

## LA PHOSPHATASE ALCALINE NON SPECIFIQUE DU TISSU (TNAP) EST UNE ECTONUCLEOTIDASE ANTI-INFLAMMATOIRE

Laurence Bessueille L<sup>1,\*</sup>, Anne Briolay A<sup>1,\*</sup>, Marie Gleizes<sup>2</sup>, Lionel Nowak<sup>2</sup>, Caroline Fonta<sup>2</sup>, David Magne<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Equipe MEM2 ; Institut de Chimie et de Biochimie Moléculaires et Supramoléculaires (UMR CNRS 5246 Université Lyon 1). <sup>2</sup>Centre de Recherche Cerveau & Cognition – UMR CNRS 5549 Université Paul Sabatier Toulouse. \*ont contribué également à ce travail.

L'hydrolyse du pyrophosphate inorganique par la TNAP est nécessaire à la minéralisation osseuse et dentaire. Les formes les plus sévères de déficience en TNAP (hypophosphatasie, HPP) entraînent la mort périnatale d'enfants ayant un squelette non minéralisé. La sévérité de la maladie est corrélée avec la perte de fonction de la TNAP, et les formes adultes ne semblent être associées qu'à des problèmes dentaires. Outre des hypominéralisations osseuses et dentaires, les enfants atteints d'HPP souffrent également d'auto-inflammations osseuses assez semblables à des ostéomyélites multifocales chroniques récurrentes [1, 2]. La TNAP étant capable de déphosphoryler les nucléotides d'adénine, notre objectif était d'explorer le rôle anti-inflammatoire potentiel de la TNAP en lien avec une activité d'ectonucléotidase. En effet, outre son rôle énergétique intracellulaire, l'ATP est en effet pro-inflammatoire lorsqu'elle est libérée dans le milieu extracellulaire. Cette action inflammatoire est limitée dans le temps et dans l'espace par deux ectonucléotidases : CD39 qui hydrolyse l'ATP en AMP et CD73, qui hydrolyse l'AMP en adénosine, qui est un nucléoside anti-inflammatoire. Nous avons recherché l'expression par PCR quantitative de marqueurs inflammatoires dans des os de souris *Alpl*<sup>-/-</sup> de 7 jours (la TNAP est codée par le gène *Alpl*). Nous avons observé une expression significativement supérieure de l'IL-1 $\beta$  par rapport aux souris *Alpl*<sup>+/+</sup>. Etant donné que l'IL-1 $\beta$  diminue l'expression et l'activité de la TNAP en culture de chondrocytes hypertrophiques et d'ostéoblastes primaires murins (hydrolyse du pnp), il est probable qu'un cercle vicieux se mette en place, dans lequel la déficience en TNAP génère une inflammation qui accentue la perte de fonction de la TNAP. Dans les chondrocytes hypertrophiques murins, les niveaux d'ARNm de la TNAP sont 45 fois supérieurs à ceux de CD39 et 8 fois supérieurs à ceux de CD73 (PCR quantitative). Dans ces cellules, l'inhibition de la TNAP par le MLS-0038949 aboutit à des niveaux d'ATP extracellulaire environ 40% supérieurs à ceux des cellules contrôles (dosage par mesure d'activité luciférase par bioluminescence). Ces résultats suggèrent que la TNAP hydrolyse l'ATP constitutivement dans les cellules osseuses, et prévient le développement d'inflammations osseuses. Ces effets anti-inflammatoires ne sont probablement pas restreints aux cellules minéralisantes et à l'os. En effet, dans le foie de jeunes souris de 7 jours (tissu qui possède une modeste activité TNAP basale), l'activité TNAP est inversement corrélée aux niveaux d'ARNm du TNF- $\alpha$  (PCR quantitative). Collectivement, ces résultats suggèrent que la TNAP, en déphosphorylant l'ATP, est une nouvelle ectonucléotidase anti-inflammatoire. Il reste cependant à découvrir quels récepteurs purinergiques et quels mécanismes cellulaires sont activés par l'ATP lors d'une déficience en TNAP.

1 Girschick HJ (2007) BMC Pediatr. **7**, 3

2 Whyte MP (2009) J Bone Miner Res. **24**

Ce travail a été réalisé grâce à l'aide financière de la Société Hypophosphatasie Europe