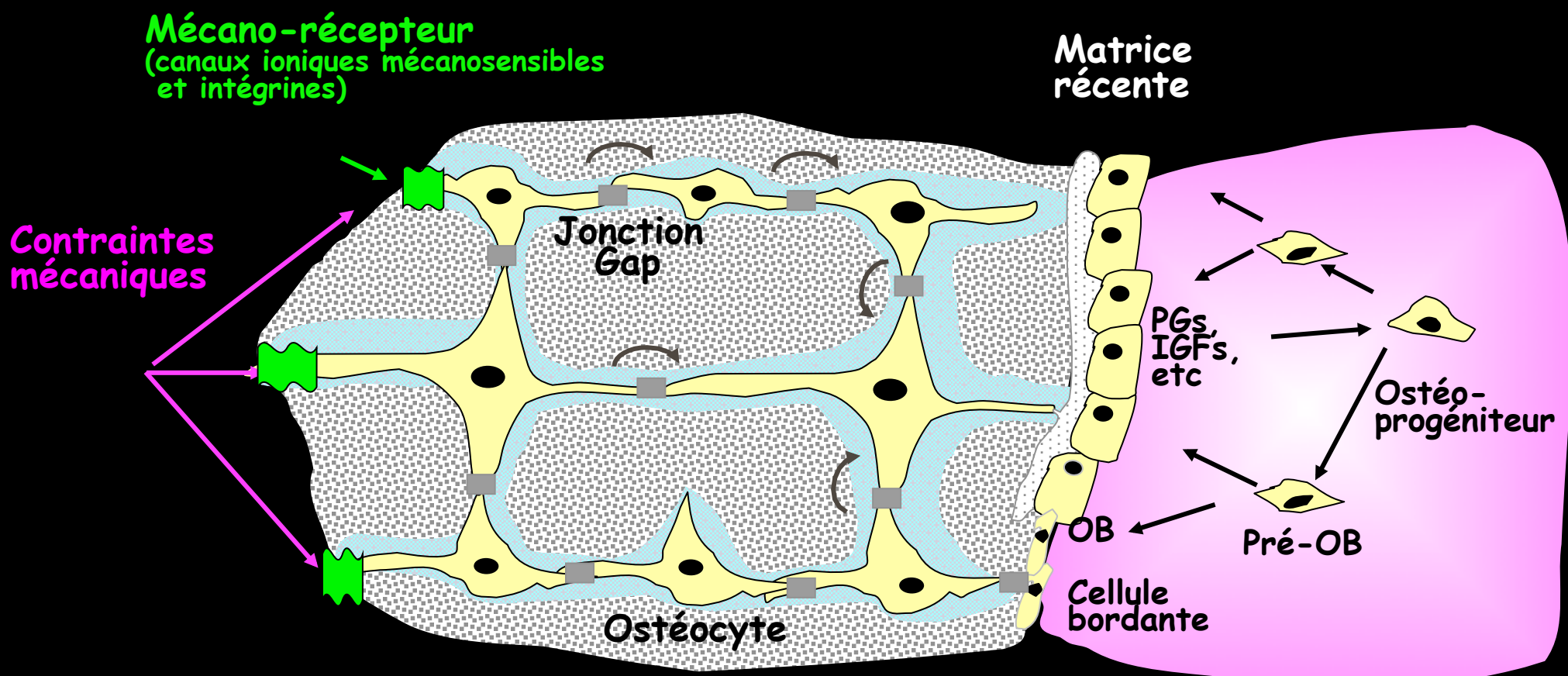
D'après Elefteriou et al, 2003

Contrôle central de la formation osseuse : action anti-ostéogénique de la leptine



D'après Elefteriou et al, 2003

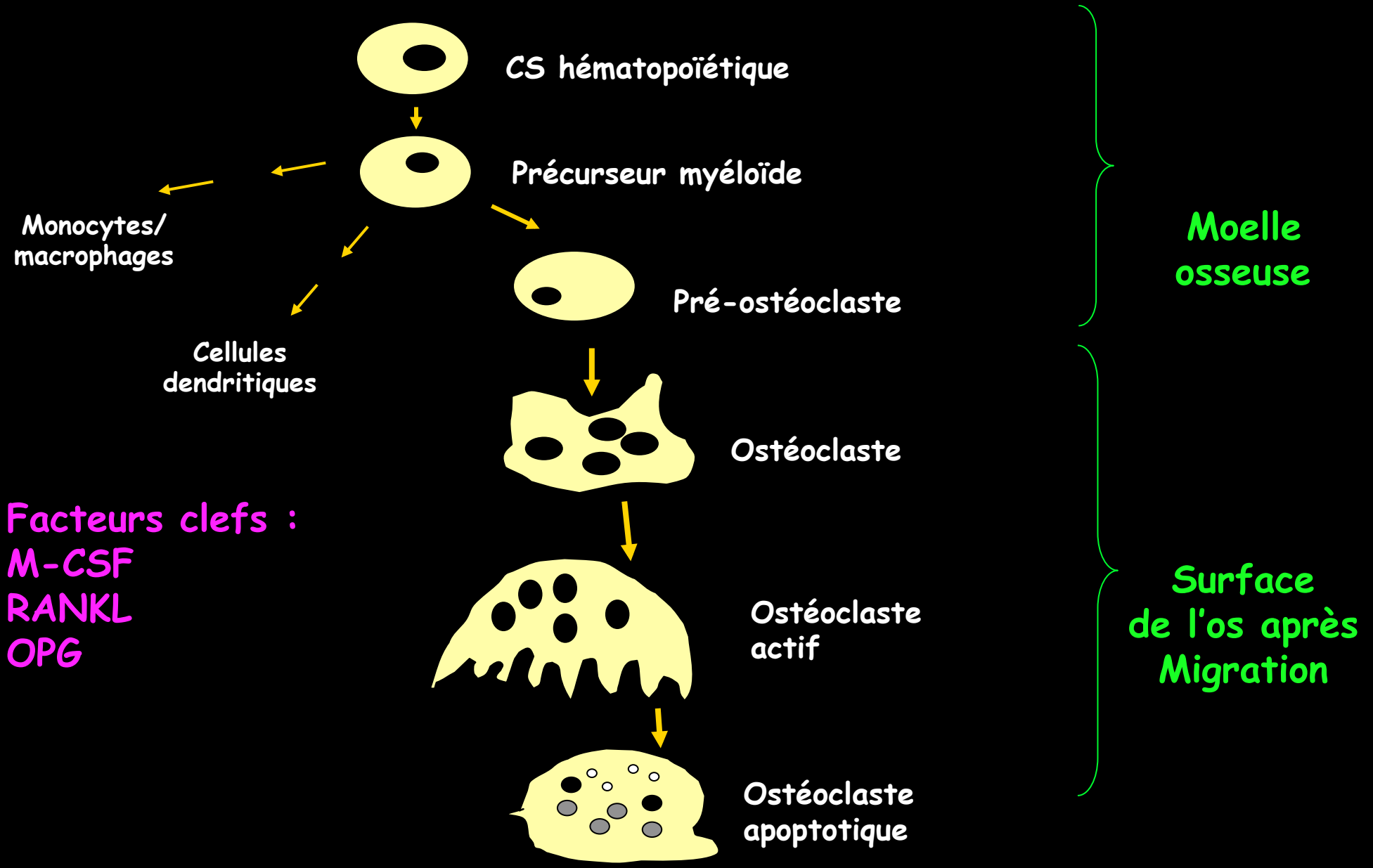
Transmission du signal mécanique par les cellules osseuses: les acteurs potentiels



Déformations ➔ mouvements de liquide

d'après Duncan et Turner, 1995

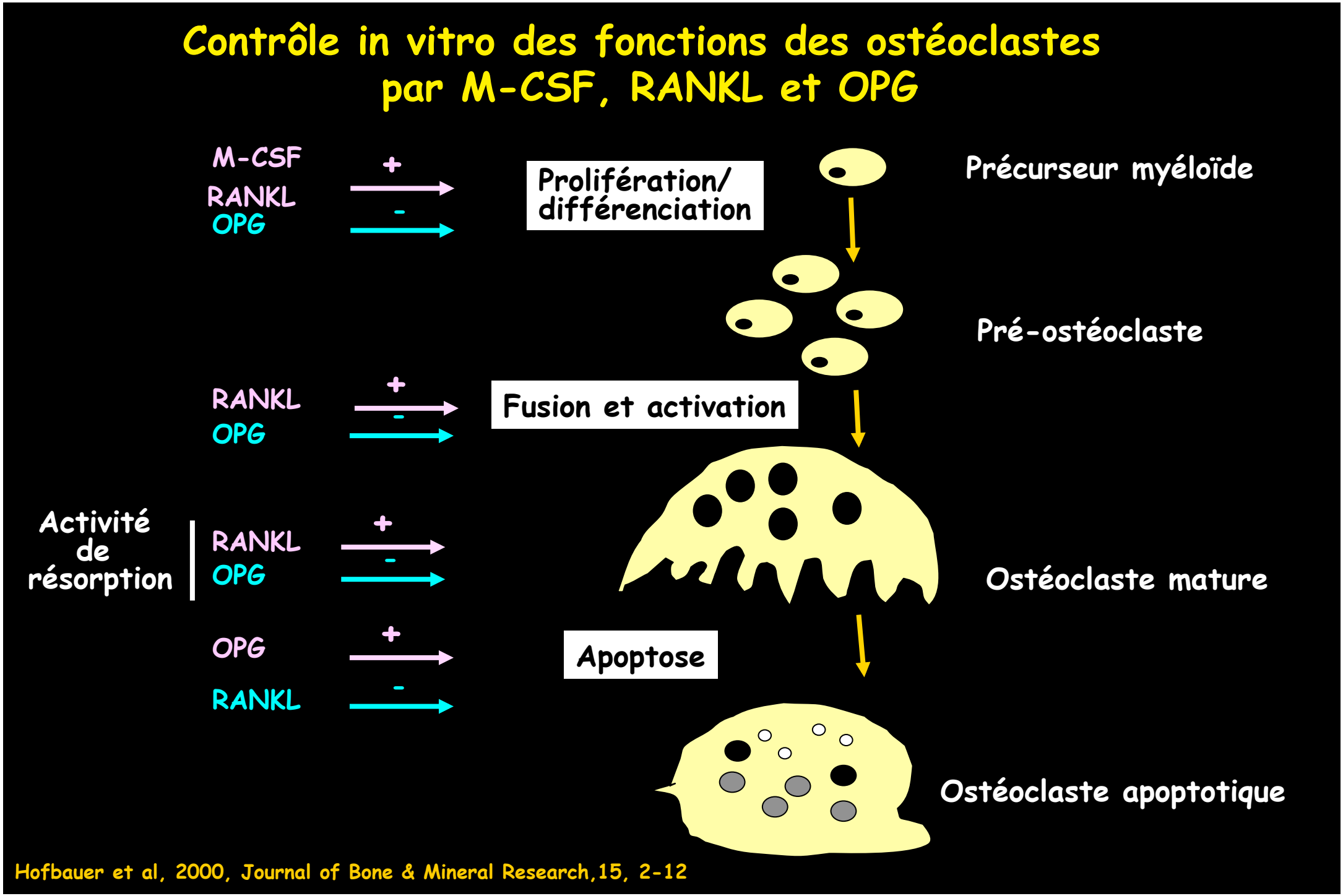
Principales étapes de l'ostéoclastogénèse



Facteurs clefs :
M-CSF
RANKL
OPG

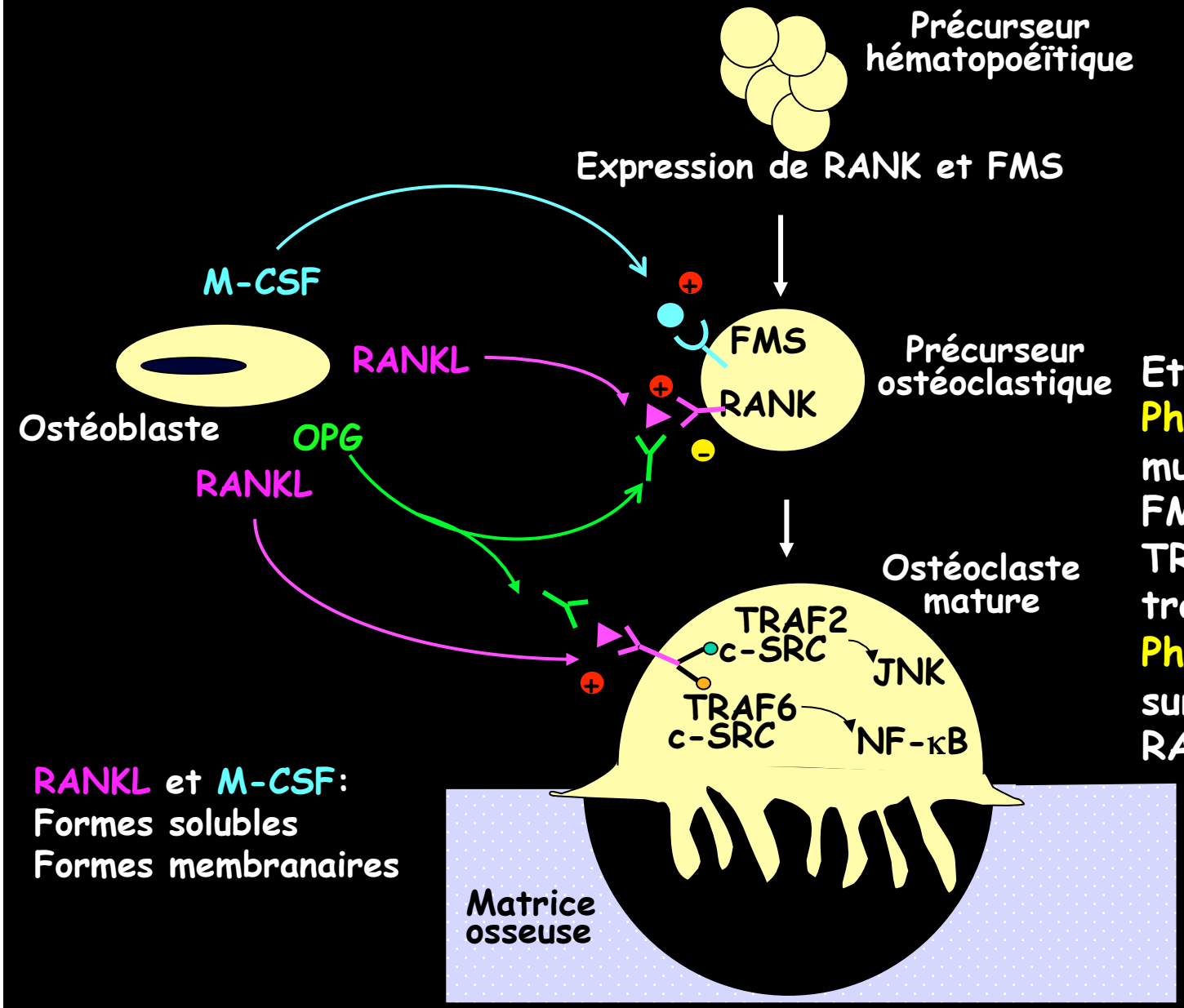
d'près Aubin et al, 2000, Osteoporosis International, 11,905-913

Contrôle in vitro des fonctions des ostéoclastes par M-CSF, RANKL et OPG



Hofbauer et al, 2000, Journal of Bone & Mineral Research,15, 2-12

Régulation de l'ostéoclastogénèse dans l'environnement osseux par M-CSF, RANKL et OPG



RANKL et **M-CSF**:
Formes solubles
Formes membranaires

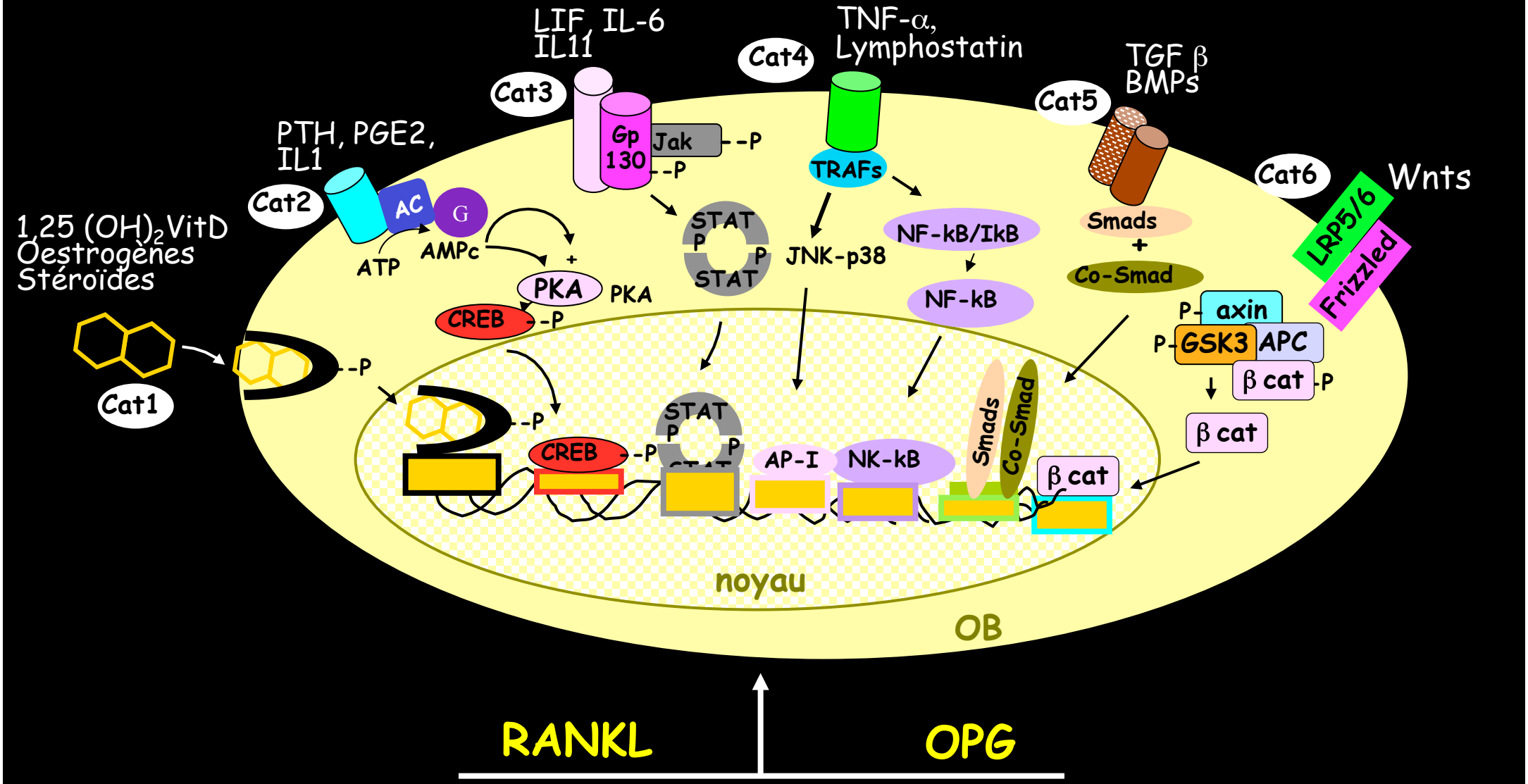
Etudes génétiques
Phénotype ostéopétrotique :
mutation inhibitrice de FMS, invalidation de RANK, TRAF6, NFκB, surexpression par transgenèse d'OPG.
Phénotype ostéoporotique :
surexpression par transgenèse de RANKLs, invalidation d'OPG

Facteurs influençant l'ostéoclastogénèse

Effet +/résorption	effet négatif/résorption
Hormones	
*PTH (2,4)	*calcitonine (4)
*1,25(OH)2 Vit D (2,4)	*Estrogènes & androgènes
Glucocorticoïdes (indirect)	
Hormones thyroïdiennes ?	
Facteurs locaux	
ILI α & β (2,3,4)	IL18 (1) & IFN γ (2)
IL6	TGF β ? (1, 2,4,)
TNFα & β (2,3,4)	
PTHrP (2,4)	
PGE2 ?	
M-CSF (1)	
RANKL (2,3,4)	OPG (2,3,4)

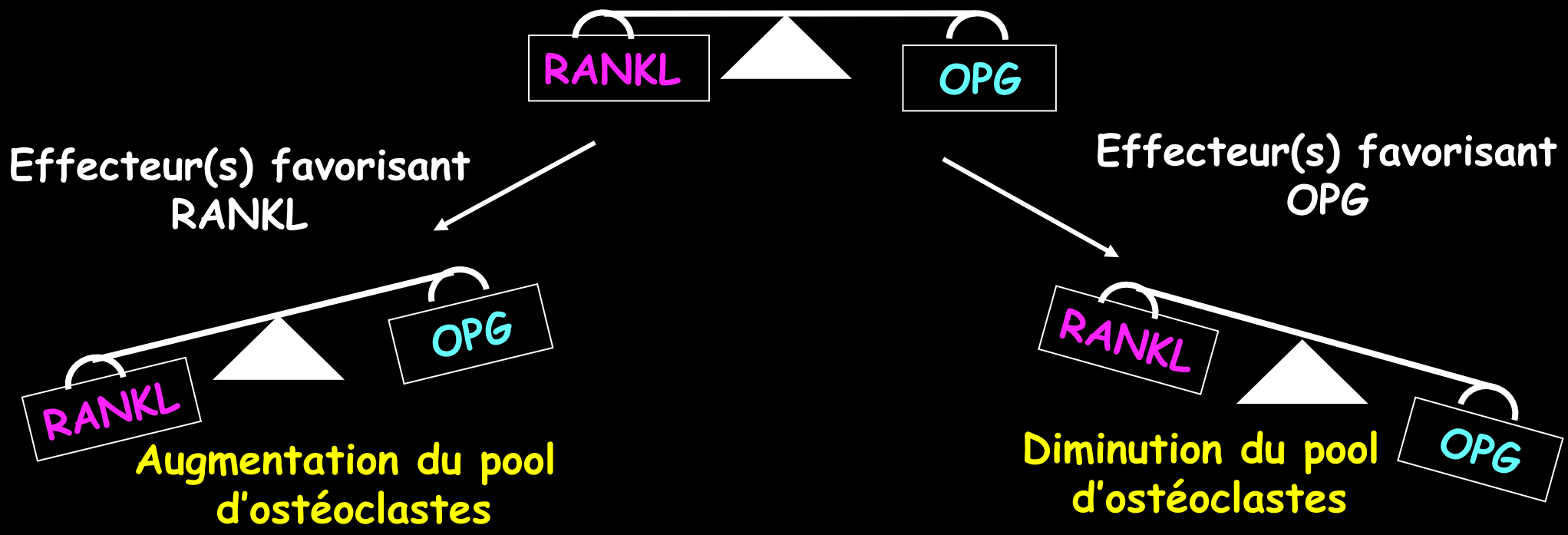
Prolifération 1 → Différenciation 2 → Survie /fusion 3 → Activation 4 → Apoptose 5

Hypothèse de convergence pour la régulation du processus d'ostéoclastogénèse et des fonctions des ostéoclastes



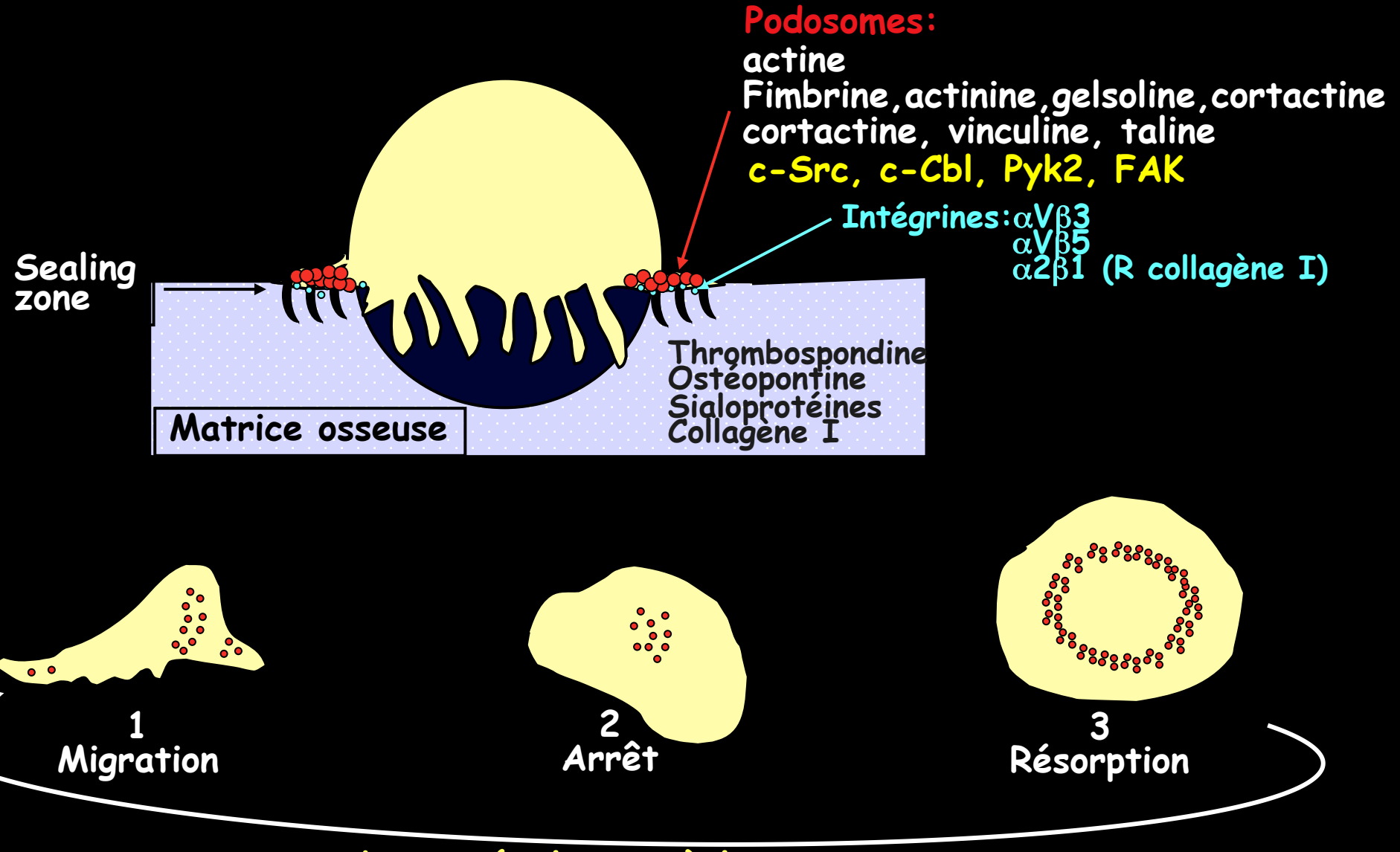
Aubin et al, 2001, Osteoporosis International,11, 905-913, Moustaka et al J. Cell Science 2001, 114, 4359-4369
Baud et al, 2001, TRENDS in cell Biology, 11, 372-377,Hagemann et al, 2001, Cellular Signaling, 13,863-875
Heymann,2000, Cytokine,12,1455-1468

Balance RANKL /OPG : nouvelles cibles thérapeutiques

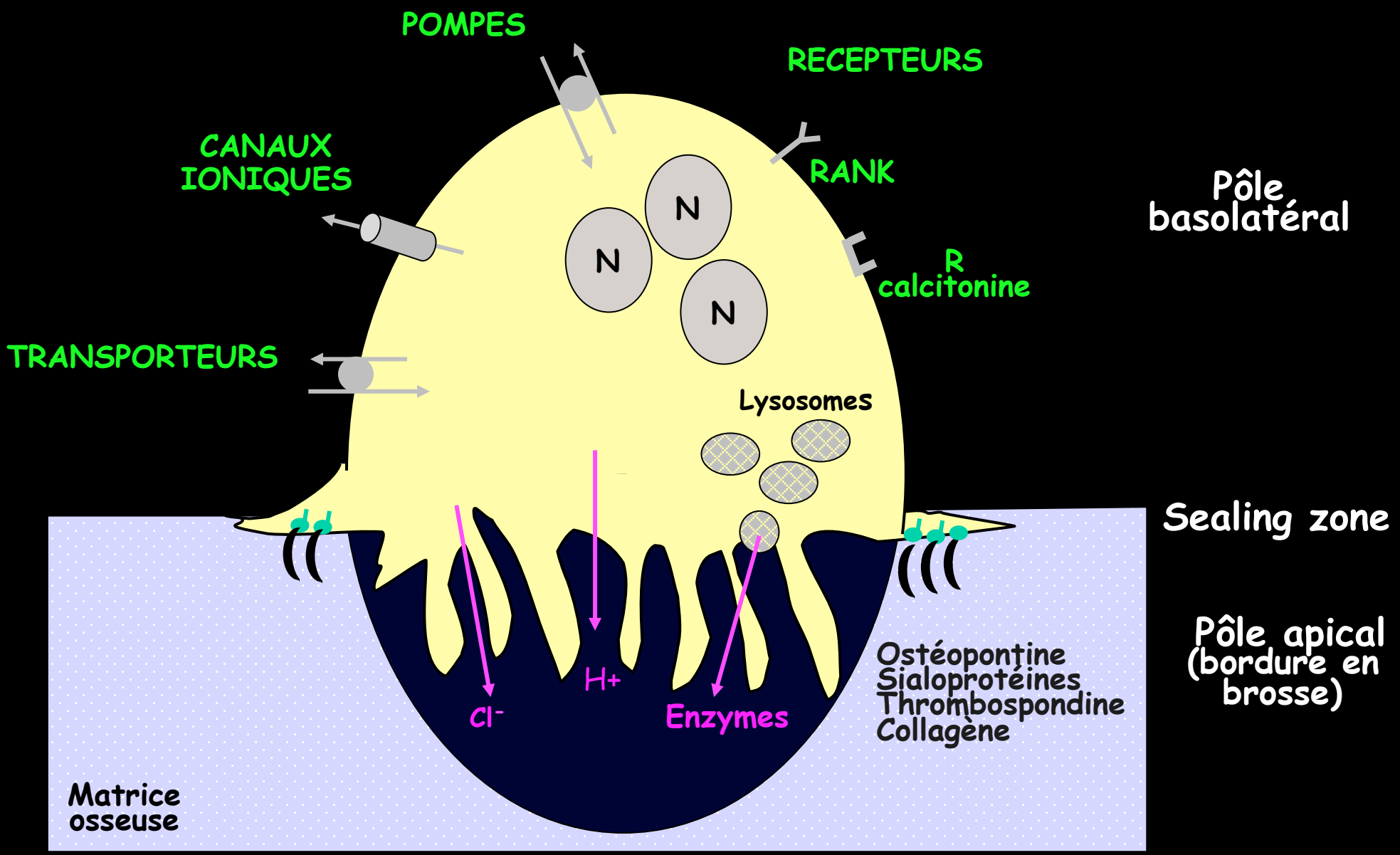


Validation du système RANKL/OPG chez l'animal
OPG, RANKL et intermédiaires des voies de signalisation sont des cibles thérapeutiques prometteuses.
(essai clinique en cours OPG: ostéoporose chez la femme ménopausée)

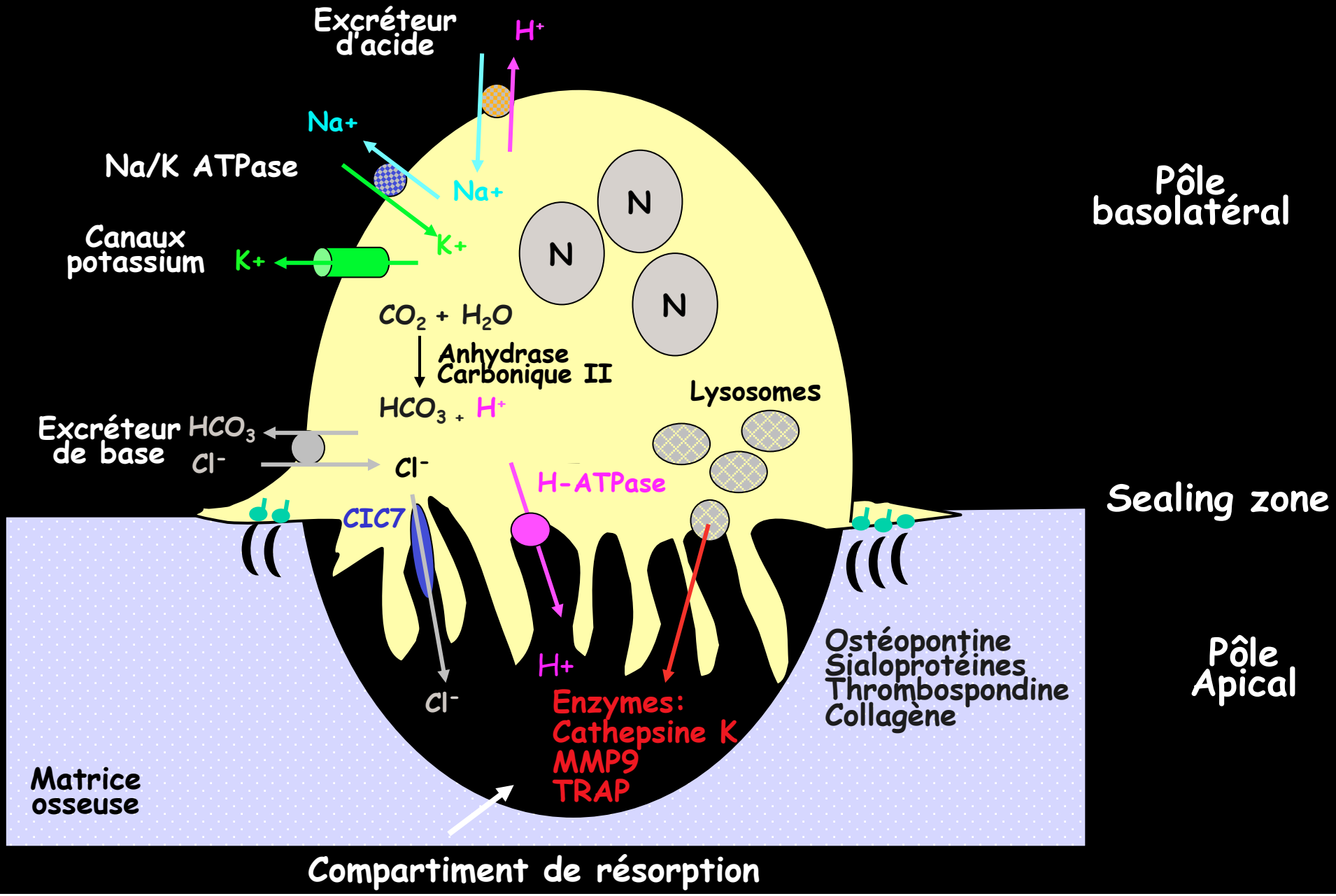
Cycle de résorption-migration des ostéoclastes



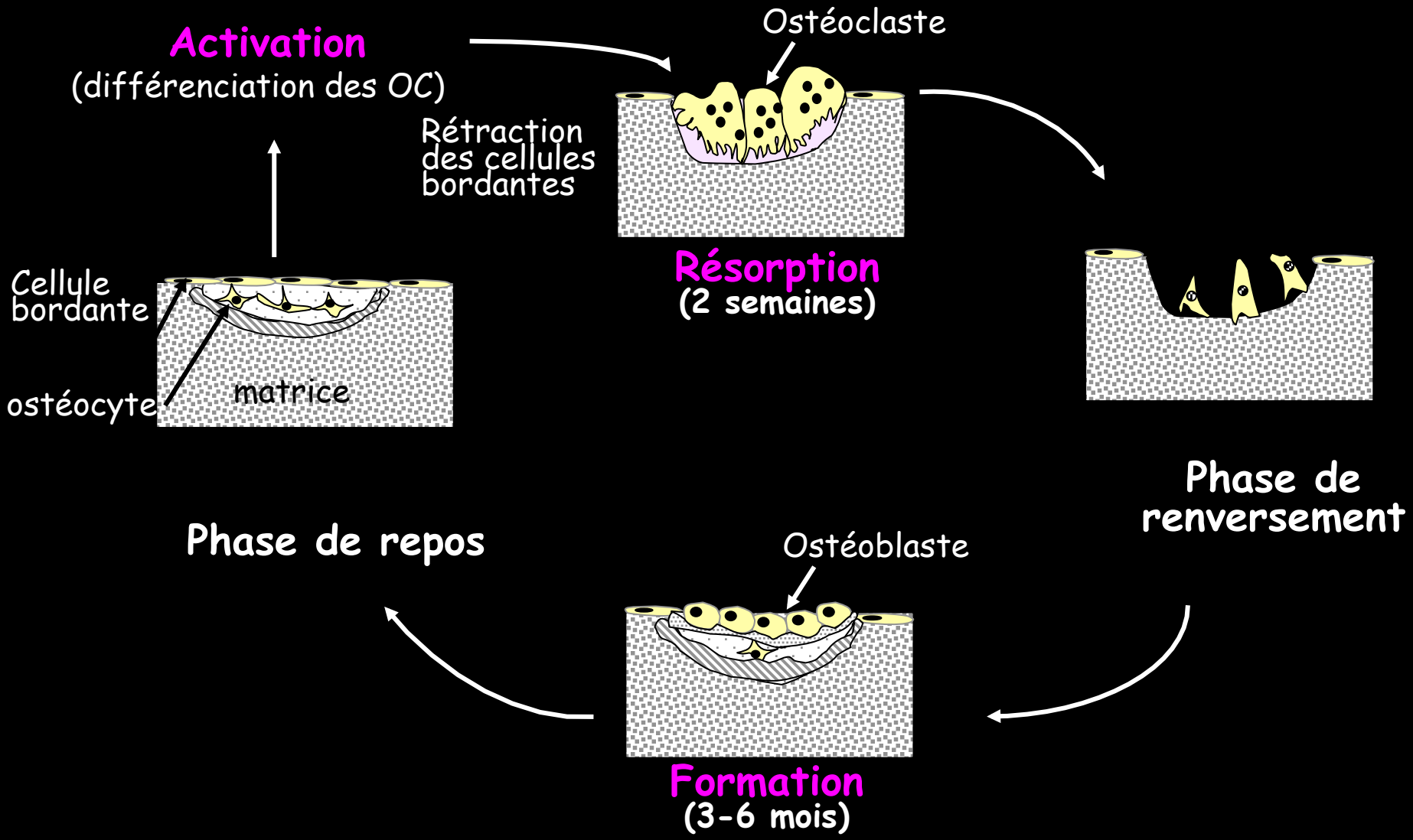
Bipolarité morphologique et fonctionnelle des ostéoclastes



Mécanisme moléculaire de résorption osseuse



Déroulement d'un remodelage osseux (séquence $A_{ctivation}R_{ésorption}F_{ormation}$)



Découplage résorption/formation: cas des métastases osseuses ostéolytiques

