

# LE RÔLE DE LA RÉGULATION MÉTABOLIQUE DANS LE FONCTIONNEMENT DES CELLULES DU SQUELETTE

**Nick van Gestel**

Département Métabolisme cellulaire & Microenvironnement, Institut de Duve, Bruxelles

Les fonctions du squelette comprennent le soutien mécanique, la locomotion, la production de cellules sanguines, le stockage des minéraux et la régulation hormonale. Cette polyvalence est assurée par une interaction entre les cellules osseuses, celles du cartilage ainsi que celles du tissu conjonctif, toutes dérivées des cellules souches du squelette. Des études récentes démontrent l'importance du métabolisme intermédiaire des cellules squelettiques pour la régulation de leur fonction. Les différents types de cellules squelettiques ont non seulement différentes exigences métaboliques en ce qui concerne leur fonction spécifique, mais sont également influencés par la disponibilité des nutriments dans leur microenvironnement. Cet article passe en revue les découvertes récentes concernant le rôle de métabolites spécifiques et de programmes métaboliques dans la formation et le fonctionnement des différents types de cellules squelettiques. Nous aborderons également le dérèglement métabolique associé au vieillissement du squelette et aux maladies dégénératives.

## INTRODUCTION

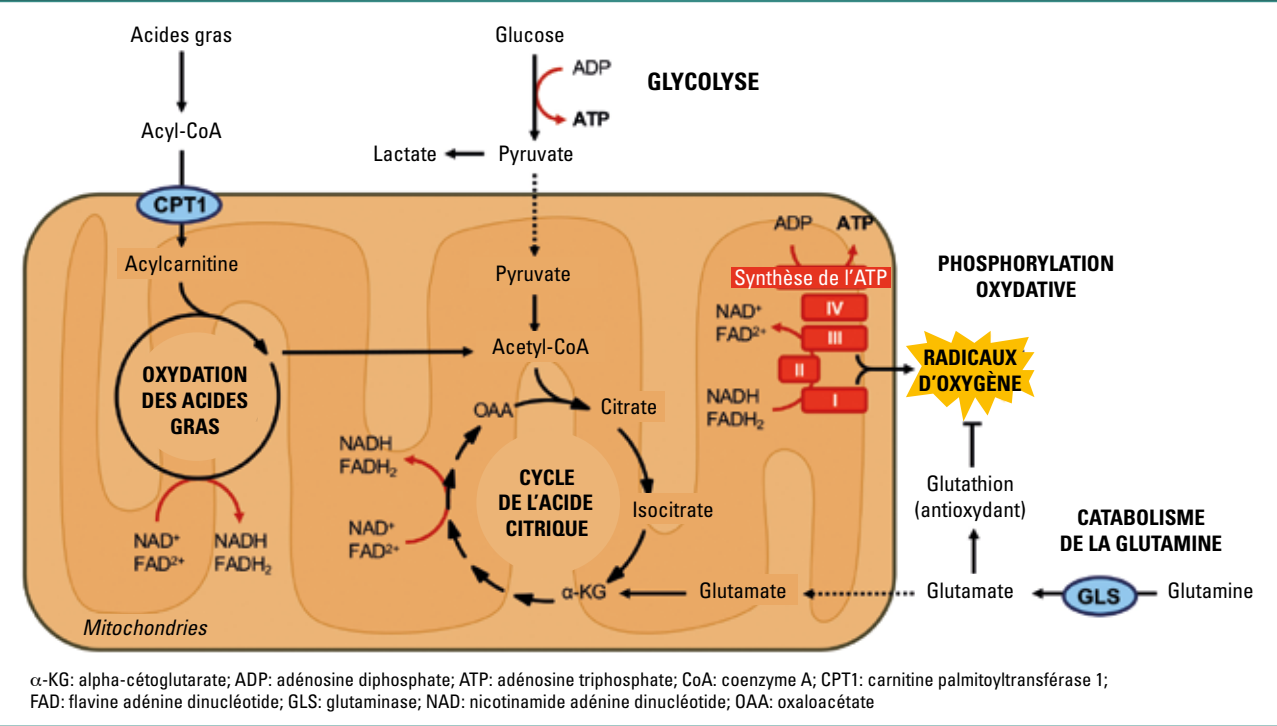
Le métabolisme cellulaire ou métabolisme intermédiaire est le sous-domaine de la biochimie qui traite du réseau étendu et hautement intégré de réactions biochimiques qui fournissent aux cellules de l'énergie, des intermédiaires biosynthétiques et la capacité réductrice pour les réactions d'oxydoréduction (**Figure 1**). L'élucidation des principaux mécanismes biochimiques qui assurent le fonctionnement des cellules a occupé certains des plus grands esprits scientifiques depuis près de 2 siècles. Une fois cet objectif atteint, la communauté biochimique au sens large ne s'y est plus intéressée, et le métabolisme cellulaire a été considéré comme un problème résolu. Ce domaine a toutefois bénéficié d'un regain d'intérêt ces dernières années grâce à plusieurs découvertes inattendues qui ont fait passer le métabolisme intermédiaire d'un processus autonome à un système central affectant tous les aspects de la fonction cellulaire, de la croissance, la division et la mort cellulaires jusqu'à l'épigénétique et la formation des tumeurs (1). Le métabolisme intermédiaire joue également un rôle important dans les cellules du squelette, dont vous avez un aperçu ici.

## COÛTS MÉTABOLIQUES DE LA FORMATION OSSEUSE

La formation et le maintien du squelette sont le résultat d'une coopération coordonnée entre différents types de cellules. Les ostéoblastes sont les cellules responsables de la formation osseuse, qui créent une matrice caractéristique riche en collagène et la minéralisent ensuite pour donner leur solidité aux os. Au cours du processus d'ossification, une partie des ostéoblastes s'intègrent à la matrice osseuse, après quoi ils sont appelés ostéocytes (2).

La synthèse des protéines est un processus exigeant sur le plan métabolique. De ce fait, les ostéoblastes ont besoin de grandes quantités d'énergie et d'acides aminés. Les ostéoblastes qui élaborent la matrice sont souvent localisés à proximité des vaisseaux sanguins, ce qui indique un apport suffisant en oxygène et en nutriments (3). Des études menées sur des souris avec des analogues du glucose radio-marqués ont montré que l'absorption du glucose par le squelette est égale ou supérieure à celle des organes métaboliques tels que le foie, les muscles et le tissu adipeux (4). Pour produire de l'énergie, les cellules convertissent le glucose en pyruvate, un processus appelé glycolyse.

Figure 1: Aperçu de quelques réactions biochimiques importantes du métabolisme intermédiaire. Les cellules absorbent divers nutriments (glucose, acides gras, glutamine) de leur environnement direct et les transforment en énergie (sous forme d'ATP), en intermédiaires de biosynthèse, en antioxydants et en molécules redox.



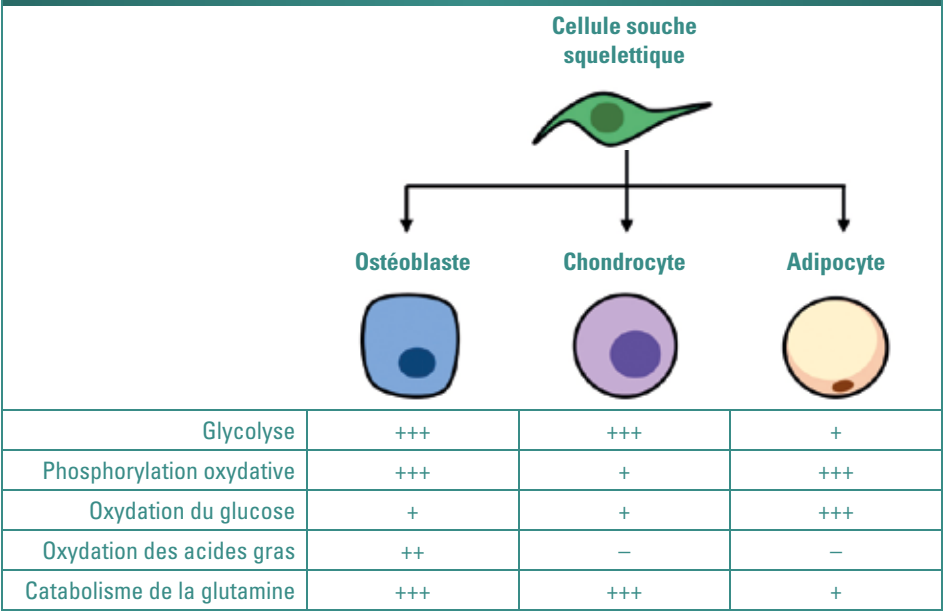
Le pyruvate est ensuite oxydé dans le cycle mitochondrial de l'acide citrique, produisant de grandes quantités d'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP) par phosphorylation oxydative. La glycolyse proprement dite produit, outre des intermédiaires pour la biosynthèse, de petites quantités d'ATP.

Lorsque la quantité d'oxygène est insuffisante pour l'oxydation du pyruvate, les cellules peuvent convertir le pyruvate en lactate (acide lactique) et l'excréter pour faire fonctionner la glycolyse rapidement tout en continuant à produire suffisamment d'énergie. Toutefois, des expériences menées sur des cultures de cellules montrent que la majeure partie du glucose absorbée par les ostéoblastes est métabolisée en lactate, même en présence d'une quantité suffisante d'oxygène, un processus connu sous le nom de glycolyse aérobie. Dans les ostéoblastes adultes, la glycolyse aérobie peut représenter jusqu'à 80% de la production d'énergie. On

estime que dans ces conditions, seulement 15 à 20% du glucose-carbone arrive dans le cycle de l'acide citrique ou dans les processus de biosynthèse (5, 6). Les stimuli anaboliques tels que la signalisation de la parathormone (PTH) et Wnt augmentent l'expression des enzymes glycolytiques dans les ostéoblastes, favorisant ainsi l'ossification (5, 7).

Les ostéoblastes sont dépendants de la glycolyse, mais une forte augmentation de la consommation d'oxygène, liée à

Figure 2: Comparaison des programmes métaboliques des ostéoblastes, des chondrocytes et des adipocytes.



une production accrue d'ATP, peut également être observée au cours de la différenciation ostéogénique des cellules souches du squelette murin et humain dans des cultures cellulaires (8) (**Figure 2**). L'inhibition du facteur de transcription PGC1 $\alpha$  (PPAR- $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$ ), un régulateur clé de la biogénèse mitochondriale et du métabolisme oxydatif, dans les cellules souches du squelette réduit la différenciation ostéogénique et induit une ostéoporose chez les souris (9). Parallèlement à une augmentation de la phosphorylation oxydative, la différenciation ostéogénique des cellules souches s'accompagne d'une augmentation de la capacité antioxydante (8). Par conséquent, les ostéoblastes, à l'inverse des cellules souches du squelette, sont sensibles au blocage de la phosphorylation oxydative ou à l'augmentation du stress oxydatif sous forme de radicaux oxygénés (8, 9).

Bien que les ostéoblastes soient capables d'oxyder le glucose, ce dernier ne semble pas être un substrat majeur pour l'activité du cycle de l'acide citrique mitochondrial (5, 10), ce qui suggère un rôle pour d'autres nutriments. On sait depuis longtemps que l'oxydation des acides gras joue un rôle important dans le métabolisme énergétique des ostéoblastes. Par le passé, des études biochimiques ont montré que jusqu'à 40% de la production d'ATP dans les ostéoblastes peut provenir de l'oxydation des acides gras (11). Des études plus récentes confirment que les ostéoblastes expriment les récepteurs et les enzymes cataboliques nécessaires à la combustion des acides gras (10, 12).

Nos études démontrent en outre que les cellules souches du squelette murin peuvent survivre dans des environnements pauvres en graisses ou après inhibition de la CPT1a (carnitine palmitoyltransférase 1a), l'enzyme clé de l'oxydation des acides gras, mais ne peuvent plus se différencier en ostéoblastes dans ce type de situations (10). Kim et al. ont également démontré que la perte de CPT2 dans les ostéoblastes adultes réduit l'ossification en perturbant la minéralisation (12). Les effets étaient plus marqués en présence d'estrogènes, qui favorisent l'oxydation des acides gras au détriment de la glycolyse. La signalisation Wnt favorise également l'oxydation des acides gras dans les ostéoblastes (13). Reste encore à déterminer le rôle exact de l'oxydation des acides gras dans les ostéoblastes, qu'il s'agisse de la production d'énergie, de la biosynthèse ou de la régulation épigénétique.

Outre les acides gras, l'activité du cycle de l'acide citrique dans l'ostéoblaste est également alimentée par la glutamine. L'inhibition de l'enzyme glutaminase qui dégrade la glutamine (GLS) dans les cellules souches du squelette murin réduit le développement des ostéoblastes et

l'ossification (14). Les cellules souches du squelette tant murin qu'humain augmentent leur consommation et leur métabolisme de glutamine pendant la différenciation ostéogénique en culture cellulaire, tandis que l'absence de glutamine dans le milieu ou l'inhibition de l'enzyme GLS empêche la différenciation ostéogénique (14). Une nouvelle étude du laboratoire du professeur Geert Carmeliet, de la KU Leuven, montre que la glutamine est nécessaire dans les ostéoblastes pour la synthèse des nucléotides et des acides aminés, afin de soutenir la croissance cellulaire et la production de la matrice, ainsi que pour la génération d'antioxydants qui empêchent le stress oxydatif et la mort cellulaire (15). Comme pour la glycolyse, le catabolisme de la glutamine dans les ostéoblastes augmente en réponse à la signalisation PTH et Wnt, ce qui favorise l'ossification sur le plan métabolique (15, 16).

### LE MICRO-ENVIRONNEMENT UNIQUE DU CARTILAGE

Un deuxième type de cellule important dans le squelette est le chondrocyte, qui forme le cartilage que l'on retrouve notamment dans les articulations, les côtes, le nez, la trachée et les oreilles. Les chondrocytes jouent également un rôle clé dans le développement osseux et la guérison des fractures, en formant un intermédiaire cartilagineux avant d'être remplacé par l'os (1).

#### L'oxydation des acides gras joue un rôle important dans le métabolisme énergétique des ostéoblastes.

Le cartilage est l'un des rares tissus non vascularisés du corps humain, ce qui crée des défis uniques en matière de disponibilité des nutriments et d'élimination des déchets. La diffusion est la principale forme de propagation des métabolites dans la matrice du cartilage, qui contient jusqu'à 80% d'eau, ce qui signifie que les petites molécules comme le glucose ou les acides aminés sont plus facilement disponibles que les grosses molécules telles que les graisses (10). L'absence de vaisseaux sanguins dans le cartilage peut créer des conditions d'important déficit en oxygène (hypoxie) (17) entraînant ainsi l'activation du facteur 1 $\alpha$  induit par l'hypoxie (HIF1 $\alpha$ ). L'activation du facteur HIF1 $\alpha$  favorise la différenciation chondrogénique en augmentant le facteur de transcription clé SOX9, améliore la survie des chondrocytes et soutient la glycolyse anaérobie en induisant la transcription des principales enzymes glycolytiques. La glycolyse est la principale mission de la présence de glucose dans le cartilage, et les chondrocytes génèrent la plupart de leur ATP (> 60%) par le biais de ce processus. Il n'en demeure pas moins que l'oxydation du glucose est nécessaire aussi pour éviter les problèmes énergétiques: la suractivation du facteur HIF1 $\alpha$  dans les chondrocytes chez la souris diminue l'oxydation du glucose et entraîne la dysplasie du squelette en diminuant la mitose et en perturbant la biosynthèse du collagène (18).

Contrairement aux ostéoblastes, l'oxydation des acides gras ne semble pas jouer un rôle majeur dans le métabolisme des chondrocytes. Ni le développement ni la survie des chondrocytes murins ne dépendent de l'oxydation des acides gras, et un excès de graisses dans le micro-environnement des cellules souches squelettiques empêche la différenciation de ces dernières en chondrocytes en réduisant l'expression du gène SOX9 (10). À son tour, le gène SOX9 agit comme un régulateur métabolique dans les chondrocytes en inhibant l'oxydation des acides gras et en favorisant le métabolisme de la glutamine. Cependant, la glutamine n'est pas utilisée par les chondrocytes pour la production d'ATP, mais pour soutenir la régulation épigénétique, la production d'intermédiaires biosynthétiques pour la croissance cellulaire et la production de matrice, ainsi que pour la génération d'antioxydants (19).

Les chondrocytes présentent donc des altérations métaboliques qui leur permettent de se multiplier et de produire de grandes quantités de matrice avec un apport limité de nutriments (**Figure 2**). Le glucose et la glutamine semblent être les substrats préférés du métabolisme des chondrocytes qui dépendent uniquement de la diffusion, bien que la participation d'autres nutriments mineurs capables de se diffuser à travers la matrice unique du cartilage ne puisse pas être exclue.

#### INTERACTIONS MÉTABOLIQUES DANS LA MOELLE OSSEUSE

La cavité médullaire contient encore deux autres types de cellules squelettiques: les adipocytes médullaires ainsi que les cellules stromales de soutien de l'hématopoïèse (20, 21). Les adipocytes médullaires (cellules graisseuses de la moelle osseuse) présentent des caractéristiques uniques par rapport aux autres cellules adipeuses de l'organisme. Ils contribuent aux processus métaboliques locaux et systémiques, notamment la formation des cellules sanguines, l'ossification et le métabolisme énergétique. Différentes études ont montré que les ostéoblastes et les adipocytes médullaires se développent à partir d'une cellule précurseur commune, ce qui a donné lieu au concept selon lequel la formation des cellules graisseuses se fait au détriment de la différenciation en ostéoblastes (20). Toutefois, les adipocytes médullaires produisent également un grand nombre de facteurs susceptibles d'avoir des répercussions aussi bien négatives que positives sur la fonction des ostéoblastes. Ainsi, la parathormone stimule les adipocytes médullaires à libérer des acides gras, qui sont ensuite absorbés par les ostéoblastes, ce qui démontre que la relation entre ces deux types de cellules est complexe (22).

**Le glucose et la glutamine semblent être les substrats préférés du métabolisme des chondrocytes.**

Pendant la différenciation en cellules adipeuses, les cellules souches du squelette présentent une forte augmentation du métabolisme oxydatif caractérisée par une production accrue de mitochondries, une hausse de la phosphorylation oxydative ainsi qu'un renforcement du stress oxydatif (23) (**Figure 2**). Contrairement aux ostéoblastes dans lesquels les radicaux oxygénés semblent être particulièrement nocifs, une certaine quantité de radicaux oxygénés est nécessaire pour induire la différenciation en cellules graisseuses. Les réserves de graisse accumulées pendant cette différenciation sont générées à la fois à partir d'acides gras prélevés dans le micro-environnement et d'acides gras synthétisés *de novo* en utilisant principalement du glucose, mais aussi de l'acétate, du pyruvate et de la glutamine comme substrats (24).

Les cellules stromales de soutien de l'hématopoïèse, également appelées cellules stromales médullaires, sont une population de cellules du tissu conjonctif qui fournissent des facteurs de croissance essentiels au fonctionnement des cellules souches hématopoïétiques et à la production de cellules sanguines (21). Des découvertes récentes indiquent que les cellules stromales médullaires soutiennent également le métabolisme des cellules sanguines et que ces interactions jouent un rôle dans les cancers du sang tels que la leucémie. Par exemple, les cellules stromales médullaires sécrètent toute une série d'acides aminés essentiels et non essentiels, probablement pour les maintenir à un niveau optimal pour la formation des cellules sanguines (25, 26). Outre les métabolites, les cellules stromales médullaires peuvent également transmettre des organites cellulaires aux cellules hématopoïétiques. Ainsi, lors d'une infection bactérienne, les mitochondries sont transférées des cellules stromales médullaires aux cellules souches hématopoïétiques. Ce processus entraîne une transformation de la glycolyse en phosphorylation oxydative dans les cellules souches hématopoïétiques, suivie d'une production rapide de globules blancs (27). Un transfert mitochondrial comparable se produit entre les cellules stromales médullaires et les cellules leucémiques, et joue un rôle dans la chimiorésistance des cellules leucémiques (28).

L'importance des interactions métaboliques avec les cellules stromales pour la progression de la leucémie et le développement d'une chimiorésistance est également confirmée par plusieurs autres études. Zhang et al. ont décrit la

façon dont les cellules stromales médullaires importent la cystine et la convertissent en cystéine, qui est ensuite libérée dans le micro-environnement pour être absorbée par les cellules leucémiques, qui ont besoin de cystéine pour produire des antioxydants afin de résister à la chimiothérapie (29). Nos recherches récentes montrent que les

cellules stromales médullaires convertissent la glutamine en aspartate, lequel est utilisé par les cellules leucémiques pour fabriquer des nucléotides, les protégeant ainsi d'une mort cellulaire induite par la chimiothérapie (26). Les cellules leucémiques incitent également les adipocytes médullaires à libérer des acides gras, ce qui favorise la prolifération et la survie des cellules leucémiques en alimentant leur oxydation en acides gras (30). Lors de futures études, il conviendra d'examiner le rôle précis de ces différentes formes de soutien métabolique stromal pendant la formation normale des cellules sanguines.

### MÉTABOLISME INTERMÉDIAIRE ET VIEILLISSEMENT DES CELLULES SQUELETTIQUES

Le vieillissement a d'importantes répercussions sur la fonction des cellules du squelette et constitue un facteur de risque important pour le développement de maladies dégénératives du squelette telles que l'ostéoporose et l'arthrose. Plusieurs altérations du métabolisme ont été constatées dans les cellules squelettiques vieillissantes, qui pourraient contribuer à l'apparition et à la progression de ces maladies.

Un changement important constaté lors du vieillissement est une modification du potentiel de différenciation des cellules souches du squelette, qui se traduit par une perte de différenciation en ostéoblastes au détriment de la formation de cellules graisseuses. La différenciation ostéogénique des cellules souches squelettiques des personnes âgées se caractérise par la présence de mitochondries ayant une structure anormale, une diminution de la consommation d'oxygène, une diminution de la synthèse de l'ATP et une augmentation de la production de radicaux libres (31). De plus, l'activité du PGC1 $\alpha$  diminue avec l'âge en réaction au stress génomique, ce qui affecte également la différenciation des cellules souches du squelette et l'équilibre entre les ostéoblastes et les adipocytes dans la moelle osseuse (9). Le vieillissement réduit également l'activité de la GLS et, par conséquent, le métabolisme de la glutamine, inhibant encore davantage la différenciation ostéogénique des cellules souches du squelette (32).

Un autre tissu squelettique sur lequel le vieillissement a un impact majeur est le cartilage articulaire, l'âge étant le principal facteur de risque pour l'apparition d'arthrose. Comme pour les ostéoblastes vieillissants, le métabolisme des chondrocytes arthrosiques est caractérisé par un dérèglement de l'activité mitochondriale, associé à une production accrue de radicaux libres, une diminution de la production d'ATP mitochondriale et une augmentation de la glycolyse. Les stimuli inflammatoires peuvent renforcer la reprogrammation métabolique des chondrocytes articulaires en augmentant la glycolyse au détriment de la

phosphorylation oxydative. À cet égard, la correction des mitochondries dysfonctionnelles semble être une stratégie prometteuse pour soigner l'arthrose (33).

Le métabolisme des acides gras change également en cas d'arthrose. Une consommation excessive d'acides gras saturés induit une dégradation du cartilage et des altérations des os sous-chondraux chez les rats (34). Nos précédentes recherches démontrent également que des niveaux élevés d'acides gras dans le micro-environnement peuvent perturber la différenciation chondrogénique des cellules souches squelettiques en inhibant l'activité des facteurs de transcription FOXO et SOX9 (10). Les niveaux de FOXO et de SOX9 sont tous deux réduits en cas d'arthrose, ce qui suggère que les altérations des niveaux locaux d'acides gras (pouvant être dues à une inflammation accrue ou à la formation de vaisseaux sanguins) peuvent jouer un rôle dans la progression de cette maladie.

### CONCLUSION

Des avancées majeures ont été réalisées ces 5 dernières années concernant l'étude de la régulation métabolique des cellules squelettiques, sous l'impulsion des développements technologiques et d'un regain d'intérêt pour le métabolisme intermédiaire (35). Pourtant, la compréhension des programmes métaboliques qui contrôlent la fonction des cellules squelettiques reste limitée. Comme dans d'autres domaines d'étude, la majorité des études sur le métabolisme des cellules squelettiques sont menées sur des cultures cellulaires, et une validation *in vivo* à plus grande échelle est manifestement nécessaire. Une avancée méthodologique qui permettrait de mieux comprendre le métabolisme des cellules squelettiques est le développement de protocoles permettant d'isoler les cellules tout en conservant leur profil métabolique, ce qui permettrait de comparer directement le métabolisme de différents types de cellules squelettiques. En hématologie ainsi qu'en immunologie, où les cellules sont plus facilement accessibles, ces méthodes ont permis d'obtenir des informations sans précédent sur les programmes métaboliques qui contrôlent le comportement des cellules dans leur environnement naturel (26, 36). D'autres technologies, comme la cytométrie de masse, permettent désormais d'analyser simultanément l'identité cellulaire et la présence d'enzymes métaboliques au niveau de la cellule individuelle, tandis que les méthodes d'imagerie métabolique en constante amélioration peuvent fournir des informations spatiales à l'échelle nanométrique (37). Ces nouveaux développements technologiques devraient permettre de faire des découvertes importantes concernant le métabolisme des cellules du squelette au cours des prochaines années.