

# CHAPITRE 16

## Horloge biologique et pathologies osseuses

M. Cohen-Solal, S. Fabre, P. Orcel

---

### Résumé

Le rythme circadien est à l'origine de la régulation de plusieurs fonctions des cellules et des tissus que l'on appelle horloge biologique. Le centre coordonnateur est localisé dans l'hypothalamus et contrôle de multiples fonctions physiologiques déjà identifiées telles que la température, les processus endocriniens et l'immunité. Chaque cellule possède également un rythme circadien propre au travers d'un groupe de gènes, notamment *Per1*, *Per2*, *Cry1*, *Cry2*, *Bmal1* et *Clock*. Ils activent la migration des cellules souches mésenchymateuses et la différenciation des adipocytes. Ils activent également les gènes chondrocytaires pour permettre l'ossification endochondrale pendant la croissance. L'inactivation du gène *Bmal1* chez la souris induit une ostéoporose par défaut de maturation ostéoblastique et une augmentation de la résorption liée à un excès local de RANKL. Ces gènes pourraient aussi moduler la réponse de plusieurs hormones (cortisol, vitamine D, parathormone) ou des signaux locaux comme Wnt. Les rythmes ont une influence sur l'effet des médicaments et pourraient être utiles à leur analyse pharmacologique. Chez la souris, la parathormone favorise le remodelage et la réparation osseuse lorsque ces gènes sont activés. Les travaux en pathologie humaine sont rares, mais par exemple, les inhibiteurs de la résorption sont plus efficaces en prise matinale qu'en prise nocturne suggérant une sensibilité variable en fonction du cycle cellulaire.

Les gènes de l'horloge contribuent au maintien du cartilage et leur expression diminue avec la progression de l'arthrose chez l'homme. Son inactivation chez la souris accélère la perte de cartilage en augmentant le catabolisme chondrocytaire. À ce jour, les travaux portent sur une meilleure compréhension du rôle de ces gènes dans la physiologie des tissus ou le développement des maladies. Il est à parier qu'ils aideront à définir des nouvelles populations à risque ou des modalités d'administration thérapeutiques.

## Introduction

La majorité de l'activité biologique des cellules et des organes apparaît synchronisée de telle manière qu'elles puissent se succéder dans un ordre précis. Le fonctionnement physiologique de la fonction des cellules et des organes dans un ordre précis et orchestré dans le temps évoque l'existence d'éléments régulateurs présents et maintenus dans les différentes espèces. Cette notion de cycle synchronisé est ancienne en médecine puisque plusieurs activités et fonctions ont été décrites comme survenant de manière périodique, telles que la température du corps ou le sommeil. L'alternance de séquences d'activité sur une période de 24 heures définit le rythme circadien, encore appelé nycthémeral. Ces fonctions synchronisées dans le temps sont fortement influencées par la lumière, notamment les fonctions endocrines telles que l'activité hormonale, ovulatoire ou thyroïdienne. D'autres fonctions plus larges comme l'alimentation sont ensuite apparues régulées par la lumière, bien que s'exerce un rôle de l'environnement. Très rapidement, l'hypothalamus a été identifié comme le centre de contrôle à l'origine des signaux pouvant agir à distance sur de multiples organes périphériques. L'appareil locomoteur est soumis à des contraintes mécaniques, essentiellement pendant les périodes de jour. Il apparaissait donc logique que cette horloge dite biologique puisse influencer la fonction des tissus de l'os et de l'articulation par le biais de la mise en charge et pouvant avoir une régulation centrale. Nous décrivons ici les éléments qui plaident en faveur d'une telle régulation sur la physiologie et en pathologie osseuse.

## Le centre de contrôle et les gènes de l'horloge biologique

L'hypothalamus et en particulier le noyau supra-chiasmatique est le centre de contrôle principal de la régulation du système endocrinien. L'axe hypothalamo-hypophysaire a été le premier décrit à l'origine de la production d'ACTH pour moduler la sécrétion de cortisol sur le cycle de 24 heures. La production de cortisol le matin apparaîtrait alors nécessaire à l'induction du réveil, pour préparer aux stress de la journée et pour activer les signaux des besoins énergétiques [7]. L'insuline, l'hormone de croissance et les adiponectines ont ensuite été identifiées comme étant des hormones influencées par le cycle du sommeil. Elles connaissent une variation nycthémerale qui stimule et adapte les mécanismes métaboliques et mécaniques [11]. L'analyse de la régulation centralisée par l'hypophyse a amené à identifier des gènes qui sont à l'origine de processus de régulation par cette horloge. Les gènes principaux sont les gènes *Clock* et *Bmal1* qui codent pour des facteurs de transcription du même nom, ainsi que d'autres tels que *NPAS2*, *BMAL2*, *Per1*, *Per2*, *Per3*, *Cry1* et 2, *REV-ERB* et *ROR*. L'expression de ces gènes induit la production de neuromédiateurs ou d'hormones produits par l'hypophyse qui vont moduler à leur tour les fonctions des organes à distance [3, 20]. Les gènes exprimés par l'hypophyse ont un rôle crucial pour produire des médiateurs qui ont un effet systémique encore appelé endocrine. Le premier gène

mis en évidence est le gène *Clock*. Sa délétion n'affecte pas le rythme du sommeil jour/nuit, mais s'accompagne de perturbations métaboliques majeures. Elle entraîne une obésité et des anomalies endocriniennes comme l'augmentation de la sécrétion d'insuline indiquant un contrôle de la balance énergétique par ce gène. Ainsi, ce gène joue un rôle important dans la synchronisation majoritairement endocrinienne et semble préparer aux activités de la journée en « remettant les pendules à l'heure » [23]. Le gène *Bmal1* a des effets pléiotropes car son invalidation totale chez la souris, c'est-à-dire dans toutes les cellules, perturbe le rythme biologique. Son absence se traduit par une diminution de la durée de vie, une accélération du vieillissement prématuré de plusieurs tissus, notamment des muscles, de la graisse et du cristallin [17, 25], et une perte de poids. Les taux circulants d'insuline sont plus bas alors que ceux de la leptine et des composants du stress oxydant sont plus élevés [16]. Par ailleurs, l'analyse transcriptomique de plusieurs tissus indique que l'expression des gènes *Clock* et *Bmal1* est spécifique à chaque tissu leur procurant une fonction particulière [13, 27].

## Les gènes de l'horloge et régulation des tissus ostéo-articulaires

Les études précédentes militent pour un rôle régulateur de la masse osseuse par les gènes de l'horloge. Cependant, ces gènes ne sont pas restreints au système nerveux central et l'effet observé peut être indirect, parce qu'il est relayé par les modifications métaboliques engendrées ou encore par un effet propre sur plusieurs types cellulaires qui assurent le remodelage osseux. Par exemple, les gènes *Per1* et *Per2* stimulent la prolifération des ostéoblastes en activant la production de leptine [10]. L'invalidation complète du gène *Bmal1* chez la souris entraîne une ostéoporose par défaut de différenciation des ostéoblastes [21] et est associée à des signes de vieillissement précoce tels que l'alopécie et des calcifications articulaires, mais ceux-ci ne sont pas reproduits par l'invalidation dans les cellules souches mésenchymateuses de la moelle [25]. Ces résultats illustrent la présence d'un effet spécifique sur chaque cellule et la complexité de la régulation du réseau local dont plusieurs mécanismes sont inconnus. Les gènes de l'horloge sont également exprimés par les tissus musculo-squelettiques et ils peuvent jouer un rôle propre dans la régulation de l'activité cellulaire qui s'ajouterait à la régulation systémique hormonale ou à des cellules de leur environnement. L'invalidation spécifique de *Bmal1* dans les ostéoblastes entraîne une ostéoporose en stimulant le remodelage dans son ensemble et notamment indirectement la résorption osseuse par la production de RANKL par les ostéoblastes [22]. Le gène *Clock* ostéoblastique favorise leur prolifération en augmentant l'activité de PDIA3, un des récepteurs de la 1,25(OH)2D3 [26]. Enfin, on admet que l'invalidation de *Bmal1* dans les ostéoclastes diminue leur nombre et induit une ostéosclérose [24]. L'ensemble de ces données obtenues sur des modèles murins montre que ce gène participe à la maturation des ostéoblastes et des ostéoclastes et suggère qu'ils sont des régulateurs du remodelage osseux.

Chez l'homme, les gènes *Clock* et *Bmal1* inhibent la prolifération des cellules souches mésenchymateuses et favorisent la différenciation adipocytaire [5]. On ne dispose pas de données sur les gènes de l'horloge sur la physiologie du remodelage osseux.

Dans le muscle, l'expression des gènes de l'horloge est également cyclique et fortement dépendante de l'exercice, ces gènes induisant l'expression de facteurs de transcription musculaire [2]. L'invalidation totale du gène *Bmal1* se traduit par une sarcopénie qui augmente avec l'âge [17]. Les différents modèles murins d'invalidation de ce gène soit spécifique au muscle, soit induit après les stades du développement, ont montré que ce gène détermine la force musculaire à l'âge adulte, mais aussi que son expression dans les fibres musculaires est influencée par l'exercice physique.

Comme le tissu osseux, le cartilage est soumis à des cycles d'activité, majoritairement lors de la journée en lien avec les contraintes mécaniques. C'est la rythmicité de ces contraintes qui fait évoquer l'intervention de l'horloge biologique pour synchroniser la fonction du chondrocyte. L'expression du gène *Bmal1*, perdue dans le cartilage arthrosique, suggère que ce gène permet de réguler sa fonction. La preuve de concept a été apportée grâce à un modèle animal. En effet, l'ablation conditionnelle du gène *Bmal1* dans les chondrocytes conduit à la perte progressive de cartilage [8], probablement en altérant plusieurs mécanismes régulateurs de la fonction chondrocytaire, notamment l'activation de l'apoptose des chondrocytes et la réduction de leur pouvoir de réparation. Elle indique surtout que l'absence de ce gène de synchronisation est associée à une réponse inadaptée des chondrocytes aux contraintes mécaniques.

## L'horloge biologique dans la physiologie osseuse humaine

On sait depuis longtemps que les concentrations sériques de calcium, d'ostéocalcine et des phosphatases alcalines osseuses et plus spécifiquement les sécrétions hormonales de la calcitonine et de la parathormone sont influencées par des variations nyctémérales [12, 15, 25]. La résorption osseuse emprunte un rythme nyctéméral. Elle est supérieure la nuit chez les femmes ménopausées, comme l'illustrent le pic matinal et un nadir dans l'après-midi des CTX sériques [4]. Une étude réalisée sur 15 femmes ménopausées montre que le jeûne diminue le risque circadien des taux de CTX sériques de 36 % à 8,7 % [6]. L'administration nocturne de Zoledronate inhibe plus significativement le remodelage osseux que l'administration matinale [12], peut-être parce que la résorption osseuse est supérieure en période nocturne. De même, la prise matinale d'Odanacatib, une molécule inhibitrice de la cathepsine K qui inhibe la résorption osseuse, diminue davantage les marqueurs de la résorption que la prise vespérale [9]. La découverte d'une régulation par les gènes de l'horloge a

permis de revisiter les concepts de pharmacodynamie. La 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> permet l'activation des gènes *Bmal1* et *Per2* et ainsi de synchroniser les cellules souches pour rentrer dans un rythme de prolifération [14]. La parathormone active le gène *Per2* et permet une meilleure réparation des fractures [19].

Les taux sériques diurnes de marqueurs cataboliques du cartilage sont soumis à des variations pendant 24 heures. Les taux de collagène de type II, COMP et d'aggrecane diminuent pendant les périodes nocturnes chez les patients arthrosiques [1, 18]. L'horloge biologique pourrait intervenir par le biais des contraintes mécaniques ou encore par les facteurs métaboliques, comme la leptine, ou hormonaux (cortisol, parathormone).

En dépit de données animales convaincantes, le rôle précis des gènes de l'horloge n'est encore pas suffisamment élucidé en physiologie et pathologie humaine, probablement en raison des multiples facteurs confondants. Il est toutefois possible de penser qu'ils aideront à définir des nouvelles populations à risque ou des modalités d'administration thérapeutiques.

## Conclusion

L'horloge biologique permet une régulation du fonctionnement tissulaire à partir de l'hypophyse ainsi qu'une régulation spécifique à chaque tissu, elle-même étant sous l'influence de l'exercice et de l'alimentation. Ces données ouvrent la voie à de nouvelles études sur l'utilisation des médicaments pour permettre une efficacité optimale en adaptant le moment de la prise dans la journée au cycle.

## Conflits d'intérêts

Le professeur Orcel déclare les conflits d'intérêts suivants :

- liens durables ou permanents : aucun (contrats non renouvelés en 2012);
- interventions ponctuelles : protocoles de recherche clinique : laboratoires Amgen, Warner Chilcott et Roche-Chugai;
- interventions dans un contexte promotionnel : aucune (sollicitations systématiquement refusées depuis 2012);
- intérêts indirects : tous les partenaires industriels de l'organisation des Journées Annuelles du Centre Viggo Petersen et de l'organisation des Journées Annuelles de l'URAM.

Le professeur Cohen-Solal déclare les conflits d'intérêts suivants :

- essais cliniques en qualité d'investigateur principal, coordonnateur ou expérimentateur principal : laboratoire Icon;
- essais cliniques en qualité de co-investigateur, expérimentateur non principal, collaborateur à l'étude : laboratoire Ultragenix;
- conférences : invitations en qualité d'intervenant : laboratoire Amgen;
- conférences : invitations en qualité d'auditeur (frais de déplacement et d'hébergement pris en charge par une entreprise) : laboratoire Amgen.

Le docteur Fabre n'a aucun conflit d'intérêt en lien avec le présent article.

## Références

- [1] Andersson ML. Diurnal variation in serum levels of cartilage oligomeric matrix protein in patients with knee osteoarthritis or rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2006; 65 : 1490–4.
- [2] Aoyama S, Shibata S. The Role of Circadian Rhythms in Muscular and Osseous Physiology and Their Regulation by Nutrition and Exercise. *Front Neurosci* 2017; 11 : 63.
- [3] Balsalobre A. Resetting of circadian time in peripheral tissues by glucocorticoid signaling. *Science* 2000; 289 : 2344–7.
- [4] Bjarnason NH, Henriksen EEG, Alexandersen P, et al. Mechanism of circadian variation in bone resorption. *Bone* 2002; 30 : 307–13.
- [5] Boucher H, Vanneaux V, Domet T, et al. Circadian Clock Genes Modulate Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Differentiation, Migration and Cell Cycle. *PLoS One* 2016; 11. e0146674.
- [6] Christgau S, Bitsch-Jensen O, Hanover Bjarnason N, et al. Serum CrossLaps for monitoring the response in individuals undergoing antiresorptive therapy. *Bone* 2000; 26 : 505–11.
- [7] Dickmeis T. Glucocorticoids and the circadian clock. *J Endocrinol* 2009; 200 : 3–22.
- [8] Dudek M, Gossan N, Yang N, et al. The chondrocyte clock gene *Bmal1* controls cartilage homeostasis and integrity. *J Clin Invest* 2016; 126 : 365–76.
- [9] Eastell R, Dijk DJ, Small M, et al. Morning vs evening dosing of the cathepsin K inhibitor ONO-5334 : effects on bone resorption in postmenopausal women in a randomized, phase 1 trial. *Osteoporos Int* 2016; 27 : 309–18.
- [10] Fu L, Patel MS, Bradley A, et al. The molecular clock mediates leptin-regulated bone formation. *Cell* 2005; 122 : 803–15.
- [11] Gamble KL, Berry R, Frank SJ, et al. Circadian clock control of endocrine factors. *Nat Rev Endocrinol* 2014; 10 : 466–75.
- [12] Generali D, Berruti A, Tampellini M, et al. The circadian rhythm of biochemical markers of bone resorption is normally synchronized in breast cancer patients with bone lytic metastases independently of tumor load. *Bone* 2007; 40 : 182–8.
- [13] Guangrui Y, Lihong C, Gregory RG, et al. Timing of expression of the core clock gene *Bmal1* influences its effects on aging and survival. *Sci Transl Med* 2016; 8(324). 324ra16.
- [14] Gutierrez-Monreal MA, Cuevas-Diaz Duran R, Moreno-Cuevas JE, et al. A role for  $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin d3 in the expression of circadian genes. *J Biol Rhythms* 2014; 29 : 384–8.
- [15] Ivaska KK, Pettersson K, Nenonen A, et al. Urinary osteocalcin as a marker of bone metabolism. *Clin Chem* 2005; 51 : 2362–5.
- [16] Kennaway DJ, Varcoe TJ, Voultios A, et al. Global loss of *Bmal1* expression alters adipose tissue hormones, gene expression and glucose metabolism. *PLoS One* 2013; 8. e65255.
- [17] Kondratov RV, Kondratova AA, Gorbacheva VY, et al. Early aging and age-related pathologies in mice deficient in *Bmal1*, the core component of the circadian clock. *Genes Dev* 2006; 20 : 1868–73.
- [18] Kong SY. Diurnal variation of serum and urine biomarkers in patients with radiographic knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2006; 54 : 2496–504.
- [19] Kunitomo T, Okubo N, Minami Y, et al. A PTH-responsive circadian clock operates in ex vivo mouse femur fracture healing site. *Sci Rep* 2016; 6 : 22409.
- [20] Pezuk P, Mohawk JA, Wang LA, et al. Glucocorticoids as entraining signals for peripheral circadian oscillators. *Endocrinology* 2012; 153 : 4775–83.
- [21] Samsa WE, Vasanji A, Midura RJ, et al. Deficiency of circadian clock protein *Bmal1* in mice results in a low bone mass phenotype. *Bone* 2016; 84 : 194–203.

- 
- [22] Takarada T, Xu C, Ochi H, et al. Bone Resorption Is Regulated by Circadian Clock in Osteoblasts. *J Bone Miner Res* 2017; 32 : 872–81.
  - [23] Turek F, Joshu C, Kohsaka A, et al. Obesity and metabolic syndrome in clock mutant mice. *Science* 2005; 308 : 1043–5.
  - [24] Xu C, Ochi H, Fukuda T, et al. Circadian Clock Regulates Bone Resorption in Mice. *J Bone Miner Res* 2016; 31 : 1344–55.
  - [25] Yang G, Chen L, Grant GR, et al. Timing of expression of the core clock gene *Bmal1* influences its effects on aging and survival. *Sci Transl Med* 2016; 8. 324ra16.
  - [26] Yuan G, Hua B, Yang Y, et al. The Circadian Gene *Clock* Regulates Bone Formation Via *PDIA3*. *J Bone Miner Res* 2017; 32 : 861–71.
  - [27] Zhang R, Lahens NF, Ballance HI, et al. A circadian gene expression atlas in mammals : implications for biology and medicine. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111 : 16219–24.

