

Cellules osseuses et remodelage osseux

Le remodelage osseux est un processus complexe faisant intervenir des cellules d'origines diverses, une matrice extracellulaire calcifiée et une multitude de facteurs de régulation agissant tant au niveau tissulaire que cellulaire. Les activités de résorption et de formation sont contrôlées à différents niveaux au cours de la succession des événements allant de la prolifération des cellules souches à la différenciation des cellules mûres. Les hormones calcitropes, ainsi que de nombreuses autres hormones, modifient la prolifération et la différenciation des cellules osseuses de manière indirecte, par l'intermédiaire de la production de facteurs locaux, cytokines et facteurs de croissance. Le remodelage osseux semble être sous le contrôle des ostéoblastes qui, par leur production de cytokines et la préparation de la matrice, permettent l'attachement des ostéoclastes aux protéines matricielles et la résorption ostéoclastique. Certains facteurs locaux, présents dans la matrice, pourraient être des agents de couplage entre la résorption et la formation osseuse.

Marie-Christine
de Vernejoul
Pierre Marie

ADRESSE

M.-C. de Vernejoul : *professeur d'université, praticien hospitalier*. P. Marie : *directeur de recherche au Cnrs*. Inserm U.349, biologie cellulaire et moléculaire de l'os et du cartilage, Centre Viggo Petersen, Hôpital Lariboisière, 6 rue, Guy Patin, 75010 Paris, France.

Le squelette est constitué de 90 % d'os cortical qui forme la diaphyse des os longs, par exemple les os des membres, et qui entoure les os plats, comme les vertèbres. Cet os est dit compact, c'est-à-dire que 95 % du volume de ce tissu est occupé par la matrice osseuse. A l'inverse, l'os trabéculaire, aussi appelé spongieux, est limité aux métaphyses des os longs et à la partie centrale des os plats. Il ne constitue que 10 % du squelette et

la matrice osseuse ne représente que 20 % de ce tissu, le reste étant constitué par le tissu hématopoïétique. La matrice osseuse y est, au niveau microscopique, arrangée en « travées », de 150 µm de diamètre, connectées entre elles.

L'os trabéculaire et l'os cortical sont tous deux formés d'unités fonctionnelles (respectivement 300 000 et 1,4 millions) appelées canaux de Havers dans l'os cortical. Le remodelage osseux est le processus physiologique qui permet le renou-

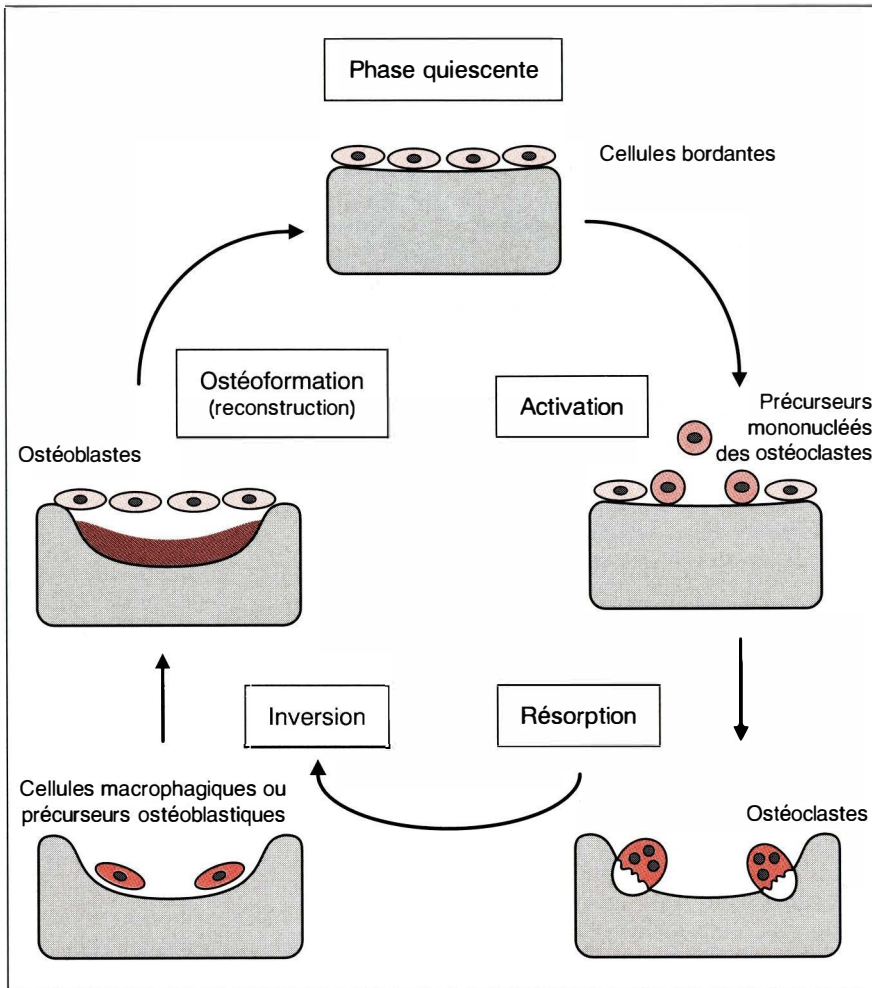


Figure 1. **Cycle du remodelage osseux.** Le long de la surface osseuse inactive recouverte de cellules bordantes, ou ostéoblastes quiescents, surviennent les précurseurs mononucléés des ostéoclastes. Cette phase d'activation est suivie de la phase de résorption lorsque les ostéoclastes résorbent l'os ancien. Lorsque les ostéoclastes ont terminé leur travail de résorption et creusé une lacune, ils sont remplacés par des cellules mononucléées, sans doute de type macrophagique et/ou des précurseurs ostéoblastiques ; c'est la phase d'inversion qui précède la phase de reconstruction ou ostéoformation ; les ostéoblastes surviennent alors dans la lacune et la comblent en apposant une nouvelle matrice osseuse. Certains ostéoblastes s'enfouissent dans la matrice qu'ils ont synthétisée et deviennent alors des ostéocytes.

vement de la matrice osseuse. Ce processus est réglé au niveau local, puisqu'il survient successivement au sein de chacune des unités fonctionnelles. Le remodelage fait intervenir deux types principaux de cellules osseuses : les ostéoclastes et les ostéoblastes. Le déroulement de cette séquence est le suivant (figure 1) : tout d'abord, le long de la surface osseuse inactive, recouverte de cellules bordantes ou ostéoblastes quiescents, surviennent les précurseurs mononucléés des ostéoclastes.

Cette phase d'activation est suivie de la phase de résorption lorsque les ostéoclastes résorbent l'os ancien. Lorsque les ostéoclastes ont terminé leur travail de résorption et creusé une lacune, ils sont remplacés par des cellules mononucléées, sans doute de type macrophagique et/ou des précurseurs ostéoblastiques ; c'est la phase d'inversion qui précède la phase de reconstruction ; les ostéoblastes surviennent alors dans la lacune et la comblent en apposant une nouvelle matrice osseuse.

Certains ostéoblastes s'enfouissent dans la matrice qu'ils ont synthétisée et deviennent alors des ostéocytes. Les ostéocytes sont situés dans des logettes et reliés entre eux et aux cellules bordantes de la surface de la matrice par des canalicules. On ne sait pas grand chose de la fonction des ostéocytes et de l'information véhiculée entre les ostéocytes et les cellules bordantes par ces canalicules.

La durée d'une séquence de remodelage est d'environ trois mois chez l'homme adulte. Les unités fonctionnelles de l'os trabéculaire subissent plus fréquemment le processus du remodelage que celles de l'os cortical en raison de la plus grande surface de contact entre le tissu hématopoïétique et les cellules osseuses dans ce type d'os. On admet donc que, chaque année, un adulte renouvelle 25 % de son os trabéculaire et seulement 4 % de son os cortical. Ainsi, environ 800 unités fonctionnelles sont activées chaque heure dans l'os trabéculaire et 100 dans l'os cortical.

Le bon déroulement du phénomène de remodelage nécessite des interactions entre les deux types cellulaires, mais aussi entre les cellules osseuses et la moelle hématopoïétique d'où émergent leurs précurseurs, et entre les cellules osseuses et la matrice osseuse synthétisée par les ostéoblastes. Il est possible que des cellules hématopoïétiques autres que les précurseurs des cellules osseuses jouent un rôle physiologique dans le tissu osseux ; on a pensé que des lymphokines pourraient être indispensables au déclenchement de la séquence de résorption et, comme nous l'avons mentionné plus haut, que les macrophages interviennent dans la phase d'inversion. Il n'existe cependant à l'heure actuelle aucune preuve précise du rôle des lymphocytes et des macrophages dans le déroulement normal du cycle de remodelage. Les multiples interactions cellulaires et entre cellules et matrice sont relayées en grande partie par des facteurs solubles, synthétisés par les cellules osseuses ou hématopoïétiques, dont certains sont intégrés dans la matrice osseuse et libérés lors de la résorption.

RÉFÉRENCES

1. Owen M. Marrow stromal stem cells. *J Cell Sci* 1988; 10 (suppl) : 63-76.
2. Grigoriadis AE, Heersche JNM, Aubin JE. Differentiation of muscle, fat, cartilage, and bone from progenitor cells present in a bone-derived clonal cell population: effect of dexamethasone. *J Cell Biol* 1988; 106 : 2139-51.
3. Benayahu D, Kletter Y, Zipori D, Wientroub S. Bone marrow-derived stromal cell line expressing osteoblastic phenotype *in vitro* and osteogenic capacity *in vivo*. *J Cell Physiol* 1989; 140 : 1-7.
4. Owens TA, Aronow M, Shalhoub V, Barone LM, Wilming L, Tassinari MS, Kennedy MB, Pockwinse S, Lian JB, Stein GS. Progressive development of the rat osteoblast phenotype *in vitro*: reciprocal relationships in expression of genes associated with osteoblast proliferation and differentiation during formation of the bone extracellular matrix. *J Cell Physiol* 1990; 143 : 420-30.
5. Turksen K, Aubin JE. Positive and negative immunoselection for enrichment of two classes of osteoprogenitor cells. *J Cell Biol* 1991; 114 : 373-84.
6. Gehron-Robey P, Bianco P, Termine JD. The cellular biology and molecular biochemistry of bone formation. In: Coe FL, Favus MJ, eds. *Disorders of bone and mineral metabolism*. New-York: Raven Press, 1992: 241-63.
7. Ernst M, Heath JK, Schmid C, Froesch RE, Rodan GA. Evidence for a direct effect of estrogen on bone cells *in vitro*. *J Steroid Biochem* 1989; 34 : 279-84.
8. Lieberherr M. Effects of vitamin D3 metabolites on cytosolic free calcium in confluent mouse osteoblasts. *J Biol Chem* 1987; 262 : 13168-73.
9. Goldring MB, Goldring SR. Basic science and pathology skeletal tissue response to cytokines. *Clin Orthoped Rel Res* 1990; 258 : 245-78.
10. Centrella M, Canalis E. Local regulators of skeletal growth: a perspective. *Endocrinol Rev* 1985; 6 : 544-51.
11. Pfeilschifter J, Mundy GR. Modulation of type β transforming growth factor activity in bone cultures by osteotropic hormones. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84 : 2024-8.

Le remodelage permet une restitution *ad integrum* et un maintien de la structure osseuse. Lors du vieillissement et de l'ostéoporose, il existe un déséquilibre dans le processus du remodelage osseux et une perte osseuse. Ce déséquilibre est dû au recrutement excessif des cellules chargées de la dégradation de la matrice, et à une diminution des capacités de prolifération et de synthèse des ostéoblastes.

L'ostéoblaste et sa différenciation

Au niveau de l'endoste*, l'ostéoblaste a pour origine une cellule souche présente dans le stroma médullaire. On savait que les cellules ostéogéniques du stroma médullaire proviennent de la prolifération clonale de cellules souches [1]. On sait maintenant que ces colonies sont composées de cellules stromales pluri-potentes, pouvant donner naissance à des clones de cellules adipeuses, ostéoblastiques ou chondroblastiques après induction hormonale [2]. Cela suggère l'existence d'un précurseur commun aux chondroblastes, aux ostéoblastes et aux adipocytes, et conduit à émettre l'hypothèse que la différenciation des cellules souches en cellules mûres pourrait être sous le contrôle de facteurs de croissance locaux ou d'hormones. L'augmentation de la population adipocytaire médullaire au cours du vieillissement dans l'espèce humaine pourrait peut-être résulter d'une orientation des cellules souches vers la voie adipocytaire plutôt que vers la voie ostéoblastique.

Alors que les cellules ostéoblastiques d'origine périostée* peuvent être ostéogéniques *in vitro* en l'absence d'inducteur hormonal, les cellules précurseurs issues du stroma médullaire nécessitent une stimulation hormonale par un agent différenciateur, tels les glucocorticoïdes, pour être ostéogéniques *in vitro* [3]. Les différents stades de la différenciation ostéoblastique sont maintenant mieux connus. La différenciation ostéoblastique *in vitro* se caractérise par la succession d'une phase de prolifération cellulaire associée à

l'expression des gènes *fos* et *myc*, suivie d'une phase de maturation cellulaire caractérisée par l'induction de gènes associés à la production de matrice extracellulaire (phosphatase alcaline, collagène de type I, *transforming growth factor* β [TGF β], fibronectine, ostéopontine) puis à sa minéralisation (sialoprotéine, ostéocalcine) [4, 5] (Tableau I). La matrice extracellulaire et les contacts cellulaires semblent jouer un rôle inducteur dans l'expression des gènes de différenciation ostéoblastique. D'autre part, il semble que la phosphatase alcaline ostéoblastique soit impliquée dans la minéralisation de la matrice, qui pourrait également dépendre de la présence de protéines non collagéniques. Ces protéines jouent, elles aussi, un rôle dans l'attraction et l'adhérence cellulaires. En effet, il a été montré que l'ostéocalcine a un effet chimiotactique pour les précurseurs ostéoclastiques et les cellules ostéoblastiques en culture. De plus, la sialoprotéine osseuse, la fibronectine et l'ostéopontine favorisent l'attachement des cellules osseuses à la matrice grâce à la présence de séquences RGD*, séquences impliquées dans l'adhérence cellulaire [6]. Par ces mécanismes, les protéines osseuses non collagéniques pourraient être impliquées dans la régulation de l'activité fonctionnelle des cellules osseuses.

Régulation de la formation osseuse

La prolifération et la différenciation des ostéoblastes sont contrôlées par un grand nombre d'hormones et de facteurs de croissance dont les mécanismes d'action sont maintenant mieux connus (figure 2). Le développement des cultures de cellules osseuses a permis de montrer que la prolifération des précurseurs ostéoblastiques sous contrôle hormonal peut être induite indirectement par les facteurs de croissance. En effet, il a été récemment montré que la parathormone (PTH) a un effet stimulateur sur la production par les ostéoblastes du TGF β , de l'*insulin-like growth factor* I et II (IGF) et de certaines protéines porteuses de l'IGF-I. Ces effets peuvent être reproduits

* Voir glossaire, p. 1203.

par le PTHrp (peptide apparenté à l'hormone parathyroïdienne) qui se lie au même récepteur que celui de la PTH, récepteur qui a été récemment cloné. En outre, de nombreuses données suggèrent que les effets stimulateurs des hormones sexuelles sur la synthèse de la matrice osseuse peuvent être relayés par certains facteurs de croissance. On sait que les ostéoblastes ont un nombre restreint de récepteurs de forte affinité pour les œstrogènes qui stimulent la synthèse de collagène, et dont les effets mitogènes sur les cellules ostéoblastiques semblent être relayés par une augmentation de la synthèse autocrine d'IGFI [7]. De même, il a été montré que la progestérone stimule la prolifération ostéoblastique et augmente, au niveau transcriptionnel, la production d'IGFII. On sait, par ailleurs, que les androgènes et les œstrogènes stimulent la production de TGFβ, et inhibent la production d'AMP cyclique induite par la PTH et le PTHrp, ce qui pourrait contribuer à l'inhibition de la résorption osseuse induite *in vivo* par ces hormones stéroïdiennes.

Les mécanismes d'action des hormones calciotropes sont maintenant mieux connus. On sait que les fragments 10-15 et 24-34 de la PTH sont impliqués dans la liaison de la PTH à son récepteur et que la région 28-34 augmente la prolifération des cellules ostéoblastiques *via* l'activation de la PKC membranaire. Le métabolite actif de la vitamine D, le 1,25(OH)2D, a de nombreux effets sur les cellules ostéoblastiques. Le 1,25(OH)2D se lie à des récepteurs

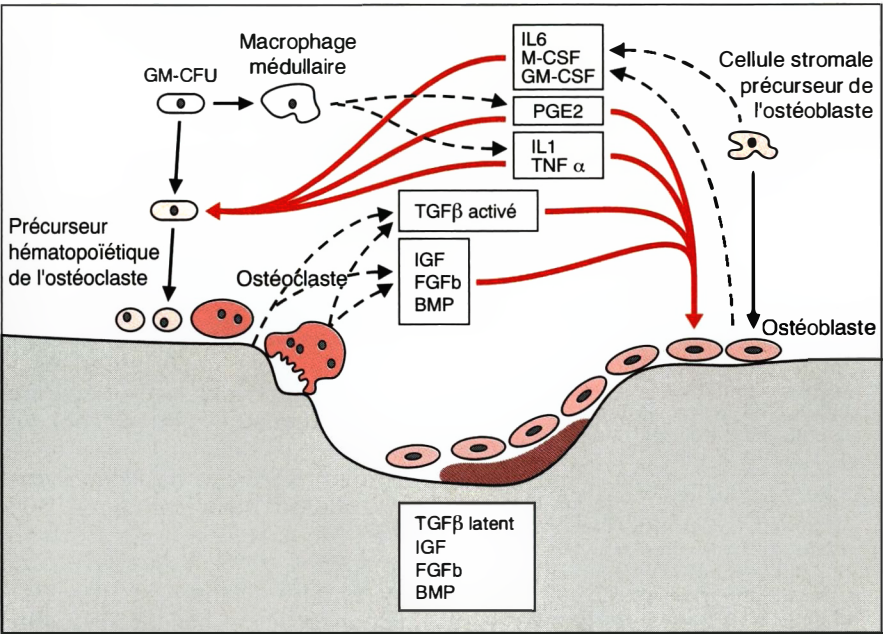


Figure 2. **Principales cytokines ou facteurs de croissance impliqués dans le remodelage osseux.** Les voies de différenciation sont représentées en traits pleins noirs, la production de cytokines en traits discontinus noirs et les cibles des cytokines en traits pleins rouges. GM-CFU : granulocyte, macrophage, colony forming unit ; GM-CSF, M-CSF : granulocyte, macrophage-colony stimulating factor, macrophage-colony stimulating factor ; IL1, IL6 : interleukine 1, interleukine 6 ; PGE2 : prostaglandine E2, TNFα : tumor necrosis factor α ; TGFβ : transforming growth factor β ; FGFb fibroblast growth factor, basic ; BMP : bone morphogenetic protein ; IGF : insulin-like growth factor. (D'après [9, 10]).

Tableau I						
EXPRESSION DES MARQUEURS CARACTÉRISTIQUES DU PHÉNOTYPE OSTÉOBLASTIQUE						
	Fibronectine	Phosphatase alcaline	Collagène	Ostéopontine	Ostéocalcine	Sialoprotéine
Précurseur ostéoblastique	+	+	-	-	-	-
Préostéoblaste	+	+	+	+	-	-
Ostéoblaste mûr	-	++	++	+	++	++

Schématiquement, la différenciation des cellules ostéoblastiques en absence d'inducteur hormonal se caractérise par l'expression progressive de gènes associés à la synthèse de la matrice extracellulaire et à sa minéralisation (d'après Turksen et Aubin [5]).

RÉFÉRENCES

12. Centrella M, McCarthy TL, Canalis EC. Transforming growth factor-beta and remodeling of bone. *J Bone Joint Surg* 1991 ; 73 : 1418-28.
13. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, Mitsock LM, Whitters MJ, Kriz RW, Hewick RM, Wang EA. Novel regulators of bone formation : molecular clones and activities. *Science* 1988 ; 242 : 1527-34.
14. Chambers TJ, Mc Sheehy PMJ, Thomson BM, Fuller K. The effect of calcium-regulating hormones and prostaglandins on bone resorption by osteoclasts disaggregated from neonatal rabbit bones. *Endocrinology* 1985 ; 60 : 234-9.
15. Miyauchi A, Hruska KA, Greenfield EM, Duncan R, Alvarez J, Barattolo R, Colucci S, Zamboni-Zallone A, Teitelbaum SL, Teti A. Osteoclast cytosolic calcium, regulated by voltage-gated calcium channels and extracellular calcium, controls podosome assembly and bone resorption. *J Cell Biol* 1990 ; 111 : 2543-52.
16. de Vernejoul MC, Horowitz M, Demignon J, Neff L, Baron R. Bone resorption by isolated chick osteoclasts in culture is stimulated by murine spleen cell supernatant fluids (osteoclast-activating factor) and inhibited by calcitonin and prostaglandin E2. *J Bone Min Res* 1988 ; 3 : 69-80.
17. Blair HC, Teitelbaum SL, Ghiselli R, Bluck S. Osteoclastic bone resorption by a polarized vacuolar proton pump. *Science* 1989 ; 245 : 855-7.
18. Baron R, Neff L, Brown W, Coutoy PJ, Louvard D, Farguher MG. Polarized secretion of lysosomal enzymes : co-distribution of cation-independent mannose-6-phosphate receptors and lysosomal enzymes along the osteoclast exocytic pathway. *J Cell Biol* 1988 ; 106 : 1863-72.
19. Davies J, Warwick J, Totty N, Philp R, Helfrich M, Horton M. The osteoclast functional antigen, implicated in the regulation of bone resorption, is biochemically related to the vitronectin receptor. *J Cell Biol* 1989 ; 109 : 1817-26.
20. Helfrich MH, Nesbitt SA, Dorey EI, Horton MA. Rat osteoclasts adhere to a wide range of RGD (Arg-Gly-Asp) peptide-containing proteins, including the bone sialoproteins and fibronectin, via a $\beta 3$ integrin. *J Bone Min Res* 1992 ; 7 : 335-43.
21. Horne WC, Neff L, Chatterjee D, Lomri A, Baron R. Osteoclasts express high levels of pp60c-src in association with intracellular membranes. *J Cell Biol* 1992 ; 119 : 1003-13.

spécifiques et agit sur la transcription des gènes de collagène de type I, de la phosphatase alcaline et de gènes codant pour des protéines non collagéniques telles que l'ostéocalcine, l'ostéopontine et la fibronectine [6]. Cependant, les effets de ce métabolite varient selon l'état de différenciation des cellules ostéoblastiques, ce qui confère à ce métabolite un rôle modulateur de l'activité ostéoblastique. De plus, il a récemment été montré que la 1,25(OH)2D a des effets membranaires faisant intervenir le calcium intracellulaire [8]. Cette hormone modifie également le métabolisme des phospholipides membranaires des ostéoblastes, mécanisme qui pourrait être impliqué dans le processus de calcification de la matrice osseuse.

Il est maintenant bien établi que les cellules de la lignée ostéoblastique jouent un rôle important dans le contrôle du remodelage osseux. Les cellules bordantes, ou ostéoblastes quiescents, recouvrent la majorité de la surface osseuse, empêchant l'accès des cellules ostéorésorbantes. Sous l'effet de facteurs ostéorésorbants hormonaux (PTH, 1,25(OH)2D) ou locaux (prostaglandine E2), ces cellules se rétractent par un mécanisme faisant intervenir le cytosquelette. Cette rétraction des cellules bordantes permet l'accès des précurseurs ostéoclastiques à la surface osseuse et l'adhérence de l'ostéoclaste à la matrice osseuse, processus nécessaires à l'initiation de la phase de résorption. La dégradation de la couche superficielle du tissu collagénique non minéralisé recouvrant la surface osseuse permettrait aux ostéoclastes d'adhérer et de résorber la surface minéralisée. Cette dégradation peut se faire sous l'action d'une collagénase, produite sous forme latente par les ostéoblastes après stimulation par la PTH et la prostaglandine E2. Ces facteurs augmentent également la production de l'activateur du plasminogène tissulaire, ce qui conduit à la production de plasmine capable d'activer la collagénase latente. La libération de cette enzyme aurait pour effet d'éliminer la couche superficielle de matrice non minéralisée qui recouvre le tissu calcifié.

Les cellules ostéoblastiques contrôlent également les cellules ostéorésorbantes par la production d'un grand nombre de cytokines qui ont de nombreux effets autocrines et paracrines [9]. Les ostéoblastes produisent de l'interleukine 1 (IL1) en réponse à la PTH, et du *tumor necrosis factor* α (TNF α) en réponse à l'IL1 et au *granulocyte, macrophage-colony stimulating factor* (GM-CSF). L'IL1 et le TNF α stimulent la prolifération des cellules ostéoblastiques mais inhibent la formation osseuse *in vivo* et *in vitro*, effets qui peuvent être relayés par une augmentation de production de prostaglandine E2. L'IL6 est produite de façon constitutive par les cellules ostéoblastiques et sa production est stimulée par la PTH, le TNF α et l'IL1. Cependant, l'IL6 n'a pas d'effet sur la prolifération des cellules ostéoblastiques normales. En revanche, le GM-CSF, produit par les ostéoblastes en réponse à la PTH, est mitogène pour ces cellules. Les cellules ostéoblastiques synthétisent également du M-CSF (*macrophage-colony stimulating factor*) qui est un facteur important impliqué dans la différenciation ostéoclastique (Tableau II).

Les ostéoblastes produisent de nombreux facteurs de croissance dont certains sont incorporés dans la matrice par adsorption à l'hydroxyapatite ou par interaction avec les protéines matricielles [10]. Ces facteurs peuvent être libérés de la matrice osseuse au cours de la résorption et peuvent ainsi être impliqués dans la régulation locale de l'ostéof ormation. Plusieurs facteurs de croissance présents dans la matrice osseuse ont été identifiés. Le *fibroblast growth factor basic* (FGFb) est lié aux protéoglycanes, au collagène et à la fibronectine, ce qui augmente sa stabilité en le protégeant de la protéolyse. L'effet essentiel du FGFb sur les cellules ostéoblastiques est d'augmenter la réplication cellulaire et d'inhiber la synthèse de collagène et l'activité des phosphatases alcalines. Les IGF, présents en grande quantité dans la matrice osseuse, sont des facteurs anaboliques importants pour le tissu osseux car ils stimulent la prolifération et la différenciation des cellules ostéoblastiques. Comme pour les autres

Tableau II
PRINCIPALES CYTOKINES AYANT UN EFFET SUR LE REMODELAGE OSSEUX

	Résorption		Formation		Présence dans la matrice osseuse
	Différenciation des précurseurs ostéoclastiques	Activité des ostéoclastes mûrs	Prolifération des cellules ostéoblastiques	Synthèse de matrice par les ostéoblastes	
PGE2	+	-	-/+	0	non
IL1	+	0	+	-	non
TNF α	+	0	+	-	non
IL6	+	0	0	0	non
IFN γ	-	0	0	0	non
GM-CSF	+	0	+	0	oui
M-CSF	+	0	0	0	non
TGF β	-	0	+	+	oui
IGF1	+	0	+	+	oui
FGF	0	0	+	+	oui

PGE2 : prostaglandine E2 ; IL : interleukine ; TNF : tumor necrosis factor ; INF : interféron ; GM-CSF : granulocyte macrophage-colony stimulating factor ; M-CSF : macrophage-colony stimulating factor ; TGF : transforming growth factor ; IGF : insulin growth factor ; FGF : fibroblast growth factor. + : action stimulatrice. - : action inhibitrice. 0 : sans effet. -/+ : effet biphasique. D'après [9, 10]).

tissus mésenchymateux, l'activité biologique des IGF dépend étroitement des protéines auxquelles ils sont liés (*binding proteins*, BP), protéines qui sont produites par les ostéoblastes et modulent l'activité des IGF en stabilisant ces facteurs et en bloquant leur liaison aux récepteurs. Il a été ainsi montré que l'IGF BP 4 inhibe la prolifération ostéoblastique induite par l'IGFI et l'IGFII. Bien que les effets des IGF sur les ostéoblastes ne soient pas spécifiques de ces cellules, le fait que ces facteurs soient produits par les cellules osseuses, qu'ils soient abondants dans la matrice osseuse et qu'ils soient actifs sur la prolifération et la différenciation ostéoblastique, suggère que ces facteurs pourraient être impliqués dans la régulation locale de l'ostéoformation.

Le tissu osseux est un site de stockage important pour le TGF β qui est présent dans la matrice osseuse sous trois formes différentes d'activité biologique identique (TGF β 1,2,3). L'activité biologique du TGF β est contrôlée au niveau de sa biosynthèse, de sa séquestration dans la matrice extracellulaire, de sa libération et de son activation locale par

le milieu acide et les protéases. Le TGF β est synthétisé sous forme d'un précurseur inactif et le TGF β actif est libéré par clivage du propeptide à pH acide ou par la plasmine. L'activation du TGF β latent en TGF β actif pourrait se faire dans le microenvironnement acide de la bordure plissée de l'ostéoclaste. Des facteurs ostéorésorbants tels que la PTH, la 1,25(OH) $_2$ D et l'IL1 augmentent la libération du TGF β de la matrice osseuse *in vitro* alors que la calcitonine l'inhibe, ce qui suggère que le TGF β pourrait être un agent de couplage entre les phases de résorption et de formation [11]. Le TGF β a des effets mitogène et chimiotactique sur les ostéoblastes, et stimule l'adhérence cellulaire à la matrice en stimulant la synthèse d'intégrines (récepteurs du collagène de type I, de la fibronectine, laminine, vitronectine, ostéopontine), permettant ainsi le recrutement de nouvelles cellules ostéoblastiques aux sites de formation osseuse. De plus, le TGF β stimule la synthèse de collagène et des protéines non collagéniques, aux niveaux transcriptionnel et posttranscriptionnel. Enfin, le TGF β inhibe la pro-

duction de collagénase et de l'activateur du plasminogène, et augmente celle de l'inhibiteur du plasminogène et des métalloprotéases, ce qui a pour effet d'inhiber la dégradation de la matrice. La présence de TGF β dans la matrice osseuse, la régulation complexe de son activité biologique, l'importance de ses effets mitogène et anabolique, suggèrent fortement que le TGF β pourrait jouer un rôle essentiel dans le contrôle local du remodelage osseux [12].

L'activité biologique des protéines osseuses impliquées dans l'induction de l'ostéogénèse résultant de l'implantation de poudre de matrice osseuse déminéralisée a été en grande partie identifiée. La famille des *bone morphogenetic proteins* (BMP) comprend au moins sept protéines dont six (BMP 2 à 7, dont l'ostéogénine ou BMP3) présentent une forte homologie de structure et de séquence avec le TGF β -1, et ont des effets proches. L'ostéo-induction, *in vivo*, par la poudre d'os déminéralisée semble résulter de l'action combinée de plusieurs BMP ayant des effets additifs, synergiques et complémentaires sur le recrutement et

RÉFÉRENCES

22. Soriano P, Montgomery C, Geske R, Bradley A. Target disruption of the c-src proto-oncogene leads to osteopetrosis in mice. *Cell* 1991; 64: 693-702.
23. Suda T, Takahashi N, Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation. *Endocrinol Rev* 1992; 13: 66-80.
24. Lee MY, Lottsfeldt JL, Fevold KL. Identification and characterization of osteoclast progenitors by clonal analysis of hematopoietic cells. *Blood* 1992; 80: 1710-6.
25. Mbalaviele G, Jullienne A, de Vernejoul MC. Human umbilical cord blood monocytes express calcitonin receptors in culture in the presence of 1,25 dihydroxy-vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72: 356-61.
26. Udagawa N, Takahashi N, Akatsu T, Tanaka H, Sasaki T, Nishihara T, Koga T, Martin TJ, Suda T. Origin of osteoclasts: mature monocytes and macrophages are capable of differentiating into osteoclasts under a suitable microenvironment prepared by bone marrow-derived stromal cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 7260.
27. Yoshida H, Hayashi S, Kunisida T, Ogawa M, Nishikawa S, Okamura H, Sudo T, Shultz LD, Nishidawa S. The murine mutation osteopetrosis is in the coding region of the macrophage colony stimulating factor gene. *Nature* 1990; 345: 442.
28. Gowen M, Wood DD, Ihrie EJ, McGuire MKB, Russell RGG. An interleukin 1 like factor stimulates bone resorption *in vitro*. *Nature* 1983; 306: 378-80.
29. Roodman GD. Interleukin-6: an osteotrophic factor? *J Bone Miner Res* 1992; 7: 475-8.
30. Chenu C, Pfeilschifter J, Mundy GR, Roodman GD. Transforming growth factor beta inhibits formation of osteoclast-like cells in long-term human marrow cultures. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 5683-7.
31. Mbalaviele G, Orcel Ph, Bouizar Z, Jullienne A, de Vernejoul MC. Transforming growth factor- β enhances calcitonin-induced cyclic AMP production and the number of calcitonin receptors in long term cultures of human umbilical cord blood monocytes in the presence of 1,25-dihydroxycholecalciferol. *J Cell Physiol* 1992; 152: 486-94.

la différenciation ostéoblastiques [13]. Des études récentes ont montré que deux autres membres de la famille des TGF β , l'activine et l'inhibine, activent les cellules ostéoblastiques, mais leur rôle éventuel dans la régulation du métabolisme osseux reste inconnu.

L'ostéoclaste et la résorption osseuse

L'ostéoclaste est une volumineuse cellule multinucléée. Il est la seule cellule en charge de la résorption osseuse. Il n'est pas certain que d'autres cellules, en particulier les macrophages, ou des cellules cancéreuses qui résorbent des particules osseuses *in vitro*, puissent résorber l'os *in vivo*.

Au cours des cinq dernières années, un effort considérable a été effectué pour « disséquer » la fonction de résorption ostéoclastique ainsi que sa régulation. Cet effort a été possible grâce à la mise au point de techniques d'isolement d'ostéoclastes à partir d'os de rats ou de lapins et de poules [14,15]. Malgré les difficultés techniques de ces méthodes, l'absence de pureté cellulaire des populations obtenues, la faible viabilité de ces volumineuses cellules détachées de leur environnement osseux physiologique [16], l'avancée permise par ces méthodes a été considérable. Les points fondamentaux de la biologie de l'ostéoclaste qui ont été acquis sont: (1) l'attachement de l'ostéoclaste sur la matrice osseuse qui permet de créer un microcompartiment entre la bordure plissée et l'os; (2) l'acidification et le relargage d'enzymes dans ce compartiment et enfin (3) la mise en évidence de mécanismes autolimitants qui permettent l'arrêt de la résorption.

Il était suspecté depuis fort longtemps qu'une acidification était à l'origine de la dissolution de la phase minérale de la matrice osseuse. On a montré récemment que, dans le microcompartiment situé entre la bordure plissée de l'ostéoclaste et l'os, le pH est d'environ 5. L'ostéoclaste fait donc partie d'un petit groupe de cellules de l'organisme qui sont capables d'excréter des protons grâce à une

« pompe ». La pompe à protons de l'ostéoclaste est de type vacuolaire [17]; son séquençage est en cours et sa composition biochimique exacte n'est pas encore connue. Les protons excrétés sont produits grâce à une anhydrase carbonique de type II cytoplasmique. L'acidité du compartiment situé entre la bordure plissée et l'ostéoclaste permet la dissolution de la phase minérale de la matrice osseuse. La dégradation de la matrice organique se fait aussi à l'extérieur de la cellule [18] et le compartiment acide serait donc un véritable lysosome secondaire contenant les enzymes lysosomiales, principalement les cathepsines L, B et G et les hydrolases.

L'ostéoclaste est une cellule très mobile et son attachement sur la matrice, préalable indispensable à la résorption, se fait par l'intermédiaire de « podosomes » identiques aux points de contacts focaux décrits dans les fibroblastes mobiles, et constitués de taline et de vinculine reliés à des faisceaux d'actine [15]. L'ostéoclaste possède l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ dénommée récepteur de la vitronectine [19], qui a la possibilité de lier les protéines adhésives synthétisées par les ostéoblastes et incorporées dans la matrice osseuse: la thrombospondine, l'ostéopontine et la sialoprotéine osseuse [20]. Un anticorps dirigé contre la chaîne β_3 ou des peptides RGD qui préviennent la liaison de l'intégrine aux protéines matricielles qui contiennent cette séquence, inhibent la résorption par des ostéoclastes isolés. Il faut signaler également que l'ostéoclaste exprime l'ARNm de la sialoprotéine osseuse et pourrait donc produire lui-même une partie de la matrice sur laquelle il adhère. D'une manière intéressante, la résorption ostéoclastique est contrôlée négativement par le calcium extra-cellulaire. L'incubation des ostéoclastes isolés en présence de concentrations élevées de calcium extracellulaire (> 10 mM) entraîne une rétraction cellulaire [15]. On a pu montrer que cela est associé à une augmentation de la concentration intra-cellulaire de calcium, suggérant donc l'existence d'un « récepteur du calcium » sur la membrane de l'ostéoclaste. L'aug-

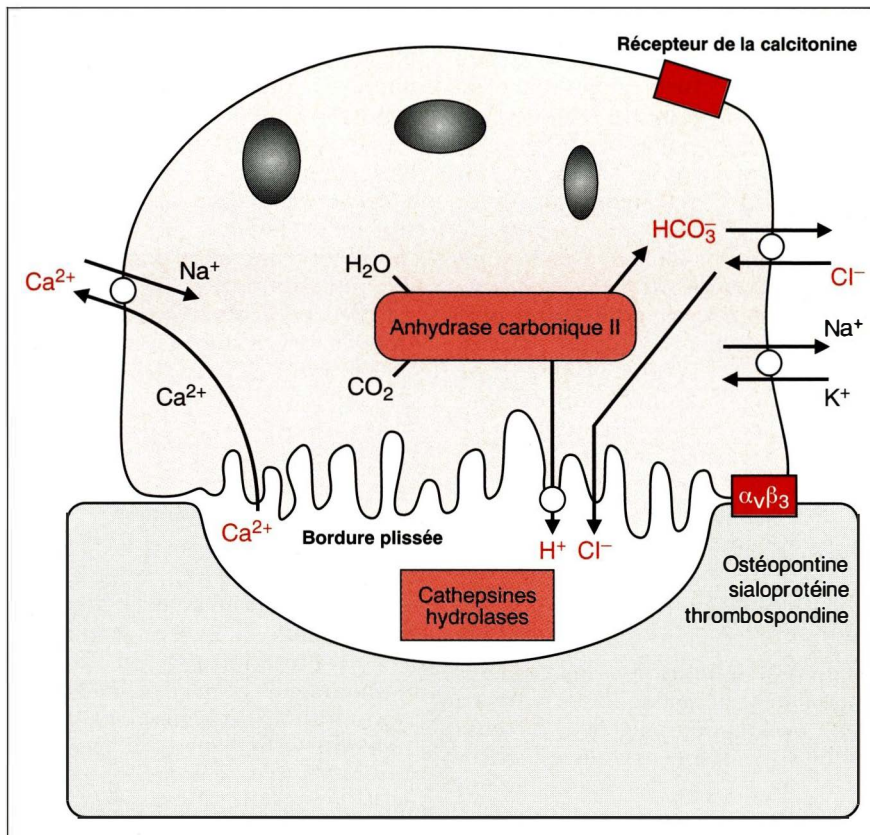


Figure 3. **Activités et échanges ioniques impliqués dans la résorption osseuse.** L'attachement de l'ostéoclaste à la matrice osseuse (l'intégrine $\alpha_v\beta_3$, dénommée récepteur de la vitronectine, a la possibilité de lier les protéines adhésives synthétisées par les ostéoblastes et incorporées dans la matrice osseuse : la thrombospondine, l'ostéopontine et la sialoprotéine) permet de créer un microcompartiment entre la bordure plissée et l'os. L'acidification de ce compartiment a lieu par l'action d'une pompe à protons, et permet la dissolution de la phase minérale de la matrice osseuse. Des enzymes sont aussi sécrétées dans ce compartiment (cathepsines, hydrolases). (D'après [15, 17-19]).

mentation du calcium intracellulaire désorganise les « podosomes » grâce auxquels l'ostéoclaste adhère sur l'os, entraîne le détachement de l'ostéoclaste de la matrice osseuse [15], et donc l'arrêt de la résorption, lorsque la concentration de calcium extracellulaire est identique à celle présente dans le microcompartiment acide situé entre la bordure plissée et l'ostéoclaste, une fois que les cristaux d'hydroxyapatite ont été dissous. Cette régulation négative de l'activité ostéoclastique par le calcium extracellulaire est donc un mécanisme autolimitant de la résorption. Les différents échanges ioniques qui siègent sur la mem-

brane de l'ostéoclaste sont représentés sur la figure 3.

Récemment, il a été montré que des souris transgéniques, dont le proto-oncogène *src* a été délété, présentent comme seule anomalie notable une ostéopétrose, c'est-à-dire une ostécondensation due à une absence de résorption ostéoclastique [21]. Ce résultat a bien sûr initié toute une série de travaux destinés à connaître le rôle de ce proto-oncogène dans la résorption et plus précisément sur la relation entre *c-src*, l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ et la signalisation intracellulaire par la voie du phosphatidylinositol triphosphate. Actuellement, il apparaît que la protéine pp60^{c-src} est expri-

mée de façon importante sur plusieurs membranes cellulaires de l'ostéoclaste [22].

Différenciation ostéoclastique

Depuis les travaux sur la guérison de l'ostéopétrose animale ou humaine par transplantation de moelle, il est certain que les précurseurs ostéoclastiques sont d'origine hématopoïétique. Etant donné que l'ostéoclaste et le macrophage ont tous deux une fonction de dégradation, le débat sur l'origine de l'ostéoclaste au sein des cellules hématopoïétiques s'est focalisé sur les relations entre les précurseurs ostéoclastiques et la lignée monocyttaire/macrophagique (figure 4). Les différences phénotypiques majeures entre les cellules géantes obtenues par fusion *in vitro* et *in vivo* des macrophages et l'ostéoclaste sont : (1) la résistance à l'acide tartrique des phosphatases acides des ostéoclastes, alors que les cellules géantes sont sensibles au tartrate ; (2) la présence de récepteurs de la calcitonine uniquement sur l'ostéoclaste ; (3) la présence de l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ sur l'ostéoclaste alors que les macrophages expriment essentiellement les intégrines ayant une chaîne β_2 ; (4) l'absence sur l'ostéoclaste des produits du gène *HLA-DR* et de récepteur du complément qui sont exprimés par les macrophages [23]. Par ailleurs, le macrophage dégrade les éléments phagocytés et non ceux situés à l'extérieur des cellules, comme peut le faire l'ostéoclaste, et ne possède donc pas de pompe à protons sur sa membrane cytoplasmique.

Un certain nombre d'auteurs tiennent pour assuré, d'après les résultats de divers modèles de culture utilisant des macrophages ou des cellules médullaires, que le précurseur ostéoclastique émerge de la voie de différenciation des cellules hématopoïétiques entre CFU-GM* et CFU-M*. Certains travaux suggèrent même qu'il existerait un CFU-O* [24]. Nous avons pu montrer, en utilisant des monocytes humains issus de sang du cordon ombilical, que des cellules ayant des caractéris-

* voir glossaire, p. 1203.

RÉFÉRENCES

32. Oursler MJ, Osdoby P, Pyfferoen J, Riggs BL, Spelsberg TC. Avian osteoclasts as estrogen target cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 6613-7.
33. Pacifici R, Rifas L, McCracken R, Vered I, McMurtry C, Avioli LV, Peck WA. Ovarian steroid treatment blocks a postmenopausal increase in blood monocyte interleukin-1 release. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 2398-402.
34. Cohen-Solal M, Graulet AM, Dene Ma, Gueris J, Baylink D, DeVernejoul MC. Peripheral monocyte culture supernatants of menopausal women can induce bone resorption : involvement of growth factors. *J Clin Endocrinol Metab* 1993 (sous presse).
35. Girasole G, Jilka RL, Passeri G, Boswell S, Boder G, Williams DC, Manolagas SC. 17β -estradiol inhibits interleukin-6 production by bone marrow-derived stromal cells and osteoblasts *in vitro* : a potential mechanism for the antiosteoporotic effect of estrogens. *J Clin Invest* 1992 ; 89 : 883-91.
36. Jilka RL, Hangoc G, Girasole G, Passeri G, Williams DC, Abrams JS, Boyce B, Broxmeyer H, Manolagas SC. Increased osteoclast development after estrogen loss : mediation by interleukin-6. *Science* 1992 ; 257 : 87-91.
37. Marie PJ, de Vernejoul MC, Connes D, Hott M. Decreased DNA synthesis by cultured osteoblastic cells in eugonadal osteoporotic men with defective bone formation. *J Clin Invest* 1991 ; 88 : 1167-72.
38. Marie PJ, Sabbagh A, de Vernejoul MC, Lomri A. Osteocalcin and deoxyribonucleic acid synthesis *in vitro* and histomorphometric indices of bone formation in postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1989 ; 69 : 272-9.
39. Marie PJ, Hott M, Launay JM, Graulet AM, Guéris J. *In vitro* production of cytokines by bone surface-derived osteoblastic cells in normal and osteoporotic postmenopausal women : relationship with cell proliferation. *J Clin Endocrinol Metab* 1993 ; 77 : 824-30.
40. Kalu DN. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Min* 1991 ; 15 : 175-92.
41. Modrowski D, Miravet L, Feuga M, Marie PJ. Increase proliferation of osteoblast precursor cells in estrogen deficient rats. *Am J Physiol* 1993 ; 27 : 190-6.
42. Lomri A, Marie PJ. Bone cell responsiveness to transforming growth factor β , parathyroid hormone, and prostaglandin E_2 , in normal and postmenopausal osteoporotic women. *J Bone Miner Res* 1992 ; 5 : 1149-55.
43. Fedarko NS, Vetter UK, Weinstein S, Gehron Robey P. Age-related changes in hyaluronan, proteoglycan, collagen, and osteonectin synthesis by human bone cells. *J Cell Physiol* 1992 ; 151 : 215-27.

tiques du phénotype ostéoclastique pouvaient se différencier si la culture était effectuée en présence de $1,25$ dihydroxyvitamine D qui est un facteur indispensable de différenciation, quel que soit le système *in vitro* utilisé [25]. Ces résultats suggèrent donc que le précurseur ostéoclastique émerge au même niveau, voire même en amont du CFU-M. Il semble également que, pour qu'un phénotype complet soit induit *in vitro*, la présence de matrice osseuse et de cellules ostéoblastiques, ou de leur précurseurs, soit indispensable. En utilisant des macrophages alvéolaires murins, en présence de lignées de cellules stromales d'origine osseuse, le groupe de Suda a pu montrer l'induction de cellules ayant des caractéristiques phénotypiques ostéoclastiques [26].

Bien qu'il semble que les contacts intercellulaires soient importants, ce sont essentiellement des facteurs solubles synthétisés par les ostéoblastes et/ou les cellules stromales qui sont impliqués dans la différenciation ostéoclastique. Une variété d'ostéopétrose animale, la mutation *op/op* de la souris, a permis de montrer qu'un de ces facteurs solubles ostéoblastiques est le M-CSF. La mutation *op/op* ne peut être guérie par transplantation de moelle : on peut en déduire que cette ostéopétrose n'est sans doute pas liée à une anomalie du précurseur ostéoclastique hématopoïétique lui-même, mais plutôt à une anomalie du microenvironnement dans lequel celui-ci se différencie. Yoshida *et al.* ont montré qu'il existait une mutation sur le gène du M-CSF chez les souris *op/op* [27] et l'injection de M-CSF permet de guérir l'ostéopétrose de la souris *op/op*. Il apparaît donc clairement que le M-CSF est indispensable à la différenciation ostéoclastique. Il n'en reste pas moins qu'il est vraisemblable que d'autres cytokines ostéoblastiques puissent être impliquées dans ce processus.

Régulation de la résorption

A la suite des travaux utilisant des ostéoclastes isolés de poulet ou de rat, il est apparu que la résorption ostéoclastique était majoritairement

réglée lors de la différenciation cellulaire, et que peu de facteurs systémiques ou locaux avaient un effet direct sur l'ostéoclaste mûr (*figure 1*). Les deux seuls facteurs qui agissent directement sur les ostéoclastes sont la calcitonine, dont les ostéoclastes expriment environ un million de sites récepteurs, et la prostaglandine E_2 , qui diminuent la résorption [14,16]. Tous deux augmentent le contenu des cellules en AMPc. Malgré quelques travaux récents, on n'a toujours pas la preuve que les ostéoclastes aient des récepteurs de la parathormone, mais le récent clonage de ce récepteur permettra sans doute de lever les doutes.

Les facteurs de croissance et les cytokines agissent tous au niveau de la différenciation ostéoclastique et presque tous, à l'exception du TGF β et de l'interféron γ , ont un rôle activateur sur celle-ci. L'IL1, à des concentrations extrêmement faibles, augmente le recrutement ostéoclastique [28] par son action positive sur la prolifération des précurseurs. Elle est le composant majeur de l'activité OAF (*osteoclast activating factor*) qui avait été décrite dans les surnageants de cellules mononucléées sanguines activées. L'IL6, produite en grande quantité par les ostéoblastes, a un rôle prolifératif sur les précurseurs très précoces des ostéoclastes mais est sans effet, ou uniquement à des concentrations très élevées (20ng/ml), sur la résorption dans les systèmes classiques de culture de tissu osseux contenant des ostéoclastes déjà mûrs ou des précurseurs tardifs [26]. L'hypersécrétion d'IL6 pourrait être un des facteurs responsables de l'ostéolyse dans le myélome, et, comme nous le reverrons, de la perte osseuse de la ménopause.

Le TGF β a un rôle complexe sur la résorption ostéoclastique, comme le montrent ses effets, soit activateurs, soit inhibiteurs, de la résorption obtenus dans les cultures de tissu osseux. *In vivo*, seul le TGF β relargué de l'os lors de la résorption peut être actif sur les cellules osseuses puisque le pH acide du microcompartiment situé sous la bordure plissée, et l'activateur du plasminogène produit par l'ostéoclaste, peuvent cliver le TGF β latent incorporé

dans la matrice en TGF β activé. Le TGF β diminue la prolifération des précurseurs ostéoclastiques comme celle de la majorité des cellules hématopoïétiques [30], diminuant donc ainsi le nombre de cellules *osteoclast-like* émergeant dans les modèles de différenciation. En revanche, ce facteur augmente le phénotype ostéoclastique sur ces cellules, suggérant un effet positif sur la différenciation [31].

De nombreuses autres cytokines, détaillées dans le *Tableau I*, influent sur la résorption et sont les médiateurs présumés des pertes osseuses localisées ou généralisées qui surviennent lors du cancer, des inflammations articulaires ou dans les périodontopathies.

Cellules osseuses et vieillissement

La perte osseuse trabéculaire qui survient rapidement par suite de la carence œstrogénique chez la

femme après la ménopause est consécutive à un déséquilibre entre l'activité de résorption et de formation de la matrice osseuse. Bien que les deux activités restent couplées, la formation osseuse au niveau de chaque unité de remodelage reste insuffisante pour combler l'excès de résorption. L'augmentation cumulée du déficit osseux a pour conséquence le percement, puis la disparition progressive des travées osseuses qui sont à l'origine de l'apparition de fractures vertébrales.

L'augmentation de la résorption osseuse en carence œstrogénique pourrait avoir pour origine une augmentation de la production locale de certaines cytokines. Alors qu'un dogme voulait qu'il n'y ait pas de récepteurs des œstrogènes sur les ostéoclastes, des résultats récents montrent que les ostéoclastes de poulet possèdent un récepteur fonctionnel des œstrogènes [32]. Ces résultats ne pouvaient être d'emblée extrapolés à l'homme, mais cette

même équipe vient de montrer que sur les cellules humaines de type ostéoclastique obtenues à partir de tumeurs à cellules géantes, il existe également des récepteurs des œstrogènes. Il ne peut être affirmé que les précurseurs ostéoclastiques ne présentent pas de récepteurs des œstrogènes; cependant, les différents modèles de différenciation ne permettent pas de montrer un effet direct des œstrogènes sur le recrutement ostéoclastique. L'hypothèse de travail de nombreux groupes est donc que la modulation par les œstrogènes de la sécrétion de cytokines ostéoblastiques ou macrophagiques peut être responsable de l'augmentation de la différenciation ostéoclastique lors de la ménopause.

Toute une série de travaux ont montré les effets des œstrogènes sur la production de cytokines par les monocytes circulants. Le schéma pathologique envisagé est le suivant: il existe près de la surface osseuse des monocytes ou des macrophages médullaires dont la sécrétion pourrait influencer la différenciation ostéoclastique et dont les monocytes circulants refléteraient l'activité. Il a ainsi été montré qu'en post-ménopause, mais aussi chez certaines femmes plus âgées ayant une ostéoporose, la production d'une activité IL1 par des monocytes non activés était augmentée [33]. La production d'IL1 refléterait l'état d'activation de la cellule par les produits de dégradation de la matrice osseuse et plus spécialement par le collagène, et serait inhibée par les anticorps dirigés contre la chaîne α_2 des intégrines qui relaie l'adhérence des monocytes au collagène I. Si cette hypothèse était exacte, la production de cytokines par les monocytes circulants non activés ne contribuerait pas à élucider l'hyper-résorption de la ménopause, mais n'en serait que la conséquence. D'autres groupes n'ont pas retrouvé ces résultats mais ont observé que la production de TNF α par les monocytes circulants était augmentée en post-ménopause récente. Nous avons observé la présence d'une activité de résorption importante dans les surnageants de monocytes activés par le lipopolysaccharide de femmes récemment

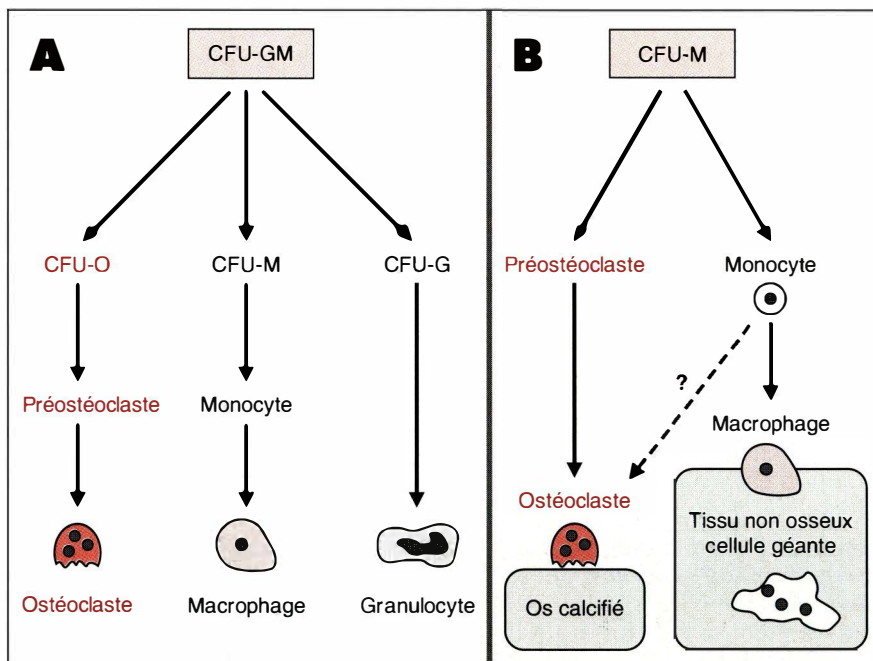


Figure 4. **Schéma hypothétique de la différenciation ostéoclastique.** **A.** Les CFU-GM donneraient naissance à trois lignées cellulaires, les granulocytes qui se différencieraient à partir des CFU-G, les macrophages qui se différencieraient à partir des CFU-M et les ostéoclastes qui se différencieraient à partir d'une cellule souche particulière (CFU-O). (D'après Suda et al. [23]). **B.** Les CFU-M donneraient naissance aux macrophages et aux ostéoclastes. (D'après Mbalaviele et al. [25]).

ménopausées, et montré que cette activité est liée principalement au relargage de $\text{TNF}\alpha$. Chez les femmes traitées par des œstrogènes, mais non chez celles recevant un autre traitement diminuant la résorption osseuse (diphosphonate) [34], ces valeurs revenaient à la normale. Il apparaît donc que, lors de la ménopause, il existe une augmentation de la production de certaines cytokines ayant une activité sur le recrutement ostéoclastique. Peu de cytokines ou de facteurs de croissance produits par les ostéoblastes, et réglant la différenciation ostéoclastique, sont modulés par les œstrogènes. La production de $\text{TGF}\beta$ par les ostéoblastes humains est augmentée par le 17β -œstradiol; par son effet négatif sur la prolifération des précurseurs, le $\text{TGF}\beta$ pourrait donc être un des médiateurs de l'accroissement de la résorption survenant lors de la ménopause, mais cette hypothèse n'est étayée par aucun résultat à l'heure actuelle. En revanche, les résultats obtenus chez la souris avec l'IL6 produite par les cellules stromales sont très clairs. Le 17β -œstradiol diminue très nettement les taux d'ARN messager de l'IL6 et le relargage de l'IL6 stimulé par le $\text{TNF}\alpha$ ou l'IL1 [35]. Par ailleurs, *in vivo*, un anticorps anti-IL6 bloque l'accroissement de la résorption secondaire à l'ovariectomie chez la souris [36]. L'IL6 pourrait donc être un des facteurs responsables de la perte osseuse de la ménopause.

Si certains mécanismes responsables de l'augmentation de la résorption osseuse en carence œstrogénique sont maintenant mieux connus, les causes de l'insuffisance relative de la formation osseuse par rapport à la résorption restent hypothétiques. L'utilisation de cultures de cellules ostéoblastiques dérivées de la surface de l'os trabéculaire et le développement d'études comparatives *in vivo/in vitro* de la fonction ostéoblastique nous ont permis d'apprécier les mécanismes cellulaires impliqués dans le processus de formation osseuse normale et pathologique. Les cellules précurseurs des ostéoblastes présentes le long de la surface de l'os trabéculaire ont des caractéristiques phénotypiques ostéo-

blastiques et nous avons montré que l'activité de formation osseuse *in vivo* dépend étroitement de la capacité de prolifération de ces cellules. Ces données ont été obtenues dans trois grands types de maladies métaboliques osseuses, l'ostéodystrophie rénale, l'ostéoporose postménopausique et l'ostéoporose idiopathique de l'homme. Chez les hommes jeunes ostéoporotiques, la perte osseuse trabéculaire provenant d'une diminution de la formation osseuse résulte d'une trop faible capacité de prolifération de ces précurseurs ostéoblastiques, altération pouvant résulter des effets d'un excès de prise d'alcool, du tabagisme ou d'autres facteurs encore non identifiés [37]. La diminution relative de la formation osseuse au niveau tissulaire chez la femme ménopausée ostéoporotique provient également d'un défaut de prolifération des précurseurs ostéoblastiques bordant la surface de l'os trabéculaire [38]. Ces résultats ont été confirmés par le fait qu'une augmentation du nombre de cellules précurseurs ostéoblastiques induite par un traitement fluoré chez des patients ostéoporotiques résulte en une augmentation de l'ostéof ormation, alors que cet effet mitogène n'est pas retrouvé chez les patients ne présentant pas de réponse histologique au fluor. Nous avons récemment montré que les différences de prolifération cellulaire sont associées à des variations de production de cytokines par les ostéoblastes [39]. Ces données montrent que la diminution de la capacité de prolifération des cellules précurseurs ostéoblastiques est à l'origine de la diminution relative de la formation osseuse qui contribue à la perte osseuse trabéculaire chez les femmes ostéoporotiques à bas niveau de remodelage.

Bien que de nombreux modèles animaux aient été proposés, on ne dispose pas actuellement de modèle dans lequel l'ostéopénie expérimentale soit équivalente à la perte osseuse caractérisant l'ostéoporose postménopausique humaine. L'ovariectomie chez la rate induit une augmentation de la résorption osseuse supérieure à la formation osseuse, ce qui conduit très rapidement à une perte osseuse trabécu-

laire [40]. Nous avons récemment montré que la carence œstrogénique chez la rate induit une augmentation de la prolifération cellulaire des cellules précurseurs ostéoblastiques issues de la surface osseuse ainsi que du stroma médullaire [41]. Cette augmentation est cependant insuffisante pour compenser l'activité de résorption. Ce modèle devrait nous permettre de pouvoir déterminer les facteurs locaux responsables des modifications des activités cellulaires et les causes du déséquilibre entre la résorption et la formation osseuses en carence œstrogénique. En effet, les mécanismes par lesquels la prolifération ostéoblastique est altérée au cours de certaines formes d'ostéoporose restent méconnus. L'existence d'un déséquilibre entre l'activité de résorption ostéoclastique et la formation ostéoblastique dans l'ostéoporose postménopausique suggère, soit qu'un facteur de croissance local n'est pas libéré au cours de la résorption, soit que les cellules ostéoprogénitrices présentent un défaut de réponse à ce facteur ou à certains facteurs systémiques. Nous avons cependant montré que la réponse ostéoblastique à la PTH, à la prostaglandine E_2 et au $\text{TGF}\beta$ est normale dans l'ostéoporose [42]. La faible prolifération des cellules ostéoblastiques provenant de femmes ostéoporotiques — dont la capacité de remodelage est basse — pourrait être attribuée à une diminution de la production locale de facteurs de croissance à effet autocrine/paracrine, avec pour conséquence une diminution relative de la prolifération des cellules précurseurs ostéoblastiques et, par la suite, du nombre d'ostéoblastes différenciés. Ces mécanismes pourraient ne pas s'appliquer à la période qui suit la ménopause pendant laquelle les activités de résorption et de formation osseuses sont élevées, du fait de l'augmentation probable de la production locale de cytokines. Une telle augmentation des taux locaux de ces cytokines au cours de la période immédiatement postménopausique pourrait être à l'origine d'une stimulation transitoire de l'ostéof ormation, malgré la carence œstrogénique et ses répercussions

sur la synthèse de facteurs de croissance ostéoblastiques. En revanche, avec l'âge, l'activité de formation de l'os trabéculaire diminue progressivement. La culture de cellules ostéoblastiques humaines, isolées de sujets normaux d'âge croissant, a permis en effet de mettre en évidence une diminution avec l'âge du nombre de cellules, de la production d'ostéocalcine, de collagène et de protéoglycanes par ces cellules [43]. Cette diminution de la prolifération et de la différenciation cellulaire ostéoblastique au cours du vieillissement pourrait être à l'origine de la diminution de la formation osseuse avec l'âge.

Ainsi, les données expérimentales et cliniques obtenues au cours de ces dernières années ont permis d'identifier certains facteurs qui pourraient être impliqués dans la diminution de la formation osseuse relativement à l'activité de résorption au cours du vieillissement ou pendant la période postménopausique. La recherche des mécanismes cellulaires de la perte osseuse chez l'animal en carence œstrogénique, ainsi que l'étude des effets cellulaires des différentes cytokines impliquées permettront sans doute de mieux comprendre la physiopathologie des ostéoporoses et, peut-être, d'élaborer

de nouvelles stratégies de traitement. L'importance de ces recherches apparaît primordiale, compte tenu du vieillissement progressif de la population occidentale ■

* GLOSSAIRE *

endoste : fine membrane conjonctive qui tapisse la cavité médullaire des os longs et des travées du tissu osseux spongieux

périoste : membrane fibreuse qui entoure les os et a un rôle important dans la nutrition et la croissance en épaisseur des os

séquence RGD : séquence Arg-Gly-Asp, impliquée dans l'adhérence cellulaire

CFU-GM, CFU-M, CFU-O : cellules hématopoïétiques peu différenciées, colony forming unit-granulocyte, macrophage, -macrophage, -osteoclast.

TIRÉS A PART

M.-C. de Vernejoul.

Summary

Bone cells and bone remodeling

Recent data have shown that bone remodeling is a complex process, involving multiple components. These include cells of various origin, a calcified extracellular matrix and numerous factors regulating cellular activities, tissue formation and degradation. Bone resorption and formation activities are regulated at various levels during the course of bone cell differentiation. These activities are ensured by various hormones, many of them having indirect effects on bone cells through the production of local factors. Various cytokines and growth factors have been shown to affect bone cells proliferation and differentiation and these effects are modulated by many hormones. Cells of the osteoblastic lineage may play an important role in the regulation of bone remodeling as they synthesize a number of local factors affecting osteoclasts. These cells are also involved in the first steps of matrix degradation, allowing thus osteoclast attachment to the bone matrix. Some local growth factors are incorporated into the bone matrix and may serve as coupling agents between bone resorption and formation. The precise contribution of these factors during the process of bone remodeling in normal conditions and ageing is, however, unclear.