

FACTEURS GÉNÉTIQUES DANS L'OSTÉOPOROSE

Marie-Christine de VERNEJOU, Martine COHEN-SOLAL - PARIS

PLAN

- 1. QUELLE EST L'HÉRITABILITÉ DE L'OSTÉOPOROSE ?**
- 2. UN GÈNE AYANT DES EFFETS MAJEURS OU DE MULTIPLES GÈNES AVEC CHACUN DES EFFETS MINIMES ?**
- 3. QUELLES SONT LES MÉTHODES QUI ONT ÉTÉ UTILISÉES POUR ÉLUCIDER LES GÈNES DONT LES VARIANTS INFLUENT SUR L'OSTÉOPOROSE ?**
 - 3.1. Les gènes candidats
 - 3.2. Études de liaison
 - 3.3. Les études d'association avec criblage du génome
- 4. QUELS SONT LES PRINCIPAUX GÈNES DONT LES VARIANTS SONT ASSOCIÉS À LA DENSITÉ OSSEUSE ET AUX FRACTURES ?**
- 5. CONCLUSION**
- 6. RÉFÉRENCES**

L'ostéoporose est caractérisée par une densité osseuse basse et se manifeste cliniquement par des fractures. C'est une maladie multifactorielle due à de nombreux facteurs d'environnement qui augmentent le risque de l'affection, mais aussi à des facteurs génétiques qui ont été abondamment étudiés ces dix dernières années.

1. QUELLE EST L'HÉRITABILITÉ DE L'OSTÉOPOROSE ?

La densité osseuse est le phénotype le plus utilisé pour étudier la génétique de l'ostéoporose car il est quantifiable, corrélé au risque d'ostéoporose et moins soumis aux difficultés d'anamnèse que les fractures. C'est essentiellement le capital osseux acquis en fin de croissance qui est sous influence génétique : dans les études familiales et les études de jumeaux, 60 à 90 % de la densité osseuse au rachis lombaire et au col du fémur est sous influence génétique à la fin de la croissance. Des études récentes effectuées sur des jumeaux mono ou dizygotes montrent que la perte osseuse est également sous influence génétique mais dans une moindre proportion : 40 % de la perte osseuse au rachis de 724 paires de jumelles ménopausées est génétiquement déterminée (11). On peut noter aussi que chez la femme la carence en estrogènes est un déterminant de la perte osseuse. Or, l'âge de la ménopause est sous forte influence génétique et plusieurs locus ont été retrouvés associés à ce facteur, ce qui appuie la notion que la perte osseuse chez la femme est génétiquement déterminée.

Bien que la survenue de fractures chez les parents soit un facteur reconnu de risque fracturaire, l'héritabilité des fractures est moindre que celle de la densité osseuse. Les études de jumeaux évaluant la concordance des fractures ont produit des résultats conflictuels ; ceci est sans doute dû à l'influence importante des facteurs d'environnement et des facteurs extra-osseux, chez les sujets âgés, dans le déterminisme des fractures. Ceci est bien montré dans une étude portant sur environ 10 000 jumeaux suédois ayant eu ou non une fracture après 50 ans. Cette étude montre qu'il n'existe que peu de concordance dans la survenue des fractures : l'héritabilité des fractures est de moins de 20 % dans l'ensemble de la population. Cependant, cette proportion est plus élevée si on considère les fractures du col du fémur chez les sujets les plus jeunes : l'héritabilité est de 68 % avant 69 ans alors qu'elle n'est que de 3 % après 79 ans (12).

2. UN GÈNE AYANT DES EFFETS MAJEURS OU DE MULTIPLES GÈNES AVEC CHACUN DES EFFETS MINIMES ?

Plusieurs **pathologies osseuses rares**, qui affectent la masse osseuse d'une manière importante, sont dues à des mutations d'un seul gène (variant rare affectant d'une manière importante la fonction de la protéine pour laquelle ils codent).

- Deux d'entre elles se manifestent par une **ostéoporose**. C'est tout d'abord l'ostéogenèse imparfaite due à des mutations dans la séquence codante de l'un des deux gènes qui codent pour le collagène de type I, COL1A1 et COL1A2. L'ostéoporose associée au pseudogliome (OPPG) est due à des mutations dans le gène qui code pour le co-récepteur LRP5. Cette ostéoporose récessive est caractérisée par des fractures associées à une cécité. Des mutations situées dans d'autres régions de ce même gène LRP5 peuvent entraîner à l'inverse une masse osseuse élevée. L'identification du gène LRP5, dont le gain de fonction se traduit par une densité osseuse élevée et la perte de fonction une ostéoporose, a permis une grande avancée dans la biologie de l'ostéoporose montrant le rôle majeur dans la formation osseuse de la voie wnt dont nous reparlerons plus tard à propos des gènes candidats de l'ostéoporose.
- D'autres pathologies humaines, se manifestant cette fois par une **ostéosclérose**, sont dues à des mutations dans un seul gène. C'est tout d'abord la maladie de van Buchem qui est due à une mutation inactivatrice dans le gène SOST qui code pour la sclérostine, un inhibiteur de LRP5. Citons aussi les ostéopétroses qui sont dues à des mutations dans des gènes qui affectent la fonction ou la différenciation ostéoclastique : parmi celles-ci les mutations de RANK et RANKL induisent des « ostéopétroses pauvres en ostéoclastes ». Enfin on peut terminer cette énumération des gènes dont les mutations affectent la masse osseuse par le TGF- β , un facteur de croissance dont les mutations sont responsables de la maladie de Camurati-Engelman, qui se traduit par un épaississement des diaphyses (9).

Tous ces gènes et d'autres, dont l'inactivation chez la souris résulte en des modifications importantes de la masse osseuse, sont susceptibles d'être impliqués dans le déterminisme de l'**ostéoporose commune** (23). Celle-ci, à l'inverse de toutes ces pathologies rares, est une affection polygénique due à de multiples polymorphismes (variants survenant dans >1 % de la population et ayant un effet modeste sur la fonction de la protéine) ayant chacun des effets minimes sur la densité osseuse. L'autre possibilité, soulevée au début des années 2000, était que les variants d'un gène majeur soit responsable d'une grande partie de la variance de la densité osseuse (1) mais cette possibilité semble exclue par les études récentes (3,14).

3. QUELLES SONT LES MÉTHODES QUI ONT ÉTÉ UTILISÉES POUR ÉLUCIDER LES GÈNES DONT LES VARIANTS INFLUENT SUR L'OSTÉOPOROSE ?

3.1. Les gènes candidats

Les polymorphismes de plus de 150 gènes candidats impliqués dans la régulation du remodelage osseux ont été évalués. Ils portent sur des études d'association avec la densité osseuse ou de répartition dans des études cas témoins. On a étudié le polymorphisme des gènes de la matrice extracellulaire, des hormones calciotropes, des cytokines, d'enzymes et de récepteurs cellulaires et surtout des gènes qui font partie des nouvelles voies biologiques osseuses : la voie wnt et le système RANKL/RANK, et ostéoprotégérine.

Ces études ont cependant l'inconvénient de générer des faux positifs ou faux négatifs en fonction de facteurs confondants dans la population où ils sont étudiés. Le poids de l'association entre les polymorphismes et le trait varie selon le fond génétique et l'environnement. C'est pourquoi elles nécessitent d'être confirmées dans plusieurs populations, et par l'intermédiaire de méta analyses, ce qui a été fait récemment pour nombre d'entre eux dans un consortium européen, GENOMOS. Dans ce cadre, certains polymorphismes ont été testés sur 4 500 sujets (10). Par ailleurs plusieurs polymorphismes décrits sont situés dans des introns dont la signification biologique reste inconnue. Enfin, l'association entre un gène et la densité osseuse pourrait ne pas être directement responsable du trait observé mais être secondaire à un déséquilibre de liaison avec d'autres gènes fonctionnels situés à proximité du gène étudié. De telles associations ne seraient que des marqueurs corollaires du trait observé.

3.2. Études de liaison

Les analyses de liaison ont pour objectif l'identification d'une région contenant un gène de la maladie et utilisent la transmission du phénotype dans une famille : la densité osseuse pour l'ostéoporose. Les loci identifiés peuvent être différents selon la population étudiée. L'identification de ces régions après criblage du génome est un préalable à l'identification des gènes responsables. Des criblages du génome, effectués en utilisant comme marqueurs des microsatellites, ont été publiés sur des familles issues de patients ostéoporotiques. Ces études montrent la présence de plusieurs régions d'intérêt associées à la densité osseuse à la colonne lombaire et au col du fémur (13). Récemment nous avons effectué une analyse de liaison par criblage du génome dans des familles d'hommes atteints d'ostéoporose idiopathique. Nous avons identifié 4 régions reliées à la densité osseuse dont trois étaient situées dans la région des gènes codant pour LRP5, la sclérostine et RANKL (7). Cependant, dans bien des études, aucune des régions, identifiées dans un criblage du génome par analyse de liaison, n'a été confirmée par les autres et elle ne correspondait souvent à aucun des gènes candidats déjà testés dans l'ostéoporose. Finalement, ces analyses de liaison n'ont eu qu'un succès modeste dans l'ostéoporose sans doute parce que cette méthodologie est plus efficace pour détecter un variant ayant un effet majeur, ce qui n'est pas le cas dans l'ostéoporose commune

3.3. Les études d'association avec criblage du génome

Cette approche a permis de localiser des régions d'intérêt appelées QTL (quantitative trait locus) sur certaines régions des chromosomes sans faire d'hypothèse préalable sur les déterminants génétiques à l'inverse de l'approche par gène candidat. Ces criblages du génome sont fondés sur les cartes des « *single nucleotide polymorphisms* » (SNP) publiées dans la littérature. Les progrès techniques des criblages du génome permettent maintenant d'utiliser des puces qui contiennent plus de 300 000 SNP répartis sur tout le génome et de tester leur association avec le trait quantitatif qu'est la densité osseuse dans de grandes populations (plus de 1000 sujets). Cette approche pourrait permettre de mettre en évidence de nouveaux gènes qui n'étaient pas connus pour être liés à des variations de densité osseuse.

Il s'agit de la méthode actuellement la plus utilisée dans l'ostéoporose comme dans d'autres pathologies multifactorielles (hypertension, diabète de type II, goutte..). En règle générale les résultats trouvés dans une cohorte (la cohorte de découverte) sont confrontés à ceux observés dans d'autres cohortes pour les confirmer. En utilisant ce type de méthodes, plusieurs articles récents portant sur de grandes populations ont permis de montrer des résultats assez concordants. Ces études ont toutes été effectuées sur de grandes cohortes comprenant plusieurs milliers de sujets en testant un grand nombre de SNP. La première étude pratiquée sur plus de 2000 femmes britanniques et confirmée chez 6000 autres européennes a montré l'association avec deux SNP localisés dans la région du gène de l'ostéoprotégérine et de LRP5 (14). Puis, une étude pratiquée par de CODE sur plus de 6000 sujets islandais et confirmée sur 8000 autres sujets européens a montré une association avec des SNP situés dans la région de 13 gènes (18). Le groupe islandais a agrandi son échantillon de 20 % et mis en évidence 4 autres gènes (19). Finalement une méta-analyse effectuée par le consortium GEFOS (*Genetic Factors for Osteoporosis*) sur 5 cohortes, dont les deux incluses dans les études précédentes, a porté sur des criblages du génome sur un total de 20 000 sujets environ. Ils ont mis en évidence 20 gènes associés dont 13 étaient nouveaux (18).

4. QUELS SONT LES PRINCIPAUX GÈNES DONT LES VARIANTES SONT ASSOCIÉS À LA DENSITÉ OSSEUSE ET AUX FRACTURES ?

Les études de criblage du génome ont mis en évidence des associations avec les acteurs de la voie RANK, RANK-L et ostéoprotégérine. Dans des études de gènes candidats, une association entre plusieurs polymorphismes des gènes codant pour RANK, le récepteur de RANKL et de RANKL lui-même, avec la densité osseuse avait été trouvée (8). L'association avec des SNP situés dans ces deux gènes et la densité osseuse a été observée dans le criblage du génome de deCODE et confirmée dans la méta analyse du consortium GEFOS (18). De même le gène codant pour l'ostéoprotégérine a été trouvé associé à la densité osseuse dans toutes les études de criblage du génome.

Plusieurs études de gènes candidats se sont attachées à retrouver une association de la densité osseuse avec des gènes codant pour des protéines de la famille de la voie wnt qui régule la formation osseuse et tout particulièrement de LRP5 et SOST. Plusieurs études isolées ont montré une association significative des génotypes de LRP5 et de la densité osseuse en particulier chez l'homme (4). Une étude regroupant 25 000 sujets issus de 18 cohortes différentes (22) a testé l'effet de deux polymorphismes dans LRP5 sur la densité osseuse et a mis en évidence une association significative mais un effet faible des ces variants (moins de 1 à 2 % de la densité osseuse au rachis ou au fémur). Enfin les variants du gène SOST qui code pour la sclérostine, un inhibiteur de la formation osseuse qui inhibe LRP5 ont été effectuées. La liaison avec la densité osseuse est modeste (21). Les études de criblage du génome ont observé une association avec des SNP situés dans ces deux gènes et la densité osseuse. Mais d'autres acteurs putatifs de cette voie wnt ont aussi été retrouvés dans les criblages du génome : des gènes codant pour LRP4, la caténine et le gène GPR177 qui code pour un homologue de wnt (18).

En dehors de ces voies le gène ESR1 qui code pour le récepteur des estrogènes a été trouvé associé à la densité osseuse dans de vastes études de gènes candidats (5), dans un criblage du génome et dans la méta-analyse de GEFOS. Une méta-analyse sur les différentes études de gènes candidats portant sur plus de 5 000 sujets avait aussi trouvé une association. Il faut également signaler des facteurs de transcription impliqués dans la différenciation ostéoblastiques, comme osterix, ou encore des gènes qui codent pour des protéines de la matrice comme MEPE et SP1 (ostéopontine), des protéases comme ADAMT18.

Parmi les 24 gènes mis en évidence dans ces études de criblage, une dizaine ne sont pas connus pour avoir un rôle dans le remodelage osseux et ont des fonctions générales en biologie cellulaire. Il est certain que leur éventuel rôle dans le remodelage osseux va être testé dans des études fonctionnelles.

A l'inverse, la place des gènes candidats qui avaient été évalués dans des études cas/témoins ou d'association a été évaluée de nouveau en utilisant les résultats de génotypage de 5 cohortes européennes incluant près de 20 000 sujets (16). Tous les « *single nucleotide polymorphisms* » (SNP) testés dans des criblages du génome et situés dans 150 gènes candidats précédemment testés dans l'ostéoporose ont été évalués. Les auteurs ont observé que parmi ces 150 gènes seuls 9 étaient associés avec les valeurs de densité osseuse. Ces gènes codent pour les protéines suivantes : récepteur alpha des estrogènes, LRP5, LRP4, sclérostine, RANKL, RANK, et ostéoprotégérine, ainsi que l'ostéopontine (une protéine de la matrice) et une intégrine (un récepteur des ostéoblastes à la matrice osseuse). Il n'a pas été retrouvé d'association positive avec le récepteur de la vitamine D et le collagène I (16).

5. QUELLES SONT LES LIMITES DES ÉTUDES ACTUELLES ?

Un point extrêmement décevant des études actuelles est la faible part de la densité osseuse qui est expliquée par les différents variants étudiés aussi bien dans les études de gènes candidats que dans les études de criblage du génome. Chacun des variants n'est responsable que de moins de 1 % de la variation de la densité osseuse. Dans la méta-analyse qui a porté sur 20 000 sujets, l'effet combiné des 20 locus identifiés expliquait 2,9 % de la variance de la densité osseuse au rachis. Si on considère le risque fracturaire, le risque relatif de fracture, quoique significatif, ne dépasse pas 1,1 en prenant en compte tous les variants étudiés.

Comment expliquer ces résultats modestes ? Il est vraisemblable qu'une multitude d'autres variants avec des effets encore plus minimes et donc non détectables, à moins d'utiliser des cohortes encore plus grandes, soient en cause. Des variants rares ayant un effet majeur ont pu ne pas être identifiés par les criblages du génome et pourraient nécessiter des techniques moléculaires plus poussées. Enfin les interactions entre gènes n'ont pas été testées non plus que les interactions avec l'environnement. Il est également possible que la stratégie d'étudier des cohortes non sélectionnées ne soit pas la plus efficace : des populations avec des densités osseuses hautes ou basses pourraient donner des résultats plus probants.

6. CONCLUSION

En conclusion, malgré une héritabilité importante, les études génétiques récentes sur l'ostéoporose commune ont mis en évidence un effet modeste de plusieurs gènes dont on soupçonnait déjà qu'ils avaient un effet sur la densité osseuse. L'espoir de pouvoir, grâce à ces études découvrir de nouvelles voies biologiques, et donc de nouvelles cibles thérapeutiques pour le traitement de l'ostéoporose est pour le moment déçu. Il n'y a pas d'utilisation des ces marqueurs génétiques pour prédire le risque de fracture. L'utilisation en pharmacogénétique (effet des médicaments de l'ostéoporose en fonction de variants) est balbutiante (9). De nouvelles techniques et stratégies permettront peut être une avancée de ce champ dans les années à venir.

RÉSUMÉ :

L'ostéoporose est une maladie multifactorielle due à de multiples facteurs génétiques et à de nombreux facteurs d'environnement qui modulent la perte osseuse. Les études cliniques montrent qu'il existe une héritabilité importante de la densité osseuse qui porte essentiellement sur le capital osseux. Par ailleurs, les antécédents de fracture chez les ascendants sont un facteur de risque bien individualisé de fractures. Les variations interindividuelles de la densité osseuse sont dues à plusieurs gènes ayant chacun de petits effets. Les études moléculaires ont montré que les polymorphismes de plusieurs « gènes candidats », importants dans la physiologie osseuse, sont associés à la densité osseuse. Les gènes les plus fréquemment retrouvés associés à la densité osseuse codent pour le récepteur des estrogènes, RANK, RANKL, l'ostéoprotégérine ou encore la sclérostine et LRP5. Récemment, les criblages du génome sur de larges populations ont confirmé leur association avec la densité osseuse mais les polymorphismes de ces gènes n'expliquent qu'une faible part de la densité osseuse (moins de 3 % au total) et ne modifient que peu le risque de fracture. Ils ont donc chacun un effet minimum. Aucune nouvelle voie biologique importante dans la physiologie osseuse n'a, jusqu'à présent, été individualisée grâce aux nouveaux gènes dont les variants sont associés à la densité osseuse dans ces criblages du génome.

Pour le moment, l'étude des variants géniques ne peut pas améliorer la prédiction des fractures. Il est possible que des interactions entre certains gènes et des facteurs d'environnement puissent expliquer ces faibles performances et que de nouvelles stratégies doivent être envisagées pour faire progresser ce champ.

7. RÉFÉRENCES

1. Cardon LR, Garner C, Bennett ST, et al. Evidence for a major gene for bone mineral density in idiopathic osteoporotic families. *J Bone Miner Res.* 2000;15:1132-7
2. Cohen-Solal M, Cornelis F, Vernejoul MC de. Génétique de l'ostéoporose. In : Kahn MF, Bardin T, Meyer O, Orcel P, Lioté F, *L'Actualité rhumatologique* 2005. Paris, Elsevier, 2005. pp. 231-39
3. Duncan EL, Brown MA. Genetic Determinants of Bone Density and Fracture Risk--State of the Art and Future Directions. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 sous presse
4. Ferrari SL, Deutsch S, Baudoin C, et al. LRP5 gene polymorphisms and idiopathic osteoporosis in men. *Bone* 2005;37:770-5
5. Ioannidis JP, Ralston SH, Bennett ST, et al ; GENOMOS Study. Differential genetic effects of ESR1 gene polymorphisms on osteoporosis outcomes. *JAMA* 2004 3;292:2105-14
6. Janssens K, Vanhoenacker F, Bonduelle M, et al. Camurati-Engelmann disease: review of the clinical, radiological, and molecular data of 24 families and implications for diagnosis and treatment. *J Med Genet* 2006;43:1-11
7. Kaufman JM, Ostertag A, Saint-Pierre A, et al. Genome-wide linkage screen of bone mineral density (BMD) in European pedigrees ascertained through a male relative with low BMD values: evidence for quantitative trait loci on 17q21-23, 11q12-13, 13q12-14, and 22q11. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:3755-62

8. Koh JM, Park BL, Kim DJ, et al. Identification of novel RANK polymorphisms and their putative association with low BMD among postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2007;18:323-31
9. Kurabayashi T, Matsushita H, Tomita M, et al. Association of vitamin D and estrogen receptor gene polymorphism with the effects of longterm hormone replacement therapy on bone mineral density. *J Bone Miner Metab* 2004;22:241-7
10. Langdahl BL, Uitterlinden AG, Ralston SH, et al. Large-scale analysis of association between polymorphisms in the transforming growth factor beta 1 gene (TGFB1) and osteoporosis: the GENOMOS study. *Bone* 2008;42:969-81
11. Makovey J, Nguyen TV, Naganathan V, Wark JD, Sambrook PN. Genetic effects on bone loss in peri- and postmenopausal women: a longitudinal twin study. *J Bone Miner Res* 2007;22:1773-80
12. Michaëlsson K, Melhus H, Ferm H, Ahlbom A, Pedersen NL. Genetic liability to fractures in the elderly. *Arch Intern Med* 2005;165:1825-30
13. Ralston SH, Galwey N, Mackay I, et al. Loci for regulation of bone mineral density in men and women identified by genome wide linkage scan: the FAMOS study. *Hum Mol Genet* 2005;14:943-51
14. Ralston SH, Uitterlinden AG. Genetics of Osteoporosis. *Endocr Rev* 2010 Apr 29. [Epub ahead of print]
15. Richards JB, Rivadeneira F, Inouye M, et al. Bone mineral density, osteoporosis, and osteoporotic fractures: a genome-wide association study. *Lancet* 2008;371:1505-12
16. Richards JB, Kavvoura FK, Rivadeneira F, et al. ; Genetic Factors for Osteoporosis Consortium. Collaborative meta-analysis: associations of 150 candidate genes with osteoporosis and osteoporotic fracture. *Ann Intern Med* 2009;151:528-37
17. Rivadeneira F, van Schoor NM, Weber K, Ioannidis JP, Uitterlinden AG; GENOMOS Study. Large-scale analysis of association between LRP5 and LRP6 variants and osteoporosis. *JAMA* 2008;299:1277-90
18. Rivadeneira F, Styrkársdóttir U, Estrada K, et al. Genetic Factors for Osteoporosis (GEFOS) Consortium. Twenty bone-mineral-density loci identified by large-scale meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat Genet* 2009;41:1199-206
19. Styrkársdóttir U, Halldorsson BV, Gretarsdóttir S, et al. Multiple genetic loci for bone mineral density and fractures. *N Engl J Med* 2008;358:2355-65
20. Styrkársdóttir U, Halldorsson BV, Gretarsdóttir S, et al. New sequence variants associated with bone mineral density. *Nat Genet* 2009;41:15-7
21. Uitterlinden AG, Arp PP, Paeper BW, et al. Polymorphisms in the sclerosteosis/van Buchem disease gene (SOST) region are associated with bone-mineral density in elderly whites. *Am J Hum Genet* 2004;75:1032-45
22. van Meurs JB, Trikalinos TA, Ralston SH, et al ; GENOMOS Study. Large-scale analysis of association between LRP5 and LRP6 variants and osteoporosis. *JAMA* 2008 ;299:1277-90
23. Vernejoul MC de, Kornak U. Heritable sclerosing bone disorders: presentation and new molecular mechanisms. *Ann N Y Acad Sci* 2010;1192:269-77. Review