

# Communication intercellulaire et remodelage osseux

Julie Talbot et Franck Verrecchia

INSERM, UMR 957, Université de Nantes, Laboratoire de Physiopathologie de la Résorption Osseuse et Thérapie des Tumeurs Osseuses Primitives, Faculté de Médecine, CHU de Nantes, 44035 Nantes, France

Auteur correspondant : Franck Verrecchia, [franck.verrecchia@inserm.fr](mailto:franck.verrecchia@inserm.fr)

Reçu le 17 janvier 2012

**Résumé** – Les jonctions communicantes sont des structures membranaires spécialisées, constituées de canaux transmembranaires, permettant un couplage cytoplasmique entre cellules adjacentes par transfert d'ions et de petites molécules hydrophiles (<1200 Da). Chaque canal intercellulaire est formé par l'assemblage de deux hémi-canaux, les connexons. Chaque connexon est composé de six sous-unités protéiques (connexines), qui délimitent un pore aqueux. Les connexines appartiennent à une famille multigénique et sont dénommées d'après leur poids moléculaire. La connexine 43, dont l'expression est ubiquitaire, représente la connexine majoritaire des cellules humaines osseuses. L'expression des connexines 45 et 46 est également retrouvée dans ces cellules mais dans une moindre mesure. Le remodelage osseux nécessite l'activité coordonnée des ostéoblastes et des ostéoclastes. Les ostéoblastes (cellules formant l'os) sont issus des cellules souches mésenchymateuses, et les ostéoclastes (cellules résorbant l'os) sont des cellules multinucléées originaires de la lignée monocytaire/macrophagique. Cette revue fait un point sur la structure des jonctions communicantes, les mécanismes régulant le remodelage osseux, ainsi que sur les travaux suggérant que la communication intercellulaire contribue au remodelage osseux.

**Mots clés** : Jonctions communicantes / communication intercellulaire / connexine / ostéoblaste / ostéoclaste

**Abstract** – Gap junctions and bone remodeling.

Gap junctions are specialized plasma membrane structures consisting of transmembrane channels that directly link the cytoplasm of adjoining cells and mediate the reciprocal exchange of ions and low molecular weight molecules (<1200 Da). Structural studies have demonstrated that each gap junctional channel is formed by the extracellular interaction of two hemi-channels (connexons). Each connexon is a hexameric assembly of protein subunits (connexins), which delineate an aqueous pore. Connexins are homologous proteins encoded by a multigene family and are named according to their predicted molecular weight. Connexin 43, widely distributed in different cell types, is the main gap junction protein expressed in human bone cells, although Cx45 and Cx46 have been reported to be expressed as well. Bone remodeling requires coordinated activity among osteoblasts and osteoclasts. Osteoblasts (bone forming cells) are derived from mesenchymal stem cells, and osteoclasts (bone resorbing cells), are multinucleated cells of monocyte/macrophage origin. Here, we review what is known regarding the structure of gap junctions and the mechanisms regulating bone remodeling, and discuss the evidence suggesting that gap junctional intercellular communication contributes to the bone remodeling.

**Key words**: Gap junction / intercellular communication / connexin / osteoblast / osteoclast

## Les jonctions communicantes ou jonctions gap

### De la théorie cellulaire au canal intercellulaire

Selon le concept de Schleiden (1938), la cellule est une unité autonome circonscrite par une barrière de diffusion, la membrane, qui empêcherait tout échange de matériel avec les cellules environnantes ou avec le milieu extracellulaire. Il apparaît cependant que des échanges de molécules peuvent se faire au travers de la membrane cellulaire et parfois beaucoup plus rapidement que ne le laisserait prévoir leur coefficient de partage huile/eau. Ces observations ont ainsi amené Höber à émettre pour la première fois l'hypothèse de l'existence de canaux hydrophiles dans les membranes (Höber, 1936).

En 1952, Weidmann démontre que la conduction électrique dans les fibres cardiaques de Purkinje est régie par les lois du câble conducteur (Weidmann, 1952), introduites par Cremer (1898) et développées par Hodgkin et Rushton (1946) sur l'axone géant de calmar.

En 1959, Furshpan et Potter mettent en évidence l'existence d'une transmission électrique de cellule à cellule *via* des zones de faible résistance électrique lors de la découverte de la synapse électrique de crustacé. Cette structure était alors considérée comme une spécialisation de la membrane adaptée à la conduction électrique.

En 1964, Kanno et Loewenstein montrent qu'outre les ions de petite taille, un anion de taille plus importante (la fluorescéine, 376 Da) peut franchir la membrane jonctionnelle. Cette observation contredisait définitivement l'hypothèse selon laquelle une simple apposition membranaire pouvait permettre le couplage intercellulaire. Deux ans plus tard (1966), Loewenstein propose l'hypothèse selon laquelle la communication jonctionnelle se ferait au travers de canaux traversant les membranes des deux cellules dans des zones de contact membranaire. Chacun de ces canaux serait constitué d'une paire d'unités membranaires perméables, situées en regard l'une de l'autre et associées pour former le canal jonctionnel.

En 1967, sur des coupes ultrafines transversales de myocarde de souris, Revel et Karnovsky mettent en évidence l'existence d'un espace de 2 à 4 nm au niveau de ces zones de contact membranaire, d'où le terme de « jonction gap » (*gap* signifiant espace). En 1975, le terme de jonctions communicantes apparaît en référence à la fonction de ces structures (Simionescu *et al.*, 1975).

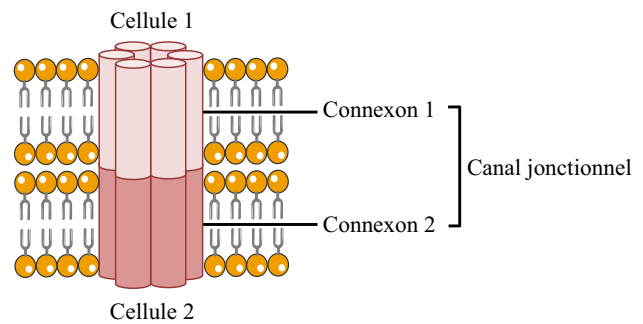


Fig. 1. Schéma d'un canal jonctionnel.

### Les jonctions gap

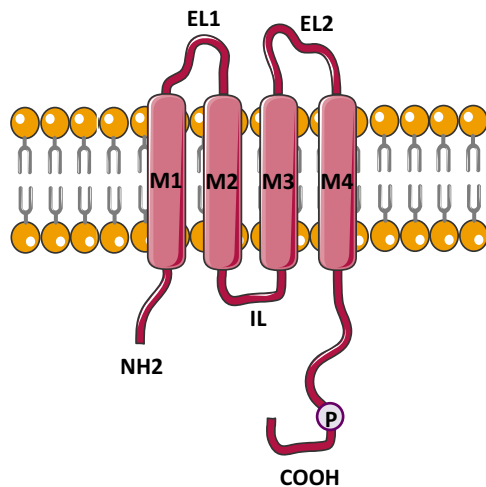
#### Structure

Les jonctions gap sont des structures membranaires, qui résultent de l'agrégation de canaux intercellulaires, permettant le transfert direct de cytoplasme à cytoplasme de petites molécules hydrophiles entre cellules adjacentes (Makowski *et al.*, 1977) (figure 1). Leur présence est observée dans pratiquement tous les types cellulaires, excepté dans les cellules sanguines circulantes, certains neurones, les cellules musculaires squelettiques adultes et les spermatozoïdes. Des études de microscopie électronique et de diffraction optique ont permis de montrer que chaque canal intercellulaire est constitué par l'assemblage de deux héli-canaux transmembranaires (les connexons) provenant chacun d'une des deux cellules en contact. Les connexons sont formés de six connexines (Cx) arrangées de telle sorte qu'elles constituent un pore central de 2 nm de diamètre permettant la diffusion de molécules d'un poids moléculaire inférieur à 1200 Da (seconds messagers : calcium, inositol triphosphate, adénosine monophosphate cyclique ; nucléotides ; oses ; ions ; acides aminés) (Loewenstein, 1981).

#### Les connexines

##### Les gènes des connexines

Chez les mammifères, les gènes des connexines sont très conservés au sein des différentes espèces. Chaque connexine est codée par un gène distinct. Le criblage des génomes murins et humains a permis d'identifier respectivement 20 et 21 gènes codant les connexines (Söhl & Willecke, 2003). Pour la plupart, ces gènes sont situés sur des chromosomes différents mais montrent toutefois une structure similaire avec deux exons séparés par un intron. Pour la plupart des gènes codant les connexines, le premier exon est petit et code une



**Fig. 2.** Représentation schématique de la structure des connexines.

séquence 5' non transcrite (5'-UTR). L'intron varie en taille d'un gène de connexine à l'autre, mais, dans tous les cas, contient un site accepteur d'épissage en amont du codon de début de traduction. Le deuxième exon est plus grand et contient en un bloc toute la séquence codante (Söhl & Willecke, 2003).

### Structure des connexines

Toutes les connexines présentent une topologie similaire, caractérisée par la présence de quatre domaines transmembranaires hydrophobes (M1, M2, M3 et M4), organisés en hélices  $\alpha$  parallèles et reliés par une boucle intracellulaire (IL) et deux boucles extracellulaires (EL-1 et EL-2). Les extrémités NH2 et COOH terminales sont situées dans le cytoplasme (Zimmer *et al.*, 1987 ; Laird & Revel, 1990 ; Zhang & Nicholson, 1994) (figure 2).

Les connexines des différentes espèces montrent une structure primaire particulièrement bien conservée aux niveaux de l'extrémité amino-terminale, des quatre domaines transmembranaires et des deux boucles extracellulaires. Les régions transmembranaires M1, M2 et M4 contiennent principalement des résidus hydrophobes alors que la région M3 comporte des résidus polaires, acides et basiques, qui entourent le canal hydrophile de chaque connexon, suggérant que cette région correspond au pore aqueux. Chacune des boucles EL-1 et EL-2 contient trois résidus cystéines qui ont conservé la même position au cours de l'évolution. Ces résidus forment des liaisons disulfures intramoléculeaires qui permettent la stabilisation de la structure tertiaire. Ces boucles extracellulaires semblent ainsi jouer un rôle fondamental dans la formation du canal, par interactions avec les boucles EL-1 et EL-2 du connexon adjacent.

Les connexines se différencient cependant par leur boucle intracellulaire, ainsi que par leur terminaison carboxyle, dont les séquences et les longueurs sont très variables d'un type à l'autre, permettant ainsi de les nommer et de les classer selon leur poids moléculaire (Willecke *et al.*, 2002). D'autre part, des sites de phosphorylations par des kinases (PKA, PKC, MAPK...) et d'interactions avec certaines protéines (tubuline, ZO-1...) sont également localisés au niveau de cette extrémité COOH terminale, permettant une régulation fonctionnelle des jonctions gap (Hervé *et al.*, 2004 ; Lampe & Lau, 2004).

### Diversité d'expression des connexines

L'expression de chaque connexine dépend des organes, du tissu et du type cellulaire. La plupart des organes et des cellules exprime plus d'un type de connexines (Oyamada *et al.*, 2005 ; Laird, 2006). Certaines connexines, comme les Cx32 et Cx43, sont présentes dans de nombreux tissus, alors que d'autres semblent spécifiques d'un tissu donné, comme par exemple, la Cx50, qui est spécifique du cristallin. Au sein d'un même tissu, le profil d'expression de chaque connexine est spécifique du type cellulaire. La co-expression de multiples connexines par un même type cellulaire rend possible l'existence de mécanismes compensatoires en cas de perte ou de mutation d'un membre de cette famille.

On observe *in vivo* et *in vitro* deux types de connexons : des connexons homomériques, constitués d'un seul type de connexines, et des connexons hétéromériques, composés de connexines de plusieurs types. Ces différentes structures des connexons donnent lieu à des jonctions gap homotypiques (association de deux connexons identiques) et hétérotypiques (deux connexons différents). Il est important de noter que les différentes configurations des connexons formant une jonction gap confèrent une sélection vis-à-vis des molécules susceptibles d'y diffuser.

### Régulation de la perméabilité jonctionnelle

La conductance globale (G) entre deux cellules dépend de la conductance unitaire de chaque canal ( $\gamma$ ), de leur probabilité d'ouverture (P) et du nombre total de canaux. La conductance globale est ainsi définie par la formule suivante :  $G = \gamma \times P \times N$ . La probabilité d'ouverture des canaux intercellulaires étant très élevée et considérée comme constante, la conductance globale entre deux cellules dépend essentiellement de la conductance unitaire ( $\gamma$ ) de chaque canal et du nombre total de canaux (N).

### Régulation de la conductance unitaire

La conductance unitaire de chaque canal peut être régulée au niveau de la fermeture ou de l'ouverture par différents facteurs comme certains ions, le niveau de phosphorylation des connexines ou encore par des composés lipophiles.

#### **Le calcium ( $Ca^{2+}$ ) et les protons ( $H^+$ )**

Ces ions entraînent la fermeture des canaux jonctionnels. Le  $Ca^{2+}$  fut le premier ion pour lequel une régulation fonctionnelle de la communication intercellulaire a été démontrée. Ce travail (Délèze, 1975) a montré que lors d'une lésion localisée du tissu cardiaque, les cellules endommagées sont rapidement isolées des cellules voisines intactes par l'établissement d'une barrière de forte résistance électrique liée à une augmentation du niveau de calcium intracellulaire. De même, l'acidification du milieu intracellulaire diminue la communication jonctionnelle mais la sensibilité au pH diffère d'une connexine à l'autre (Bevans & Harris, 1999). Il est aujourd'hui unanimement reconnu que les ions  $H^+$  et une augmentation de la concentration intracellulaire en  $Ca^{2+}$  provoquent la fermeture des jonctions gap dans de nombreux tissus (Sotkis *et al.*, 2001).

#### **La phosphorylation des connexines (Lampe & Lau, 2004)**

Les connexines peuvent être phosphorylées au niveau de leur partie C-terminale, ce qui permet de réguler la conductance unitaire de nombreux canaux intercellulaires. Il a été montré, notamment par l'utilisation de phosphatases chimiques, que la phosphorylation des connexines joue un rôle important dans la régulation de l'ouverture des canaux (Verrecchia *et al.*, 1999 ; Duthe *et al.*, 2000). Les effecteurs de cette phosphorylation sont essentiellement la protéine kinase A (PKA) et la protéine kinase C (PKC). Selon le type cellulaire considéré, ces kinases augmentent ou diminuent la communication jonctionnelle. Le cas de la Cx43 est le mieux décrit : d'une façon générale, il semblerait que la communication jonctionnelle soit augmentée en réponse à la phosphorylation de Cx43 par la PKA alors qu'elle serait diminuée en réponse à la phosphorylation de Cx43 par la PKC. Certaines études suggèrent cependant des effets inverses : par exemple, il a été montré que l'activation de la PKC dans des cardiomyocytes de rats nouveaux-nés entraînait l'augmentation du couplage jonctionnel entre les cellules.

#### **Les composés lipophiles**

Les alcools aliphatiques, les acides gras ou encore certains stéroïdes (la testostérone et l'œstradiol), en

s'insérant dans la membrane plasmique, peuvent perturber l'environnement lipidique des canaux jonctionnels et entraîner un changement de conformation des connexines qui a pour conséquence la fermeture des canaux (Pluciennik *et al.*, 1996 ; Hervé *et al.*, 1996 ; Verrecchia & Hervé, 1997a,1997b).

### Régulation du nombre de canaux

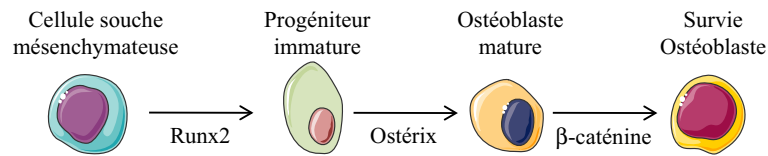
La régulation du nombre de canaux dépend de la balance entre leur synthèse et leur dégradation, c'est-à-dire de leur demi-vie et donc de celle de leurs protéines constitutives, les connexines. Schématiquement, la durée de demi-vie des connexines dépend de leur cycle de vie depuis la synthèse de la molécule dans la cellule (donc de la transcription du gène et de la traduction de la protéine) à sa dégradation, en passant par l'oligomérisation des sous-unités en un connexon, de la translocation du connexon à la membrane puis la formation de plaques jonctionnelles (Laird, 1996 ; Segretain & Falk, 2004).

Parmi les événements dont dépend la demi-vie des connexines, le contrôle de leur expression et en particulier la régulation transcriptionnelle des gènes qui les codent semblent être des événements majeurs bien décrits (Teunissen & Bierhuizen, 2004).

La transcription des gènes codant les connexines est régulée par diverses substances biologiques comme le TGF- $\beta$  (Tacheau *et al.*, 2008a) ou le TNF- $\alpha$  (Tacheau *et al.*, 2008b) qui vont activer différentes voies de transduction du signal et par conséquent des facteurs de transcription variés, et ce de façon soit indépendante soit spécifique du tissu (Oyamada *et al.*, 2005). Concernant la Cx43, une région conservée d'environ 150 paires de bases en amont du site d'initiation de la transcription, correspondant à la région promotrice, a été cartographiée chez l'Homme et la souris, dans divers types cellulaires exprimant Cx43 (Teunissen & Bierhuizen, 2004). Chez les deux espèces, on retrouve dans cette région quatre éléments de liaison à Sp1 et un élément de liaison à AP-1.

### Le remodelage osseux

Le squelette humain est composé de plus ou moins 206 os sur lesquels viennent s'insérer des ligaments et des tendons. Le tissu osseux qui compose ce squelette est un tissu conjonctif spécialisé composé d'une fraction organique et d'une fraction minérale qui lui confèrent ses propriétés de rigidité et d'élasticité. Il s'agit d'un tissu de soutien servant de point d'ancrage au système musculaire squelettique, qui remplit également des



**Fig. 3. Facteurs de transcription impliqués dans la différenciation ostéoblastique.**

fonctions de protection pour un certain nombre d'organes vitaux et qui possède aussi un rôle métabolique important puisqu'il constitue la principale réserve d'ions minéraux de l'organisme.

La fraction organique est constituée de cellules spécialisées (ostéoclastes, ostéoblastes et ostéocytes) et d'une matrice extracellulaire (collagène de type I, ostéopontine, ostéocalcine, protéoglycanes, cytokines, facteurs de croissance...). La phase minérale est composée principalement de phosphate de calcium.

Chez l'adulte, le tissu osseux est le siège d'un remodelage permanent qui fait intervenir deux types cellulaires, les ostéoblastes qui permettent la production d'une matrice minéralisée (apposition osseuse) et les ostéoclastes responsables de la dégradation de cette matrice (résorption osseuse) (Mundy *et al.*, 1994 ; Cancedda *et al.*, 2000).

### Les ostéoblastes

Les progéniteurs ostéoblastiques sont les cellules souches mésenchymateuses (CSM) (Owen, 1988 ; Marie, 2008), présentes principalement dans le stroma médullaire mais aussi au niveau du périoste et de l'endoste. Les CSM peuvent subir une série complexe d'étapes de prolifération et de différenciation, conduisant à la formation d'ostéoblastes matures, sous le contrôle de nombreux facteurs de transcription comme par exemple Runx2 ou Ostérix (Nakashima *et al.*, 2002) (figure 3).

Runx2 régule en particulier l'expression de nombreux gènes caractéristiques des ostéoblastes comme la sous-unité  $\alpha 1$  du collagène de type I, l'ostéocalcine, l'ostéopontine ou la sialoprotéine osseuse (BSP : *Bone sialoprotein*). La délétion de Runx2 chez la souris entraîne l'absence de tissu osseux (Komori *et al.*, 1997). *In vitro*, les ostéoblastes issus de ces souris perdent leur capacité à minéraliser (Lian *et al.*, 2006).

Ostérix est un facteur de transcription capable de se fixer sur des régions riches en GC présentes sur les promoteurs de la sous-unité  $\alpha 1$  du collagène de type I ou l'ostéopontine par exemple. Ce facteur agit principalement en aval de Runx2. La délétion d'Ostérix chez la souris entraîne des défauts majeurs de formation du tissu osseux (Koga *et al.*, 2005).

D'autres facteurs de transcription interviennent dans ce processus de différenciation comme les membres de la famille AP-1, la  $\beta$ -caténine, Dlx5 (*Distal-less homeobox-5*) ou Msx2 (*homeobox msh-like-2*).

Outre ces facteurs de transcription, de nombreux facteurs solubles locaux ou systémiques participent à la régulation de l'ostéogénèse comme le TGF- $\beta$  (*Transforming Growth Factor- $\beta$* ), certaines BMPs (*Bone Morphogenetic Proteins*), les FGFs (*Fibroblast Growth Factors*), la PTH (parathormone), la vitamine D ou encore certains stéroïdes.

Le TGF- $\beta$  stimule la formation osseuse grâce, entre autres, à son action sur la régulation de l'expression des gènes de la matrice extracellulaire. En effet, le TGF- $\beta$  stimule la formation du tissu conjonctif en augmentant la synthèse des composants de la matrice extracellulaire et en inhibant l'activité des enzymes de dégradation, les MMPs (*Matrix MetalloProteinases*), à la fois en diminuant leur expression et en augmentant celle de leurs inhibiteurs naturels, les TIMPs (*Tissue Inhibitors of MetalloProteinases*) (Verrecchia & Mauviel, 2002a, 2002b, 2004).

À la fin du processus de différenciation, les ostéoblastes matures ne se divisent plus et produisent de nombreux marqueurs tels que la phosphatase alcaline (enzyme participant aux processus de minéralisation), le collagène de type I (90 % de la matrice de l'os), la BSP et l'ostéopontine (protéines adhésives permettant l'adhérence des cellules à la matrice osseuse) et l'ostéocalcine (20 % des protéines non collagéniques de l'os) (Wennberg *et al.*, 2000 ; Manolagas, 2000). En dehors des protéines osseuses, les ostéoblastes synthétisent un grand nombre de cytokines et de facteurs de croissance qui jouent un rôle crucial dans la régulation du métabolisme osseux, tels que le TGF- $\beta$ , le FGF et les BMPs. Ils sécrètent également des molécules régulatrices solubles comme les cytokines IL-6, IL-11 et TNF $\alpha$ , RANK-L ou l'OPG (Ostéoprotégérine) qui agissent sur les cellules précurseurs des ostéoclastes (Blanchard *et al.*, 2009).

### Les ostéoclastes

Les ostéoclastes d'origine hématopoïétique (Chambers, 1988 ; Suda *et al.*, 1992) sont en charge de la dégradation

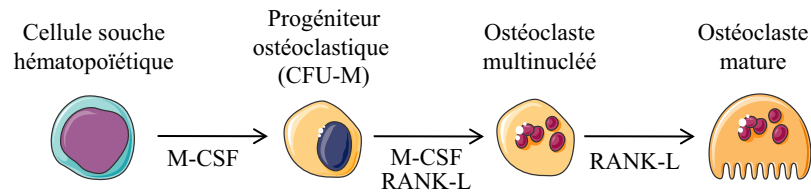


Fig. 4. Facteurs de croissance impliqués dans la différenciation ostéoclastique.

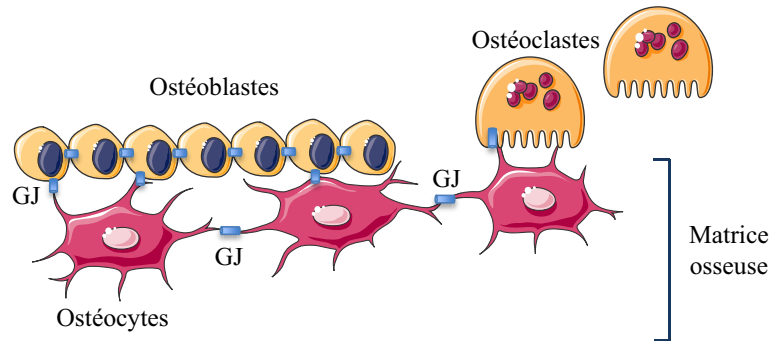


Fig. 5. Représentation schématique du couplage intercellulaire (GJ) entre cellules osseuses.

du tissu osseux. La différenciation de ces précurseurs d'origine hématopoïétique (lignée monocyte-macrophage) se produit sous l'influence de facteurs de transcription comme par exemple PU-1, c-Fos, NF- $\kappa$ B ou NFATc1 et de facteurs de croissance comme le M-CSF et RANK-L (Yavropoulou & Yovos, 2008) (figure 4). La plupart des hormones et des facteurs de croissance qui affectent la résorption osseuse agit à la fois sur l'équilibre formation/différenciation des ostéoclastes et sur leur activité. En particulier, la triade de molécules *Receptor Activator of NF- $\kappa$ B/RANK-Ligand/Ostéoprotégérine* (RANK/RANK-L/OPG) joue un rôle majeur dans ce processus. Ces cytokines, qui appartiennent à la super-famille des *Tumor Necrosis Factors* (TNF) et de leurs récepteurs, représentent un pivot moléculaire vers lequel converge la plupart des systèmes régulateurs de la résorption osseuse connus à ce jour. Schématiquement, RANK-L est un facteur pro-résorptif et l'OPG est un facteur anti-résorptif, en particulier en empêchant la fixation de RANK-L à son récepteur RANK (Theoleyre *et al.*, 2004 ; Wittrant *et al.*, 2004 ; Baud'huin *et al.*, 2007 ; Ando *et al.*, 2008 ; Mori *et al.*, 2009).

Le premier événement intervenant dans la dégradation osseuse est l'adhérence des ostéoclastes au niveau de la zone de la matrice à résorber grâce à une interaction entre la matrice organique composée, entre autres, de vitronectine, fibronectine et ostéocalcine, avec les intégrines de la membrane des ostéoclastes ( $\alpha$ v $\beta$ 3). La résorption se fait alors en deux étapes : 1) la dissolution de la matrice minérale par acidification de

la chambre de résorption (Holtrop & King, 1977) faisant intervenir des pompes à protons dépendantes de l'ATP, et 2) la dégradation de la trame organique sous l'action d'enzymes protéolytiques comme la cathepsine K (Rousselle & Heymann, 2002).

#### Rôle des jonctions communicantes dans le remodelage osseux (pour revue, voir Batra *et al.*, 2011)

De nombreuses études, en particulier histologiques, ont montré la présence de jonctions gap dans toutes les cellules du tissu osseux : ostéoblastes, ostéocytes et ostéoclastes. Trois types de connexines ont notamment été identifiés, les connexines 43, 45 et 46. La Cx45 est faiblement exprimée dans les ostéoblastes. La Cx46 présente, quant à elle, un défaut d'adressage l'empêchant de former un connexon fonctionnel à la membrane (Civitelli *et al.*, 1993 ; Koval *et al.*, 1997). L'expression ubiquitaire de la Cx43 en fait l'actrice principale de la formation des canaux intercellulaires dans le tissu osseux (figure 5). Contrairement à la Cx43, les jonctions gap formées de Cx45 possèdent un pore dont la taille ne permet pas le passage de molécules informatives excédant 0,3 kDa. De plus, les connexines 43 et 45 peuvent s'assembler pour former des connexons hétéromériques, dont les propriétés électrique et biochimique sont similaires à celles d'un connexon homomérique de Cx45 (Martinez *et al.*, 2002).

Plusieurs études *in vitro* montrent que les canaux intercellulaires jouent un rôle majeur dans la différenciation terminale des pré-ostéoblastes en ostéoblastes et dans leur activité (Batra *et al.*, 2011). Ces travaux suggèrent notamment que l'expression de la Cx43 et la communication intercellulaire modulent l'activité transcriptionnelle de différents marqueurs ostéoblastiques. En effet, la diminution de la perméabilité jonctionnelle par des inhibiteurs chimiques ou par surexpression de la Cx45, qui se comporte comme un dominant négatif vis-à-vis de la Cx43, entraîne une diminution de l'expression des marqueurs de différenciation ostéoblastique tels que le collagène de type I, la phosphatase alcaline, l'ostéocalcine ou la BSP et, par conséquent, induit une inhibition de la minéralisation osseuse (Lecanda *et al.*, 1998 ; Li *et al.*, 1999 ; Schiller *et al.*, 2001). L'étude des mécanismes moléculaires par lesquels la Cx43 module l'expression de la sous-unité  $\alpha 1$  du collagène de type I suggère que l'ouverture des canaux intercellulaires constitués de Cx43 permettrait le passage d'un médiateur cytoplasmique capable d'activer la voie de signalisation ERK. ERK modulerait alors la balance Sp1/Sp3 en faveur de Sp1, stimulant ainsi la transcription de *COL1A1* par fixation du facteur de transcription Sp1 sur des séquences riches en GC du promoteur (Stains & Civitelli, 2005). De plus, il a été démontré que l'expression de marqueurs de différenciation ostéoblastique, tels que la phosphatase alcaline, la BSP et l'ostéocalcine, est fortement diminuée dans des ostéoblastes isolés à partir de *calvaria* de souris Cx43<sup>-/-</sup> comparée aux souris sauvages. Ces cellules montrent également un défaut de minéralisation (Lecanda *et al.*, 2000).

À ce jour, peu d'études ont montré le rôle des jonctions communicantes dans l'ostéoclastogénèse. Il semble cependant que la communication intercellulaire joue un rôle dans la fusion des précurseurs ostéoclastiques en ostéoclastes matures plurinucléés (Ilvesaro *et al.*, 2000). En effet, l'utilisation d'un inhibiteur chimique, l'heptanol, ou d'un peptide inhibiteur, GAP 27, entraîne le ralentissement de la différenciation des précurseurs ostéoclastiques en ostéoclastes matures, capables de digérer une matrice de dentine (Ilvesaro *et al.*, 2001 ; Schilling *et al.*, 2008).

L'importance de la Cx43 dans le remodelage osseux a été confirmée *in vivo* grâce à l'utilisation de souris KO pour la Cx43. En effet, ces souris présentent des retards d'ossification intramembraneuse et endochondrale associées à des malformations craniofaciales (Lecanda *et al.*, 2000). D'autre part, le rôle crucial de la Cx43 dans la mise en place du squelette est également

démonstré par les nombreuses malformations osseuses retrouvées chez les patients atteints de la Dysplasie Oculodentodigitale (ODDD), qui est caractérisée par la présence de mutations du gène *GJA1* codant pour la Cx43 (Civitelli, 2008).

La Cx43 est également fortement exprimée au niveau des ostéocytes, qui correspondent au stade de différenciation terminale des ostéoblastes. Ces ostéocytes, enfouis dans la matrice osseuse, possèdent de nombreux et fins prolongements cytoplasmiques leur permettant d'établir des contacts, *via* les jonctions gap, avec les cellules osseuses environnantes, notamment les ostéoblastes. Les ostéocytes, par l'intermédiaire de ce réseau de communication, interviennent essentiellement dans la transmission de signaux mécanosensoriels au cours du remodelage osseux. En effet, il a été montré qu'un stress mécanique augmente l'expression de la Cx43 ainsi que la communication intercellulaire (Thi *et al.*, 2003). Les ostéocytes agissent comme des mécanorécepteurs, percevant les modulations des contraintes mécaniques appliquées à l'os, puis ils convertissent ces stimuli mécaniques en signaux biochimiques qu'ils transmettent *via* les jonctions gap aux cellules osseuses environnantes, assurant ainsi une adaptation fonctionnelle du tissu osseux. Cependant, les mécanismes moléculaires intervenant dans la perception de la charge mécanique par les ostéocytes jusqu'à l'initiation d'une voie de signalisation intracellulaire ne sont pas encore bien compris.

Par ailleurs, outre la formation de jonctions gap, l'existence d'hémicanaux fonctionnels, formés par la Cx43 et s'ouvrant dans le milieu extracellulaire, a également été mise en évidence, notamment au niveau des ostéocytes et des ostéoblastes. Des études ont montré que ces hémicanaux sont impliqués dans la régulation de la libération de molécules telles que NAD, ATP, NO et PGE<sub>2</sub> (prostaglandine E<sub>2</sub>). Cette libération serait notamment induite par des stimulations mécaniques au niveau des ostéocytes (Cherian *et al.*, 2005 ; Genetos *et al.*, 2007). De plus, les hémicanaux jouent également un rôle dans la réponse des cellules osseuses à divers agents pharmacologiques. En effet, il a été montré que les agents anti-apoptotiques, comme les biphosphonates, agiraient *via* les hémicanaux de Cx43 pour protéger les ostéoblastes et les ostéocytes de l'apoptose par l'activation de la cascade de signalisation Src-ERK (Plotkin *et al.*, 2002).

L'implication des jonctions communicantes dans la régulation du remodelage osseux est incontestable, et de ce fait, toute altération de ces canaux intercellulaires conduit au développement de pathologies osseuses.

## Références

- Ando K., Mori K., Rédini F., Heymann D., RANKL/RANK/OPG: key therapeutic target in bone oncology. *Curr Drug Discov Technol*, 2008, 5, 263–268.
- Batra N., Kar R., Jiang J.X., Gap junctions and hemichannels in signal transmission, function and development of bone. *Biochim Biophys Acta*, 2011 (in press).
- Baud'huin M., Lamoureux F., Duplomb L., Rédini, F., Heymann, D., RANKL, RANK, osteoprotegerin: key partners of osteoimmunology and vascular diseases. *Cell Mol Life Sci*, 2007, 64, 2334–2350.
- Bevans C.G., Harris A.L., Regulation of connexin channels by pH. Direct action of the protonated form of taurine and other aminosulfonates. *J Biol Chem*, 1999, 274, 3711–3719.
- Blanchard F., Duplomb L., Baud'huin M., Bronnais B., The dual role of IL-6-type cytokines on bone remodeling and bone tumors. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2009, 20, 19–28.
- Cancedda R., Castagnola P., Cancedda F.D., Dozin B., Quarto R., Developmental control of chondrogenesis and osteogenesis. *Int J Dev Biol*, 2000, 44, 707–714.
- Chambers T.J., The regulation of osteoclastic development and function. *Ciba Found Symp*, 1988, 136, 92–107.
- Cherian P.P., Siller-Jackson A.J., Gu S., Wang X., Bonewald, L.F., Sprague, E., Jiang, J.X., Mechanical strain opens connexin 43 hemichannels in osteocytes: a novel mechanism for the release of prostaglandin. *Mol Biol Cell*, 2005, 16, 3100–3106.
- Civitelli R., Cell-cell communication in the osteoblast/osteocyte lineage. *Arch Biochem Biophys*, 2008, 473, 188–192.
- Civitelli R., Beyer E.C., Warlow P.M., Robertson A.J., Geist S.T., Steinberg, T.H., Connexin 43 mediates direct intercellular communication in human osteoblastic cell networks. *J Clin Invest*, 1993, 91, 1888–1896.
- Cremer M., In Zum kernleiterproblem. *Z Biol*, 1898, 37, 550–553.
- Délèze J., The site of healing over after a local injury in the heart. *Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab*, 1975, 5, 223–225.
- Duthe F., Dupont E., Verrecchia F., Plaisance I., Severs N.J., Sarrouilhe D., Hervé J.C., Dephosphorylation agents depress gap junctional communication between rat cardiac cells without modifying the connexin 43 phosphorylation degree. *Gen Physiol Biophys*, 2000, 19, 441–449.
- Furshpan E.J., Potter D.D., Transmission at the giant motor synapses of the crayfish. *J Physiol*, 1959, 145, 289–325.
- Genetos D.C., Kephart C.J., Zhang Y., Yellowley C.E., Donahue H.J., Oscillating fluid flow activation of gap junction hemichannels induces ATP release from MLO-Y4 osteocytes. *J Cell Physiol*, 2007, 212, 207–214.
- Hervé J.C., Pluciennik F., Verrecchia F., Bastide B., Delage B., Joffre M., Délèze J., Influence of the molecular structure of steroids on their ability to interrupt gap junctional communication. *J Membr Biol*, 1996, 149, 179–187.
- Hervé J.C., Bourmeyster N., Sarrouilhe D., Diversity in protein-protein interactions of connexins: emerging roles. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1662, 22–41.
- Höber R., The permeability of red blood corpuscles to organic anions. *J Cell Comp Physiol*, 1936, 7, 367–391.
- Hodgkin A.L., Rushton W.A.H., The electrical constants of a crustacean nerve fibre. *Proc Roy Soc Lond*, 1946, 133, 444–479.
- Holtrop M.E., King G.J., The ultrastructure of the osteoclast and its functional implications. *Clin Orthop Relat Res*, 1977, 123, 177–196.
- Ilvesaro J., Väänänen K., Tuukkanen J., Bone-resorbing osteoclasts contain gap junctional connexin-43. *J Bone Miner Res*, 2000, 15, 919–926.
- Ilvesaro J., Tavi P., Tuukkanen J., Connexin-mimetic peptide Gap27 decreases osteoclast activity. *BMC Musculoskelet Disord*, 2001, 2, 10.
- Kanno Y., Loewenstein W.R., Intercellular diffusion. *Science*, 1964, 143, 959–960.
- Koga T., Matsui Y., Asagiri M., Kodama T., de Crombrughe B., Nakashima K., Takayanagi H., NFAT and Osterix cooperatively regulate bone formation. *Nat Med*, 2005, 11, 880–885.
- Komori T., Yagi H., Nomura S., Yamaguchi A., Sasaki K., Deguchi K., Shimizu Y., Bronson R.T., Gao Y.H., Inada M., Sato M., Okamoto R., Kitamura Y., Yoshiki S., Kishimoto T., Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell*, 1997, 89, 755–764.
- Koval M., Harley J.E., Hick E., Steinberg T.H., Connexin 46 is retained as monomers in a trans-Golgi compartment of osteoblastic cells. *J Cell Biol*, 1997, 19, 847–857.
- Laird D.W., The life cycle of a connexin: gap junction formation, removal, and degradation. *J Bioenerg Biomembr*, 1996, 28, 311–318.
- Laird D.W., Life cycle of connexins in health and disease. *Biochem J*, 2006, 394, 527–43.
- Laird D.W., Revel J.P., Biochemical and immunochemical analysis of the arrangement of connexin 43 in rat heart gap junction membranes. *J Cell Sci*, 1990, 97, 109–117.
- Lampe P.D., Lau A.F., The effects of connexin phosphorylation on gap junctional communication. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, 36, 1171–1186.
- Lecanda F., Towler D.A., Ziambaras K., Cheng S.L., Koval M., Steinberg T.H., Civitelli R., Gap junctional communication modulates gene expression in osteoblastic cells. *Mol Biol Cell*, 1998, 9, 2249–2258.
- Lecanda F., Warlow P.M., Sheikh S., Furlan F., Steinberg T.H., Civitelli R., Connexin 43 deficiency causes delayed



- ossification, craniofacial abnormalities, and osteoblast dysfunction. *J Cell Biol*, 2000, 151, 931–944.
- Li Z., Zhou Z., Yellowley C.E., Donahue H.J., Inhibiting gap junctional intercellular communication alters expression of differentiation markers in osteoblastic cells. *Bone*, 1999, 25, 661–666.
- Lian J.B., Stein G.S., Javed A., van Wijnen A.J., Stein J.L., Montecino M., Hassan M.Q., Gaur T., Lengner C.J., Young D.W., Networks and hubs for the transcriptional control of osteoblastogenesis. *Rev Endocr Metab Disord*, 2006, 7, 1–16.
- Loewenstein W.R., Permeability of membrane junctions. *Ann N Y Acad Sci*, 1966, 137, 441–472.
- Loewenstein W.R., Junctional intercellular communication: the cell-to-cell membrane channel. *Physiol Rev*, 1981, 61, 829–913.
- Makowski L., Caspar D.L., Phillips W.C., Goodenough D.A., Gap junction structures. II. Analysis of the X-ray diffraction data. *J Cell Biol*, 1977, 74, 629–645.
- Manolagas S.C., Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev*, 2000, 21, 115–137.
- Marie P.J., Transcription factors controlling osteoblastogenesis. *Arch Biochem Biophys*, 2008, 473, 98–105.
- Martinez A.D., Hayrapetyan V., Moreno A., Beyer E., Connexin 43 and connexin 45 form heteromeric gap junction channels in which individual components determine permeability and regulation. *Circ Res*, 2002, 90, 1100–1107.
- Mori K., Ando K., Heymann D., Rédini F., Receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand (RANKL) stimulates bone-associated tumors through functional RANK expressed on bone-associated cancer cells. *Histol Histopathol*, 2009, 24, 235–242.
- Mundy G.R., Peptides and growth regulatory factors in bone. *Rheum Dis Clin North Am*, 1994, 20, 577–588.
- Nakashima K., Zhou X., Kunkel G., Zhang Z., Deng J.M., Behringer R.R., de Crombrughe B., The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation. *Cell*, 2002, 108, 17–29.
- Owen M., Marrow stromal stem cells. *J Cell Sci*, 1988, 10, 63–76.
- Oyamada M., Oyamada Y., Takamatsu T., Regulation of connexin expression. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 20, 6–23.
- Plotkin L.I., Manolagas S.C., Bellido T., Transduction of cell survival signals by connexin-43 hemichannels. *J Biol Chem*, 2002, 277, 8648–8657.
- Pluciennik F., Verrecchia F., Bastide B., Hervé J.C., Joffre M., Déléze J., Reversible interruption of gap junctional communication by testosterone propionate in cultured Sertoli cells and cardiac myocytes. *J Membr Biol*, 1996, 149, 169–177.
- Revel J.P., Karnovsky M.J., Hexagonal array of subunits in intercellular junctions of the mouse heart and liver. *J Cell Biol*, 1967, 33, C7–C12.
- Rousselle A.V., Heymann D., Osteoclastic acidification pathways during bone resorption. *Bone*, 2002, 30, 533–540.
- Schiller P.C., D'Ippolito G., Balkan W., Roos B.A., Howard G.A., Gap-junctional communication is required for the maturation process of osteoblastic cells in culture. *Bone*, 2001, 28, 362–369.
- Schilling A.F., Filke S., Lange T., Gebauer M., Brink S., Baranowsky A., Zustin J., Amling M., Gap junctional communication in human osteoclasts *in vitro* and *in vivo*. *J Cell Mol Med*, 2008, 12, 2497–2504.
- Schleiden M.J., Beitrage zur phylogenese. *In Muller Arch. Anat. Physiol. Wiss. Medic.*, 1938, pp. 137–176.
- Segretain D., Falk M.M., Regulation of connexin biosynthesis, assembly, gap junction formation, and removal. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 23, 3–21.
- Simionescu M., Simionescu N., Palade G.E., Segmental differentiations of cell junctions in the vascular endothelium. The microvasculature. *J Cell Biol*, 1975, 67, 863–885.
- Söhl G., Willecke K., An update on connexin genes and their nomenclature in mouse and man. *Cell Commun Adhes*, 2003, 10, 173–180.
- Sotkis A., Wang X.G., Yasumura T., Peracchia L.L., Persechini A., Rash J.E., Peracchia C., Calmodulin colocalizes with connexins and plays a direct role in gap junction channel gating. *Cell Commun Adhes*, 2001, 8, 277–281.
- Stains J.P., Civitelli R., Gap junctions regulate extracellular signal-regulated kinase signaling to affect gene transcription. *Mol Biol Cell*, 2005, 16, 64–72.
- Suda T., Takahashi N., Martin T.J., Modulation of osteoclast differentiation. *Endocr Rev*, 1992, 13, 66–80.
- Tacheau C., Fontaine J., Loy J., Mauviel A., Verrecchia F., TGF- $\beta$  induces connexin 43 gene expression in normal murine mammary gland epithelial cells via activation of p38 and PI3K/AKT signaling pathways. *J Cell Physiol*, 2008a, 217, 759–768.
- Tacheau C., Laboureau J., Mauviel A., Verrecchia F., TNF- $\alpha$  represses connexin 43 expression in HaCat keratinocytes via activation of JNK signaling. *J Cell Physiol*, 2008b, 216, 438–444.
- Teunissen, B.E., Bierhuizen, M.F., Transcriptional control of myocardial connexins. *Cardiovasc Res*, 2004, 62, 246–255.
- Theoleyre S., Wittrant Y., Tat S.K., Fortun Y., Rédini F., Heymann D., The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2004, 15, 457–475.

- Thi M.M., Kojima T., Cowin S.C., Weinbaum S., Spray D.C., Fluid shear stress remodels expression and function of junctional proteins in cultured bone cells. *Am J Physiol: Cell Physiol*, 2003, 284, C389–C403.
- Verrecchia F., Hervé J.C., Reversible inhibition of gap junctional communication by tamoxifen in cultured cardiac myocytes. *Pflugers Arch*, 1997a, 434, 113–116.
- Verrecchia F., Hervé J.C., Reversible inhibition of gap junctional communication elicited by several classes of lipophilic compounds in cultured rat cardiomyocytes. *Can J Cardiol*, 1997b, 13, 1093–1100.
- Verrecchia F., Mauviel A., Control of connective tissue gene expression by TGF- $\beta$ : role of Smad proteins in fibrosis. *Curr Rheumatol Rep*, 2002a, 4, 143–149.
- Verrecchia F., Mauviel A., Transforming growth factor-beta signaling through the Smad pathway: role in extracellular matrix gene expression and regulation. *J Invest Dermatol*, 2002b, 118, 211–215.
- Verrecchia F., Mauviel A., TGF- $\beta$  and TNF- $\alpha$ : antagonistic cytokines controlling type I collagen gene expression. *Cell Signal*, 2004, 16, 873–880.
- Verrecchia F., Duthe F., Duval S., Duchatelle I., Sarrouilhe D., Hervé J.C., ATP counteracts the rundown of gap junctional channels of rat ventricular myocytes by promoting protein phosphorylation. *J Physiol*, 1999, 516, 447–459.
- Weidmann S., The electrical constants of Purkinje fibres. *J Physiol*, 1952, 118, 348–360.
- Wennberg C., Hesse L., Lundberg P., Mauro S., Narisawa S., Lerner U.H., Millán J.L., Functional characterization of osteoblasts and osteoclasts from alkaline phosphatase knockout mice. *J Bone Miner Res*, 2000, 15, 1879–1888.
- Willecke K., Eiberger J., Degen J., Eckardt D., Romualdi A., Guldenagel M., Deutsch U., Sohl G., Structural and functional diversity of connexin genes in the mouse and human genome. *Biol Chem*, 2002, 383, 725–737.
- Wittrant Y., Theoleyre S., Chipoy C., Padrines M., Blanchard F., Heymann D., Rédini F., RANKL/RANK/OPG: new therapeutic targets in bone tumours and associated osteolysis. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1704, 49–57.
- Yavropoulou M.P., Yovos J.G., Osteoclastogenesis-current knowledge and future perspectives. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2008, 8, 204–216.
- Zhang J.T., Nicholson B.J., The topological structure of connexin 26 and its distribution compared to connexin 32 in hepatic gap junctions. *J Membr Biol*, 1994, 139, 15–29.
- Zimmer D.B., Green C.R., Evans W.H., Gilula N.B., Topological analysis of the major protein in isolated intact rat liver gap junctions and gap junction-derived single membrane structures. *J Biol Chem*, 1987, 262, 7751–7763.