



5. Lien entre l'antagoniste DKK2 et la réponse à la PTH par les ostéoblastes humains ostéoarthrosiques.

Bichra Madiha, Elie Abed, Daniel Lajeunesse.
CR-CHUM, Université de Montréal, Montréal, Québec.

Introduction : L'ostéoarthrose (OA) se caractérise par une perte du cartilage articulaire, une sclérose osseuse, la présence d'ostéophytes, et une inflammation tardive de la membrane synoviale. Des études cliniques et chez l'animal indiquent que les modifications du tissu osseux sont responsables, en partie, de la perte du cartilage. Nous avons observé, en utilisant des ostéoblastes (Ob) humains OA en culture primaire, une augmentation de l'activité de la phosphatase alcaline, de la sécrétion d'ostéocalcine, de la matrice de collagène de type 1, qui demeure cependant peu minéralisée, et enfin une réduction de la réponse à l'hormone parathyroïdienne (PTH) comparativement aux ostéoblastes normaux. Le récepteur à la PTH (PTH-R) interagit avec le LRP6, le récepteur des ligands Wnts, et les antagonistes DKK bloquent cette interaction. Nos travaux ont démontré que TGF- β 1 induit DKK2 dans les OA Ob. Nous proposons que l'augmentation de DKK2 observée dans les Ob OA est responsable de l'inhibition de la réponse à la PTH.

Méthodes : Nous avons utilisé des Ob OA et normaux humains en culture primaire. Nous avons utilisé une approche par RT-PCR pour déterminer l'expression de PTH-R, LRP6 et DKK2, et par immunobuvardage pour démontrer les niveaux protéiques. L'inhibition de DKK2 s'est effectuée par siRNA et l'AMP cyclique (AMPC) a été mesuré par ELISA. Nous avons aussi utilisé les cellules d'ostéosarcome SaOS-2 comme modèle de cellules normales pour tester l'effet de TGF- β 1 exogène sur l'expression de DKK2 et PTH-R.

Résultats : Nous avons observé que l'expression de PTH-R et LRP6 est similaire entre Ob normaux et OA, mais de manière intéressante le niveau protéique de PTH-R est réduit dans les Ob OA. L'expression et le niveau protéique de DKK2 sont cependant élevés dans les Ob OA. L'inhibition de DKK2, validé par RT-PCR et immunobuvardage, dans les Ob OA a augmenté le niveau protéique de PTH-R détecté par immunobuvardage mais celui de LRP-6 est demeuré le même. Par contre, l'inhibition de DKK2 ne modifie pas l'expression de PTH-R et LRP6. TGF- β 1 stimule la production de DKK2 dans les cellules SaOS-2 et ceci entraîne l'inhibition de PTH-R mais non celle de LRP6. Enfin, la correction de DKK2 dans les Ob OA a stimulé la production d'AMPC en réponse à la PTH par les Ob OA.

Discussion/Conclusion : Ces résultats démontrent que les niveaux élevés de DKK2, en lien avec l'inhibition de la signalisation Wnt/ β -caténine des Ob OA, sont aussi responsables de l'altération de la réponse à la PTH observée dans ces cellules. La correction du niveau élevé de DKK2 dans les Ob OA entraîne une augmentation de PTH-R et ceci se traduit par une réponse accrue à la PTH via une augmentation du cAMP. Cette régulation anormale via DKK2 est basée sur une diminution de l'affichage membranaire de PTH-R dans ces cellules et non d'une altération de son expression.