

Régulation épigénétique de l'activité et de la sévérité de la dysplasie fibreuse des os : étude mirDYS

M. Legrand (1); M. Millet (2); M. Croset, (3); B. Merle (2); A. Hemmendinger (4); E. Gineyts (2); JC. Rousseau (2); E. Sornay-Rendu (2); P. Szulc (2); O. Borel (2); R. Chapurlat (1)

(1) Pavillon F Hôpital Edouard Herriot, INSERM UMR 1033 et Université de Lyon, Lyon; (2) Pavillon F, hôpital e. herriot, INSERM UMR1033, Lyon; (3) INSERM UMR 1033, Lyon; (4) LYSARC, Hôpital Lyon Sud - HCL, Pierre-Bénite

Introduction

La dysplasie fibreuse des os (DF) est une maladie rare causée par la mutation activatrice du gène *GNAS*. Pour la même mutation, la sévérité de la maladie est très variable entre les patients et pourrait être en lien avec une régulation épigénétique, évaluable par exemple avec le dosage des microARNs (miRs). L'objectif de l'étude mirDYS est d'identifier des miRs sériques associés à la sévérité de la DF.

Matériels et méthodes

Phase exploratoire : un miRome a été effectué par analyse Next Generation Sequencing (NGS) dans le sérum de 20 patients (10 polyostotiques et 10 monostotiques) et 10 témoins (appariés pour l'âge et le sexe). Les ARNs extraits sur ces 30 sérums (400 mL) ont été analysés par small RNA sequencing (Illumina platform) et le niveau d'expression des miRs présents, exprimé en « Trimmed Mean of M-values » (TMM), a été comparé entre les malades et témoins.

Phase de validation : les miRs exprimés de façon significativement différente entre les 20 patients et les 10 témoins avec le NGS (false discovery rate [FDR] par Benjamini-Hochberg $< 0,05$) ont ensuite été remesurés par une reverse transcription suivie d'une PCR quantitative (TaqMan) sur le sérum de 82 patients et 82 contrôles (appariés pour l'âge et le sexe). L'expression des miRs était exprimée en valeur relative après une normalisation à partir de contrôle exogène (*Cel39*) et endogènes (*191-5p*, *222-3p*, et *361-5p*) et a été comparée entre les malades et témoins.

Les patients ont été recrutés dans un centre spécialisé dans les maladies osseuses. Les témoins étaient issus de cohortes prospectives de sujets sains.

Résultats

La phase exploratoire par NGS a identifié 111 miRs différentiellement exprimés entre les sérums des malades et des témoins, avec une valeur de p FDR ajustée $< 0,05$. L'étape de validation par PCR a porté sur 19 de ces miRs et pour 164 individus. Les 19 miRs ont été sélectionnés préférentiellement sur la base de leur significativité (FDR $< 0,005$), de leur niveau d'expression (TMM > 10 -15) et leur présence chez les patients monostotiques comme les polyostotiques. Parmi les 82 patients, 55% étaient polyostotiques, 73% étaient des femmes et l'âge moyen était de 42 ans. 6 sur les 19 miARNs testés étaient surexprimés dans le sérum des patients avec une p -value corrigée (FDR) $< 0,05$: les miRs *25-3p*, *93-5p*, *182-5p*, *324-5p*, *363-3p* et le *451a*.

Discussion

L'analyse de la base de données mirWalk a montré que ces miRs possédaient des séquences complémentaires avec des gènes connus pour être dérégulés dans la DF, dont le gène *GNAS*. De plus, il a été démontré *in vitro* et *in vivo*, que plusieurs de ces miRs régulaient l'ostéoblastogénèse et

l'ostéoclastogénèse. Ces résultats suggèrent que les miRs identifiés réguleraient directement ou indirectement des gènes et des voies de signalisation osseuse impliqués dans la DF.

Conclusion

Les miRs 25-3p, 93-5p, 182-5p, 324-5p, 363-3p et 451a sont surexprimés dans le sérum des patients atteints de dysplasie fibreuse. Ces microARNs pourraient réguler les gènes et voies de signalisation osseuse impliqués dans la DF. Des études fonctionnelles sont nécessaires pour confirmer le rôle précis de ces miRs.