

Etude du profil d'expression génique des cellules endothéliales dérivées des progéniteurs endothéliaux circulants dans la sclérodémie systémique

BIOLOGIE & SANTÉ 2011



RESULTATS

Contexte:

La sclérodémie systémique (ScS) est une maladie orpheline grave du groupe des connectivites. L'atteinte vasculaire périphérique est un événement majeur dans cette maladie, médiée par des anomalies de structure et de fonction des cellules endothéliales. Nous avons donc émis l'hypothèse que l'étude de l'expression génique dans ces cellules endothéliales pourrait identifier de nouvelles cibles d'intérêt dans cette pathologie complexe.

Objectif:

déterminer le profil d'expression génique des cellules endothéliales (CE) dérivées des progéniteurs endothéliaux circulants (PECs) à croissance tardive issus de patients atteints de ScS.

Méthodes

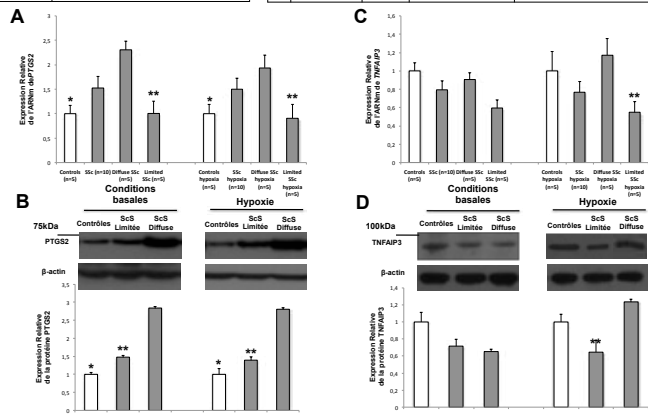
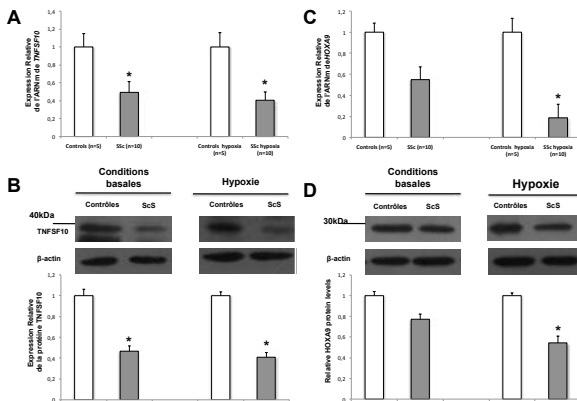
Les CE dérivées des PECs à croissance tardive ont été isolées en culture à partir du sang périphérique de 10 patients atteints de ScS (5 formes cutanées diffuses et 5 limitées) et de 5 témoins sains appariés pour l'âge et le sexe. L'ARN total a été extrait et amplifié à partir de ces cellules dans des conditions basales et après 6 heures d'exposition hypoxique. Les puces Affymetrix Human Genome HGU133 plus 2.0 Array ont été utilisées. Les données ont été analysées dans le programme GeneSpring, et les voies potentielles ont été identifiées avec le logiciel Ingenuity. L'étude des gènes d'intérêt a été réalisée par RT-PCR quantitative et par western blot. L'expression protéique des différents médiateurs identifiés a ensuite été évaluée par immunohistochimie dans la peau des patients atteints de ScS et des témoins.

Expression génique différentielle dans les cellules endothéliales dérivées des PECs issues de patients avec ScS, comparées aux cellules issues des contrôles

	Voie de signalisation/ Fonction	Nombre de Gènes	Genes sous-exprimés (odds ratio)	Genes sur-exprimés (odds ratio)
CONDITIONS BASALES	Signalisation et interaction entre cellules	9	Protocadherin-10 (PCDH10) (0.41) Tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 10 (TNFSF10) (0.32) Cingulin like-1 (CGNL1) (0.55)	Tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 18 (TNFSF18) (2.56) Docking protein-5 (DOK5) (1.65) Hypothetical protein FLJ21438 (FLJ21438) (1.96) Neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated-4-like (NEDD4L) (1.68) RAS guanyl releasing protein 3 (calcium and DAG-regulated) (RASGRP) (1.56) Bone marrow stromal cell antigen-1 (BST1) (1.51)
	Croissance et prolifération cellulaire	7	CD200 molecule (CD200) (0.50) Metallothionein-1G (MT1G) (0.67)	KIT ligand (KITL) (2.34) Bone marrow stromal cell antigen-1 (BST1) (1.61) Cytokine induced apoptosis inhibitor-1 (CIAPIN1) (1.53) Metallothionein-1L (MT1L) (1.86) Ribosomal protein-L (RPL4) (1.51)
HYPOXIE	Expression génique	11	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein-M (HNRNPM) (0.62) Homeobox-A2 (HOXA2) (0.62) Homeobox-A5 (HOXA5) (0.64) Homeobox-A9 (HOXA9) (0.35) Homeobox-A11 (HOXA11) (0.62) Interferon regulatory factor-8 (IRF8) (0.56) KIAA1305 (KIAA1305) (0.68) Ribosomal Protein-S6 (RPS6) (0.65) Squamous cell carcinoma antigen recognized by T cells 3 (SART3) (0.57)	Anaphase promoting complex subunit-5 (ANAPCS5) (1.57)
	Développement	5	Homeobox-A2 (HOXA2) (0.62) Homeobox-A5 (HOXA5) (0.64) Homeobox-A9 (HOXA9) (0.35) Homeobox-A11 (HOXA11) (0.62) Roundabout, axon guidance receptor, homolog-1 (ROBO1) (0.41)	

Expression génique différentielle dans les cellules dérivées des PECs issues des patients avec la forme cutanée diffuse, comparée à la forme cutanée limitée

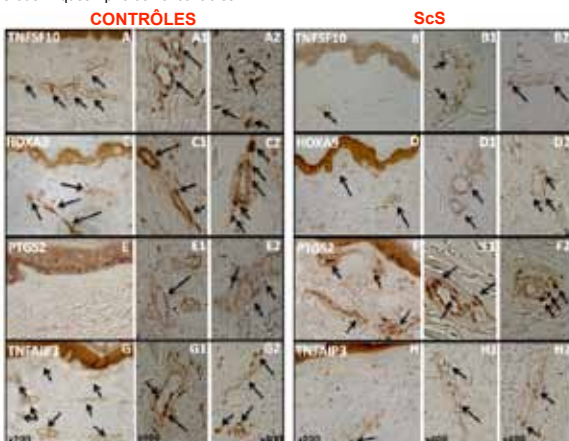
	Voie de signalisation/ Fonction	Nombre de Gènes	Genes sous-exprimés (odds ratio)	Genes sur-exprimés (odds ratio)
CONDITIONS BASALES	Réponse inflammatoire et immunitaire	6	Interferon alpha-7 (IFNA7) (0.66)	Interleukin-6 (IL6) (1.85) Interleukin-2 receptor, alpha (IL2RA) (1.77) Chemokine (C-C motif) receptor-like 2 (CCR2L2) (1.90) Prostaglandin endoperoxide synthase-2 (PTGS2) (2.55) Collectin sub-family member-12 (COLEC12) (1.49)
	Adhésion cellulaire	4	Selectin-P (SELP) (0.59)	Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM1) (1.88) Coiled-coil domain containing-80 (CCDC80) (1.54) Integrin beta like-1 (ITGBL1) (1.89)
HYPOXIE	Réponse inflammatoire et immunitaire	7		Prostaglandin endoperoxide synthase-2 (PTGS2) (2.74) Tumor necrosis factor, alpha-induced protein-3 (TNFAIP3) (2.51) Type 1 tumor necrosis factor receptor shedding aminopeptidase regulator (ARTS-1) (1.58) CD200 molecule (CD200) (1.80) Chemokine (C-C motif) Receptor-1 (CCR1) (1.66) Interferon gamma receptor-1 (IFNGR1) (1.69) Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type-12 (PTPN12) (1.55)
	Signalisation intracellulaire	4	Inhibitor of DNA binding-2, dominant negative helix-loop-helix protein (ID2) (0.53)	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 3 (AKT3) (1.72) TRAF2 and NCK interacting kinase (TNK) (1.52) Mitogen-activated protein kinase kinase kinase-3 (MAP4K3) (1.50)
ADHESION CELLULAIRE	Adhésion cellulaire	3	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II inhibitor 1 (CAMK2N1) (0.54)	Coiled-coil domain containing-80 (CCDC80) (1.96) Gadherin-13 (CDH13) (1.52)



Conclusion et Perspectives

- ✓ Nos résultats révèlent d'importantes modifications d'expression des gènes des CE dérivées des PECs issues de patients sclérodermiques, en conditions basales, ou après stimulation hypoxique.
- ✓ Ils ont également identifié la présence d'une signature endothéliale dans la ScS, caractérisée par un profil pro-adhésif, activé et pro-inflammatoire de ces cellules.
- ✓ Cette étude a également révélé l'existence d'une expression différentielle des membres de la voie du TNF et de HoxA9 dans la peau des patients atteints de ScS, suggérant une exploration plus approfondie de ces nouvelles cibles.
- ✓ L'identification de ces médiateurs ouvre de nouveaux champs d'investigation pour cette maladie incurable.

Publication: Avouac J, Cagnard N, Distler JH et al. Insights into the pathogenesis of systemic sclerosis based on gene expression profile of endothelial cells issued from progenitors. Arthritis Rheum 2011, In press.



Expression de TNFSF10, HOXA9, PTGS2 et TNFAIP3 mesurée par immunohistochimie dans la peau d'une population élargie de patients atteints de ScS (n=20) et de contrôles (n=10). L'expression de TNFSF10, HOXA9 et TNFAIP3 était diminuée dans la peau lésée des patients atteints de ScS. L'expression de ces 3 marqueurs était détectée principalement dans les cellules endothéliales et les cellules inflammatoires. L'expression de PTGS2 était par contre fortement augmentée dans le derme des patients, en particulier dans les cellules inflammatoires péri-vasculaires.

