

Progéniteurs endothéliaux circulants et sclérodémie systémique : aspects quantitatifs et approche transcriptomique

Schoindre Y, Avouac J, Ruiz B, Chiochia G, Letourneur F, Cagnard N, Boileau C, Allanore Y.

Introduction : L'atteinte vasculaire endothéliale paraît centrale dans la physiopathologie de la sclérodémie systémique (ScS). Les progéniteurs endothéliaux circulants (PEC) ont fait l'objet de quantifications dans des études préliminaires suggérant leur mobilisation et validant leur rôle de biomarqueur. **Objectifs :** Les caractéristiques fonctionnelles des cellules endothéliales dérivées des PEC ont été peu étudiées. Les cellules endothéliales circulantes (CEC), reflet d'une agression endothéliale, ont été très peu explorées dans la ScS. Les objectifs étaient donc de quantifier en parallèle les PEC et les CEC par cytométrie de flux, et de plus d'étudier le transcriptome des cellules endothéliales dérivées des PEC in vitro à l'état basal et en hypoxie, chez des malades et des témoins.

Matériels et méthodes : Pour la quantification, 94 patients (âge moyen 55 ± 14 ans) ont été comparés à 36 témoins (âge moyen 50 ± 18 ans) ; les PEC et les CEC étaient quantifiés par cytométrie de flux à partir de sang frais, parmi la population de cellules mononucléées enrichie en cellules non hématopoïétiques (Lin-) par un tri RosetteSep® (Avouac et al, Ann Rheum Dis 2008), grâce à un marquage VEGFR2+ CD34+ CD133+ 7AAD- pour les PEC et VEGFR2+ CD133- CD105+ 7AAD- pour les CEC. Pour l'étude du transcriptome, nous avons utilisé les cellules issues de 10 patients (5 formes cutanées limitées, 5 formes cutanées diffuses) et 5 témoins : les PEC isolés en culture à partir de sang frais et congelés étaient d'abord décongelés et amplifiés ; pour chaque patient, l'ARN était extrait en conditions basales et après 6 heures d'hypoxie à 1% d'O₂. Les puces utilisées étaient les puces Affymetrix Human Exon 1.0 ST permettant une analyse de l'ensemble des transcrits à la fois au niveau génique, et au niveau exonique (transcrits alternatifs).

Résultats : Le nombre médian de PEC était significativement plus élevé chez les malades avec $96/10^6$ cellules mononucléées Lin- contre $60/10^6$ chez les témoins ($p=0,004$). Le nombre de PEC était inversement corrélé au score d'activité de la maladie ($\rho=-0,3$, $p=0,0042$). Un nombre plus faible de PEC était retrouvé en cas de maladie plus sévère ($p=0,03$). Le nombre médian de CEC était plus élevé chez les malades ($214/10^6$ cellules mononucléées Lin-) que chez les témoins ($139/10^6$ cellules mononucléées Lin-) sans que cette différence soit statistiquement significative ($p=0,10$). Les nombres de PEC et de CEC étaient corrélés chez les malades ($\rho=0,46$, $p=0,0001$) comme chez les témoins ($\rho=0,74$, $p=0,0055$). Le ratio PEC/CEC médian était significativement plus bas chez les malades (0,41) que chez les témoins (0,73) ($p=0,017$). Les premiers résultats de l'analyse transcriptomique ont montré la surexpression en hypoxie de gènes-cibles connus de l'hypoxie comme le VEGFA, validant les conditions expérimentales. L'étude de l'expression différentielle des transcrits à l'état basal et en hypoxie est maintenant en cours.

Discussion/conclusion : Cette étude confirme l'augmentation du nombre de PEC déjà observée sur un nombre de patients plus restreint, ainsi que l'association entre un score de sévérité plus élevé et un nombre de PEC plus bas. La corrélation inverse avec l'activité n'avait pas été rapportée à ce jour, et suggère un défaut de mobilisation des PEC en phase active. Les CEC sont plus élevées chez les malades, ce qui va dans le sens d'une étude pilote précédente, mais la différence n'est pas significative. Le ratio PEC/CEC n'avait pas été évalué : il apparaît plus bas chez les malades, suggérant une mobilisation insuffisante des PEC en réponse à l'agression vasculaire liée à la maladie. L'étude transcriptomique a démontré sa faisabilité sur le modèle cellulaire des cellules endothéliales dérivées des PEC, et pourrait permettre l'identification de nouvelles voies physiopathologiques dans la ScS.