Signaux moléculaires et mécaniques intervenant dans la différenciation des cellules tendineuses

Ludovic Gaut, Marie-Ange Bonnin, Nicolas Robert, Mathias Mericskay, Delphine Duprez

Les tendons sont des formes uniques de tissu conjonctif du système musculo-squelettique. Ils sont formés par une matrice dense de fibres de collagène de type I qui sont orientées parallèlement à l'axe du tendon. Cette organisation spécifique leur donne la capacité de supporter les forces générées par le muscle pour les transmettre à l'os, permettant ainsi le mouvement. Le développement, l'homéostasie et la réparation du tendon reposent sur une combinaison spécifique de facteurs de transcription, de facteurs de croissance ainsi que de paramètres mécaniques régulant la production et l'assemblage des fibres de collagène [1, 2]. Les cascades moléculaires régissant la différenciation du tendon ne sont pas aussi bien décrites que celles des cellules musculaires. Toutefois, l'étude du tendon a été rendue possible grâce à la découverte de certains acteurs moléculaires tels que le facteur de transcription Scx [1-3], le plus spécifique et précoce dans le développement du tendon, ou encore le facteur de transcription mécanosensitif *Egr1* [1, 2, 4, 5]. Au cours des dernières années, de nombreuses études ont montré l'importance des forces mécaniques générées par les cellules ou les tissus au cours du développement ou des processus de différenciation cellulaire [6]. Notre objectif est de comprendre comment la cellule de tendon va intégrer les signaux mécaniques et d'identifier quelles voies de signalisation seront activées en aval de ces signaux pour déclencher la différenciation tendineuse.

La mécanobiologie du tendon a été étudiée *in vivo* au cours du développement. Une paralysie des embryons de poulet au stade E7.5 a été induite par traitement au bromure de décaméthonium (DMB), un agoniste du récepteur à l'acétylcholine bloquant la jonction neuromusculaire [7]. Le traitement au DMB va induire une paralysie musculaire et donc interrompre les mouvements rythmiques effectués par l'embryon (Figure 1A). Chez les embryons

paralysés, l'expression du marqueur de tendon SCX est diminuée dès 5h et à 48h de traitement (Figure 1A). Ce défaut a notamment été observé avant la diminution des marqueurs musculaires PAX7 et MYF5 (Figure 1A), indiquant que le changement observé est dû à une absence de contraction plutôt qu'à une perte d'un signal biochimique provenant du muscle adjacent.

La mécanobiologie a également été étudiée dans un système *in vitro* mimant la formation d'un tendon *in vitro*. Des cultures de cellules souches dans un système en trois dimensions (3D), consistant en un tube de gel de fibrine maintenu sous tension, miment la formation d'un tendon *in vitro* (Figure 1B) [8]. Des tendons *in vitro* ont ainsi été réalisés en utilisant une lignée murine de cellules souches mésenchymateuses (CSM), les C3H10T1/2. La comparaison de l'expression de différents gènes dans les CSM cultivées en 3D versus 2D met en évidence une augmentation des marqueurs de tendon Scx, et *Col1a1* ainsi que du facteur de transcription mécanosensitif *Egr1* (Figure 1B). La perte de tension de ces tendons *in vitro* (après section) conduit à la diminution de l'expression d'*Egr1* et des gènes de tendon, Scx et *Col1a1* (Figure 1C). L'expression forcée de *Egr1* dans les cellules C3H10T1/2 permet d'empêcher la diminution des marqueurs de tendons dans ces tendons *in vitro* sans tension (Figure 1D). Ces résultats démontrent l'importance des forces mécaniques dans le maintien de l'identité tendon des CSM. De plus, ils montrent l'implication du facteur de transcription *Egr1* en aval des forces mécaniques dans le maintien des marqueurs de tendons.

Ces résultats soulignent l'importance des signaux mécaniques pour le développement du tendon et la différenciation tendineuse à partir des cellules souches. Cependant, les liens existant entre les signaux mécaniques et moléculaires restent à être identifiés dans le contexte de la différenciation du tendon.

Ludovic Gaut
CNRS UMR 7622,
IBPS-Laboratoire
de Biologie
du Développement,
F-75005, Paris, France
Inserm U1156, F-75005
Paris, France
Sorbonne Universités,
UPMC Univ Paris 06,
IBPS, F-75005 Paris,
France
CNRS UMR 8256,
IBPS-Adaptation
Biologique et
Vieillesse, F-75005,
Paris, France
Inserm U1164, F-75005
Paris, France

Marie-Ange Bonnin
Nicolas Robert
Delphine Duprez
CNRS UMR 7622,
IBPS-Laboratoire
de Biologie
du Développement,
F-75005, Paris, France
Inserm U1156, F-75005
Paris, France
Sorbonne Universités,
UPMC Univ Paris 06,
IBPS, F-75005 Paris,
France

Mathias Mericskay
Sorbonne Universités,
UPMC Univ Paris 06,
IBPS, F-75005 Paris,
France
CNRS UMR 8256,
IBPS-Adaptation
Biologique
et Vieillesse,
F-75005, Paris, France
Inserm U1164, F-75005
Paris, France

Figure 1

Signaux moléculaires et mécaniques intervenant dans la différenciation des cellules tendineuses.

(A) Procédure expérimentale du traitement au bromure de décéméthonium (DMB) induisant une inhibition des mouvements (flèches rouges) et expression des gènes associés aux différents lignages cellulaires. (B) Représentation d'une construction 3D de tendon *in vitro* et graphe d'expression des gènes dans des cultures cellulaires 3D comparée aux cultures 2D. (C) Représentation des constructions 3D avec tension (gauche) et sans tension (droit) et graphe d'expression des gènes associés aux tendons dans les 3D sans tension vs avec tension. (D) Représentation des constructions 3D surexprimant *Egr1* (3D-*Egr1*) avec tension (gauche) et sans tension (droit) et graphe d'expression des gènes associés aux tendons dans les 3D-*Egr1* avec tension vs sans tension. Tests statistiques utilisés sont les tests non-paramétriques de Mann-Whitney. * = p-value $\leq 0,05$; ** = p-value $\leq 0,01$; *** = p-value $\leq 0,001$.

Oral communications and Posters Awards 2015

Molecular and mechanical signals underlying tendon cell differentiation

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Gaut L, Duprez D. Tendon development and diseases. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol* 2016 ; 5 : 5-23.
2. Huang AH, Lu HH, Schweitzer R. Molecular regulation of tendon cell fate during development. *J Orthop Res* 2015 ; 33 : 800-12.
3. Schweitzer R, Chyung JH, Murtaugh LC, *et al.* Analysis of the tendon cell fate using scleraxis, a specific marker for tendons and ligaments. *Development* 2001 ; 128 : 3855-66.
4. Lejard V, Blais F, Guerquin MJ, *et al.* EGR1 and EGR2 involvement in vertebrate tendon differentiation. *J Biol Chem* 2011 ; 286 : 5855-67.
5. Guerquin MJ, Charvet B, Nourissat G, *et al.* Transcription factor EGR1 directs tendon differentiation and promotes tendon repair. *J Clin Invest* 2013 ; 123 : 3564-76.
6. Mammoto T, Mammoto A, Ingber DE. Mechanobiology and developmental control. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2013 ; 29 : 27-61.
7. Nowlan N, Sharpe J, Roddy K, *et al.* Mechanobiology of embryonic skeletal development: Insights from animal models. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2010 ; 90 : 203-13.
8. Bayer M, Yeung C, Kadler K, *et al.* The initiation of embryonic-like collagen fibrillogenesis by adult human tendon fibroblasts when cultured under tension. *Biomaterials* 2010 ; 31 : 4889-97.

EMC

45TH EUROPEAN MUSCLE CONFERENCE

MONTPELLIER
2, 3, 4, 5, 6th
of September
2016 - FRANCE

The Muscles

SESSIONS / SPEAKERS

- **Keynote lecture**
↳ Andrew Marks (Columbia University, New York, USA)
- **Molecular motor and Contractile structure**
↳ Anne Houdusse (France) & Lee Sweeney (USA)
- **Molecular motor and Contractile function (actomyosin)**
↳ Robin Candau (France) & Vincenzo Lombardi (Italy)
- **Muscle plasticity and Chronic disease**
↳ Xavier Bigard (France) & Volker Adams (Germany)
- **Mechanotransduction (VIDD, Shear stress, Starling's law)**
↳ Stefan Matecki (France) & Basil Petrof (Canada)
- **Muscle development and aging**
↳ Robert Kelly (France) & Peter Zammit (UK)
- **Epigenetics of muscle regeneration**
↳ Shahragim Tajbakhsh (France) & Esther Barreiro (Spain)
- **Excitation-contraction coupling in skeletal muscle**
↳ Bruno Allard (France) & Hakan Westerblad (Sweden)
- **Excitation contraction coupling in cardiac muscle**
↳ Alain Lacampagne (France) & Stephan Lehmann (Germany)
- **Metabolism... and bio-energetics**
↳ Jeremy Fauconnier (France) & Martin Picard (USA)
- **Bio energetism... and Metabolism**
↳ Philippe Dolez (France) & Fabio di Lisa (Italy)
- **Neuro-muscular disease and therapeutic approach**
↳ Vincent Mouly (France) & Kevin Flanigan (USA)
- **Muscle cytoskeleton**
↳ Olivier Cazorla (France) & Henk Granzier (USA)
- **Smooth muscle motility**
↳ Vincent Souzeau (France) & Katherine Morgan (USA)
- **Cardiomyopathy and Heart failure**
↳ Bijan Ghaleh (France) & Michel Dzive (France)

www.emc2016-montpellier.com