

## PROGRESSION DE L'INSUFFISANCE RÉNALE : VERS L'IDENTIFICATION DE GÈNES CANDIDATS

par

F. TERZI, M. BURTIN, C. MARTINO et G. FRIEDLANDER\*

Une insuffisance rénale chronique peut être la conséquence d'atteintes variées du parenchyme rénal qui peuvent toucher initialement les glomérules, les vaisseaux ou les structures tubulaires et interstitielles. Ces atteintes aboutissent à une réduction du nombre des néphrons fonctionnels. Une fois constituée, la réduction néphronique entraîne par elle-même, indépendamment de sa cause initiale, une dégradation progressive de la structure et de la fonction des néphrons sains restants qui peut aboutir à une insuffisance rénale terminale (IRT). La rapidité de progression varie considérablement d'un patient à l'autre pour une même néphropathie, ce qui suggère que des facteurs indépendants de la maladie rénale d'origine jouent un rôle clé dans le processus évolutif. Définir les mécanismes qui contrôlent à long terme la réponse à une agression rénale est donc un des enjeux clés de la communauté néphrologique. Il est très probable que la progression des maladies rénales dépend d'une combinaison de plusieurs éléments, y compris les facteurs environnementaux et les variables cliniques (fig. 1). Cependant, les facteurs génétiques semblent jouer un rôle déterminant. Par exemple, on sait que les valeurs de pression artérielle et les concentrations de glucose peuvent affecter l'évolution de la maladie rénale chez les patients diabétiques. Pourtant, seulement un sur 2 500 patients hypertendus développe une insuffisance rénale et l'hyperglycémie n'est pas suffisante, à elle seule, pour induire une néphropathie, ce qui suggère l'existence d'une prédisposition génétique à développer une maladie rénale progressive. Identifier les gènes à l'origine de cette susceptibilité permettra, d'une part, d'identifier les patients à risque et, d'autre part, de mieux comprendre la pathogenèse des maladies rénales afin d'en déduire des nouvelles cibles thérapeutiques.

\* INSERM U426 et Département de Physiologie, Faculté de Médecine Xavier Bichat, IFR 02, Université Paris 7, Paris, France.

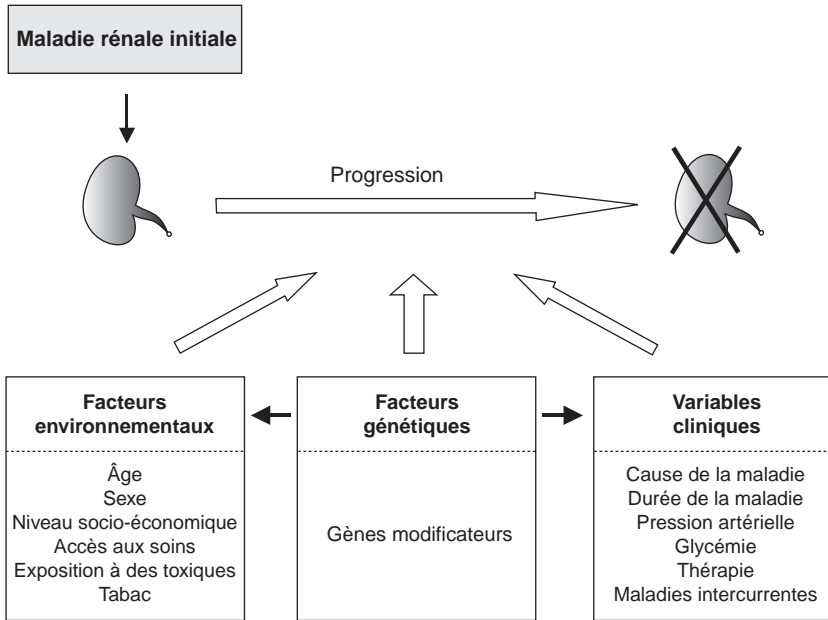


FIG. 1. — Représentation schématique des principaux facteurs susceptibles de moduler la progression des lésions rénales après une agression.

## EN FAVEUR D'UN DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE DE LA PROGRESSION DES MALADIES RÉNALES

### Études épidémiologiques : facteurs ethniques

De nombreuses études épidémiologiques ont montré que l'incidence de l'IRT est considérablement plus élevée chez les Afro-Américains que chez les caucasiens avec un risque relatif qui varie entre 4 et 25 fois selon les études et la pathologie analysée (diabète, hypertension, néphropathie induite par le virus du SIDA) [1-3]. Bien que la prévalence des facteurs de comorbidité (diabète et/ou hypertension) soit augmentée et le niveau socio-économique et l'accès aux soins diminués chez les Afro-Américains, ces facteurs ne peuvent pas à eux seuls rendre compte de l'évolution plus rapide de la maladie rénale [3-6]. Les Indiens Pima, qui vivent dans le sud-ouest des États-Unis, ont également un risque très élevé de développer à la fois un diabète de type II et une néphropathie diabétique [7-8]. L'incidence cumulative d'une protéinurie persistant après 25 ans de diabète est de 80 p. 100 chez les Indiens Pima [9], alors qu'elle n'est que de 30 p. 100 chez les Caucasiens après 20 ans de diabète [10]. De la même façon, la néphropathie diabétique est plus fréquente et son évolution plus rapide chez les Indiens Navajo [11], les Mexicains-Américains [12], les Indiens-asiatiques [13], les Aborigènes Australiens [14] et les Nauruans [15] par comparaison aux Caucasiens. L'ensemble de ces études suggère

fortement que la susceptibilité à développer une maladie rénale chronique peut être génétiquement déterminée.

### **Études épidémiologiques : associations familiales**

Les études familiales ont fourni des preuves incontournables que la progression des maladies rénales est génétiquement déterminée. En effet, il a été observé que la susceptibilité à développer une IRT est plus élevée chez les malades provenant d'une famille dont d'autres membres sont déjà en dialyse. L'observation que, au sein d'une même famille, l'évolution vers l'IRT est indépendante de la région géographique, du niveau socioculturel et économique et de la maladie d'origine suggère que des facteurs génétiques plutôt que des facteurs environnementaux et/ou étiologiques jouent un rôle clé [16-19]. De nombreuses études ont montré l'existence d'une forte liaison familiale avec la néphropathie diabétique. Par exemple, dans une fratrie atteinte de diabète de type II, le risque cumulatif de développer une protéinurie persistante est de 71,5 p. 100 pour le deuxième membre si le premier a déjà développé une protéinurie [20]. Au contraire, ce risque est de seulement 25,4 p. 100 si le premier ne présente pas de néphropathie, ce qui suggère l'effet déterminant d'un gène. La même association a été observée chez des familles diabétiques d'Afro-Américains [19] ou d'Indiens Pima [21]. Enfin, une association familiale a été également observée dans l'évolution d'autres néphropathies, comme la néphropathie à IgA [22], la glomérulosclérose segmentaire et focale [23] ou la néphropathie lupique [24].

### **Études des maladies mendéliennes : évolution variable**

Les gènes à l'origine de plusieurs maladies rénales caractérisées par une transmission de type Mendélien, comme le syndrome d'Alport, la polykystose, ou la néphronophytose, viennent d'être identifiés. Pour chaque gène, de nombreuses mutations ont été découvertes. Leur variabilité pourrait expliquer, au moins en partie, la grande variabilité phénotypique de chacune de ces maladies : âge du début, sévérité des lésions et rapidité d'évolution vers l'IRT. Cependant, des études récentes suggèrent que l'expression phénotypique de ces mutations peut être modifiée par d'autres gènes, dits gènes modificateurs. Dans la maladie d'Alport, par exemple, il a été observé que, pour une même mutation, le début de la maladie ainsi que son évolution peuvent varier énormément entre individus [25]. Les mêmes observations ont été rapportées chez des patients atteints d'une polykystose rénale [26].

## **VERS L'IDENTIFICATION DES GÈNES MODIFICATEURS**

L'ensemble des études épidémiologiques concorde pour suggérer que la susceptibilité à développer les lésions rénales est génétiquement déterminée. L'étape suivante est d'identifier les gènes qui sont susceptibles de moduler le phénotype rénal. Deux stratégies peuvent être essentiellement utilisées : 1) le balayage du génome et 2) la recherche de gènes candidats. La première approche consiste à analyser le polymorphisme de centaines de microsatellites également répartis sur tous les chromosomes et à tester la liaison de chaque polymorphisme avec la maladie. Le

grand avantage de cette procédure est la possibilité d'identifier des gènes inconnus qui pourraient contribuer au processus pathologique, mais le coût est très élevé. La deuxième approche vise à analyser la liaison entre la manifestation de la maladie et le polymorphisme d'un microsatellite situé à proximité ou dans la séquence d'un gène qui, d'après les connaissances physiopathologiques, pourrait être potentiellement impliqué. Les limites de cette stratégie, relativement simple, sont d'une part le choix du « bon gène » et, d'autre part la difficulté à interpréter les résultats dans le cadre d'une prédisposition multigénique.

### **Études chez l'homme**

L'approche « gène candidat » a été la stratégie utilisée dans la plupart des études visant à identifier le(s) gène(s) modificateur(s) de la progression des lésions rénales chez l'homme. Les mécanismes moléculaires à l'origine de la détérioration du parenchyme rénal sont encore peu connus. Plusieurs hypothèses ont été proposées : hyperfiltration et hyperpression glomérulaires, hypermétabolisme tubulaire et hypertrophie compensatrice. Il est donc envisageable que la progression des lésions rénales puisse être influencée par les niveaux de production de peptides vaso-actifs, cytokines profibrosantes, facteurs de croissance, protéases et/ou enzymes. La liaison entre le polymorphisme d'un certain nombre de ces molécules et l'évolution de la maladie a été analysée dans plusieurs pathologies rénales, y compris la néphropathie diabétique, la néphropathie à IgA ou la glomérulosclérose segmentaire et focale [27-31]. Le tableau I résume les gènes analysés. Indépendamment de l'étiologie, les résultats restent à ce jour très conflictuels, y compris ceux concernant les polymorphismes du système rénine-angiotensine. Par ailleurs, certains résultats, tels que l'association avec le gène de l'apolipoprotéine E [32], de l'échangeur Na/H [33] ou de la NO synthase [34], restent encore préliminaires et nécessitent d'être validés par des études cas-contrôles plus vastes. Le nombre limité de malades analysés, l'hétérogénéité des pathologies ainsi que les différences de méthodologie peuvent expliquer, au moins en partie, les discordances des résultats entre les études. Toutefois, il n'est pas exclu que les gènes analysés ne correspondent pas au « bon gène » candidat.

Très peu d'études ont réalisé un balayage du génome dans le but de déterminer les gènes de susceptibilité à la détérioration rénale et leurs résultats sont ambigus. Chez les Indiens Pima, cette analyse, effectuée tous les 6 cM, a permis d'identifier 4 régions chromosomiques qui sont apparemment associées au développement d'une néphropathie diabétique : 3q, 7q, 9q et 20q [35]. Cependant, aucune de ces liaisons ne peut être considérée comme significative si on tient compte du nombre très important de comparaisons statistiques effectuées lors du balayage du génome.

### **Apports des modèles animaux**

Les études réalisées chez l'homme n'ont pas permis d'identifier à ce jour le(s) gène(s) de progression des lésions rénales. D'où l'intérêt de développer des modèles animaux d'atteinte rénale chronique et d'appliquer ces modèles à des animaux de fonds génétiques différents. Les avantages de cette approche sont nombreux : 1) identité génétique pour tous les animaux de la même souche ; 2) possibilité de réaliser des études de croisement et de rétrocroisement entre les souches d'intérêt ;

TABLEAU I. — LISTE DES PRINCIPAUX GÈNES ÉTUDIÉS SUSCEPTIBLES DE MODULER LA PROGRESSION DES LÉSIONS RÉNALES.

FACTEURS VASO-ACTIFS
Enzyme de conversion de l'angiotensine Angiotensinogène Récepteur de l'angiotensine de type I Kallikreine Récepteur B1 de la kinine Endothéline NO Synthase ANP ( <i>atrial natriuretic peptide</i> ) Récepteur Y1 du neuropeptide Y
CYTOKINES ET FACTEURS DE CROISSANCE
TNF- $\alpha/\beta$ ( <i>tumor necrosis factor <math>\alpha/\beta</math></i> ) Interleukines 1 et 10 Antagoniste du récepteur de l'interleukine 1 PDGF ( <i>platelet-derived growth factor</i> ) TGF- $\beta$ ( <i>transforming growth factor <math>\beta</math></i> )
MOLÉCULES DE LA MATRICE
PAI-1 ( <i>plasminogen activator inhibitor-1</i> ) HSPG2 ( <i>heparan sulphate core protein</i> ) Chaîne $\alpha$ 1 du collagène IV $\alpha$ -adducine Utéroglobine
AUTRES
Apolipoprotéine E G-protéine Echangeur Na/H Méthylène-tétrahydrofolate réductase Aldolase réductase

3) possibilité de transférer une mutation ou une région chromosomique susceptible d'affecter la progression des lésions rénales d'une lignée sensible à une lignée résistante. De plus, une fois identifiée l'association entre un gène et le phénotype, il est possible d'inactiver le gène ou de le surexprimer afin de définir son rôle dans le processus lésionnel.

Plusieurs souches de rats ont été étudiées dans le but d'identifier des loci associés à la progression des lésions rénales : les rats Dahl, Milan, Sabra, BUF/Mna, SHR (*spontaneously hypertensive rats*) et FHR (*fawn-hooded rats*) [27]. Le modèle FHR est le premier qui a permis d'isoler des gènes qui semblent moduler le processus de détérioration rénale. Les rats *fawn-hooded* ont la caractéristique de développer spontanément une hypertension, une protéinurie progressive et des lésions sévères de glomérulosclérose qui mènent très précocement à une IRT. En associant des études de rétrocroisement entre des rats ACI normotendus et des rats FHR hypertendus à un balayage du génome, Brown et coll. ont localisé,

sur le chromosome 1, deux gènes (*Rf-1* et *Rf-2*) qui affecteraient le développement des lésions rénales et un gène (*Bpflh-1*) qui, au contraire, serait responsable de la variation génétique de l'hypertension [36]. L'effet de *Rf-1* sur la susceptibilité à développer des lésions rénales est indépendante du contrôle de la pression artérielle, ce qui suggère que des gènes différents seraient impliqués dans le processus de détérioration rénale et d'hypertension. Plus récemment, d'autres loci ont été identifiés à l'aide des autres modèles expérimentaux (voir plus haut). En particulier, un gène susceptible d'influencer la sévérité de la protéinurie (*Pur-1*) vient d'être localisé sur le chromosome 13, grâce à des études de rétrocroisements entre les rats spontanément protéinuriques BUF/man et les rats témoins WKY [37].

Des études comparables ont été réalisées chez la souris. En transférant la mutation Os (50 p. 100 de réduction du nombre de néphron + oligosyndactylie) sur des souris de différents fonds génétiques, il a été montré que le développement des lésions rénales qui suit une réduction néphronique congénitale est génétiquement déterminé [38]. En effet, seules les souris ROP Os/+ développent une glomérulosclérose alors que les souris C57Bl6 Os/+ présentent un parenchyme rénal normal. Les mêmes différences de susceptibilité sont observées après une néphrectomie unilatérale dans les deux souches de souris [39]. D'après des études de rétrocroisement et une analyse par QTL, la susceptibilité à la détérioration rénale chez les souris ROP serait de type multigénique et pourrait être potentiellement contrôlée par 8-10 loci [40]. En utilisant la même approche, il a été montré que la susceptibilité à développer une glomérulonéphrite lupique chez la souris dépend du fond génétique et serait de type polygénique [41].

Les modèles expérimentaux ont également été utilisés pour identifier le(s) gène(s) qui pourrai(en)t modifier l'évolution de certaines maladies rénales héréditaires. Il existe actuellement plusieurs lignées de souris qui, après des mutations spontanées, développent une polykystose rénale, avec un phénotype très similaire à la maladie humaine. En transférant chaque mutation sur des fonds génétiques différents, on a identifié plusieurs régions chromosomiques qui pourraient rendre compte de la variabilité de la progression de la maladie entre les différents souches [42-45]. Cependant, à ce jour, aucun gène n'a pu être identifié. De plus, la diversité des loci identifiés dans les différents modèles de polykystose suggère l'existence de plusieurs gènes modificateurs et donc la possibilité d'un contrôle multigénique. Un modèle murin de syndrome d'Alport autosomique récessif vient d'être développé en inactivant par recombinaison homologue le gène *COL4A3*. En introduisant cette mutation sur différents fonds génétiques, il a été observé que l'âge du début de la néphropathie ainsi que la rapidité de l'évolution sont génétiquement déterminés [46]. Cette variabilité est associée à deux régions chromosomiques localisées sur les chromosomes 9 et 16. La taille des segments identifiés (autour de 20 cM) n'a pas permis à ce jour d'isoler les possibles gènes modificateurs.

### De l'animal à l'homme

Une fois identifiés de possibles gènes de détérioration rénale, à l'aide de modèles expérimentaux, l'étape suivante est d'évaluer leur implication en pathologie humaine. Cette étape vient d'être franchie pour le gène *Rf-1*. La région humaine synthétique du gène murin *Rf-1* est localisée sur le chromosome 10. Deux études

du même groupe ont analysé la liaison entre le polymorphisme de plusieurs marqueurs de cette région et l'évolutivité de la néphropathie dans différentes pathologies rénales avec, toutefois, des résultats contradictoires [47, 48]. Par ailleurs, une étude récente vient d'apporter des arguments expérimentaux en faveur d'un déterminisme génétique de la valeur basale du débit de filtration glomérulaire [49]. En effet, en réalisant des mesures répétées de créatinine chez une population très vaste de l'Utah, Hunt et coll. ont montré une association entre ce paramètre et la région du chromosome 10 codant pour l'homologue humain de *Rf-1*. L'ensemble de ces résultats ne permet pas de savoir si l'homologue du gène *Rf-1* peut moduler la progression des lésions rénales chez l'homme. Des études réalisées sur un nombre plus important d'individus devraient permettre dans le futur de clarifier ce point.

## LA VOIE DE L'EGF : UN BON CANDIDAT ?

L'ensemble des travaux réalisés n'a pas permis d'identifier le(s) gène(s) qui pourraient moduler directement ou indirectement la progression des lésions rénales chez l'homme. D'où la nécessité de continuer la recherche de possibles gènes candidats à l'aide des modèles expérimentaux. En utilisant des souris génétiquement modifiées, des souris de différents fonds génétiques et un modèle d'insuffisance rénale chronique, nous avons récolté au cours des dernières années de nombreuses preuves expérimentales en faveur d'un rôle clé de la voie de l'EGF (*epidermal growth factor*).

### Le modèle expérimental : la néphrectomie subtotale

De nombreux modèles expérimentaux, essentiellement murins, ont été mis au point pour analyser les mécanismes moléculaires et les déterminants génétiques à l'origine de la progression des lésions rénales. Les modèles les plus utilisés sont les modèles de réduction néphronique [50]. Deux d'entre eux ont été principalement étudiés : 1) la néphrectomie unilatérale, qui provoque une croissance compensatrice mais des lésions rénales très modérées et 2) la néphrectomie subtotale (excision d'au moins 70 p. 100 du parenchyme rénal) qui, au contraire, entraîne, après la phase de croissance compensatrice, des lésions glomérulaires (sclérose/hyalinose), tubulaires (dilatation/atrophie) et interstitielles (fibrose et infiltration inflammatoire) qui progressent jusqu'à la destruction complète du parenchyme rénal et l'insuffisance rénale terminale. Un déséquilibre entre prolifération et mort cellulaire par apoptose, entre synthèse et dégradation de la matrice extracellulaire ainsi que des modifications fonctionnelles et structurales du réseau vasculaire semblent jouer un rôle déterminant dans le processus lésionnel. Il est actuellement bien démontré que la rapidité de progression des lésions rénales après une réduction néphronique dépend à la fois du nombre de néphrons résiduels et de facteurs environnementaux, comme le régime ou les traitements antihypertenseurs ou hypolipémifiants [51]. Cependant, des études récentes suggèrent que, dans ce modèle, le fond génétique est un déterminant essentiel dans le processus de détérioration indépendamment du degré de réduction néphronique.

## La voie de l'EGF

Le récepteur de l'EGF (R-EGF) est un récepteur membranaire de type tyrosine kinase, activé par une famille de facteurs de croissance, comprenant l'EGF, le TGF- $\alpha$  (*transforming growth factor  $\alpha$* ) l'HB-EGF (*heparin-binding epidermal growth factor*), l'amphiréguline, l'épiréguline et la bêta-celluline [52]. Après liaison avec un de ces ligands, le récepteur se dimérise, entraînant l'autophosphorylation du site tyrosine kinase, ce qui déclenche l'activation d'une cascade de kinases jusqu'à l'induction du complexe AP-1. Des études récentes suggèrent que le R-EGF peut également être transactivé par des récepteurs couplés aux petites protéines G, des récepteurs aux cytokines ou des intégrines sans passer par la liaison d'un de ses propres ligands [53]. En particulier, il a été montré que l'angiotensine II et le TGF- $\beta$  (*transforming growth factor  $\beta$* ), deux puissants médiateurs du processus lésionnel rénal, transactivent le R-EGF. L'activation du récepteur, quelle que soit la voie, entraîne une prolifération cellulaire, des modifications de la mort cellulaire par apoptose, qui varient selon le type cellulaire, un remodelage de la matrice extracellulaire, mais aussi la sécrétion de molécules paracrines (facteurs de croissance et/ou cytokines), qui pourraient participer au contrôle du cross-talk entre cellules avoisinantes. En particulier, le R-EGF semble stimuler la sécrétion de médiateurs fibrosants, comme le TGF- $\beta$ , et de molécules angiogéniques, comme le VEGF (*vascular endothelial growth factor*) et le FGF (*fibroblastic growth factor*), au moins dans des cellules cancéreuses [54].

### La voie de l'EGF en physiologie rénale

Dans le rein, le récepteur de l'EGF est abondamment exprimé dans la membrane basolatérale des cellules tubulaires proximales, alors que l'EGF et le TGF- $\alpha$ , les ligands les plus exprimés, sont synthétisés dans les tubules distaux [55]. *In vitro*, l'administration d'EGF à des cellules tubulaires rénales s'accompagne d'une prolifération et d'une migration cellulaires, de la production de collagène et d'une tubulogénèse. *In vivo*, en conditions physiologiques, l'EGF aurait des fonctions multiples et complexes, allant du contrôle de la prolifération cellulaire à la modulation de l'hémodynamique glomérulaire et des activités de transport tubulaire. *In utero*, la voie du R-EGF serait impliquée dans le développement rénal et la différenciation cellulaire rénale. Le ligand principal du récepteur serait le TGF- $\alpha$ , l'EGF étant surtout exprimé dans la vie postnatale.

### La voie de l'EGF en pathologie rénale

La voie de signalisation de l'EGF joue un rôle très important et complexe en pathologie rénale avec des effets opposés dans les atteintes aiguës et chroniques. Dans les atteintes rénales aiguës d'origine ischémique ou toxique, l'administration d'EGF aurait un effet bénéfique en favorisant la régénération cellulaire et la récupération fonctionnelle [56]. En revanche, l'EGF semble avoir un rôle délétère dans des atteintes rénales chroniques, en favorisant à la fois la prolifération cellulaire, la production de cytokines profibrosantes, la synthèse de collagène et la transdifférenciation de cellules tubulaires en fibroblastes. Une surexpression des ligands (EGF et TGF- $\alpha$ ) et du récepteur ainsi qu'une translocation du R-EGF de la membrane baso-

latérale à la membrane apicale sont observées dans la polykystose rénale [57]. Dans le laboratoire, nous avons montré que la réduction néphronique entraîne une activation généralisée de la voie de signalisation de l'EGF : surexpression des ligands (EGF et TGF- $\alpha$ ), phosphorylation du récepteur, surexpression de *c-fos* et *c-jun*, éléments du complexe AP-1, qui participent à la transduction de l'effet mitogène de l'EGF [58, 59]. Les mêmes modifications sont retrouvées dans l'adénocarcinome rénal, avec une corrélation étroite entre l'intensité de ces changements et l'évolution du cancer [60]. De plus, la surexpression de plusieurs partenaires de la voie de l'EGF (TGF- $\alpha$ , *c-erb-B2*, récepteur homologue du R-EGF, ou T24-ras, protéine impliquée dans la transduction du signal) dans différents modèles de souris transgéniques s'accompagne de lésions tubulaires kystiques [61-63]. Ce phénotype est associé à une hyperplasie des cellules tubulaires, confirmant ainsi le rôle de la prolifération cellulaire dans le processus lésionnel. L'ensemble de ces observations suggère qu'une corrélation étroite existe entre la surexpression des partenaires de la voie de l'EGF et le processus de détérioration rénale, quelle que soit la pathologie étudiée.

D'autre part, il a été récemment montré, que l'inhibition, par différentes approches, de la voie de l'EGF peut prévenir le développement des lésions rénales lors de néphropathies chroniques expérimentales. Le groupe d'Avner a montré, en croisant deux lignées de souris, dont une est porteuse de la mutation kystique *orpk* et l'autre de la mutation inactivatrice du R-EGF *waved-2*, que la diminution de l'activité du R-EGF prévient le développement de kystes chez les souris double mutantes [64]. Parallèlement, nous avons montré que l'inhibition de la cascade EGF/AP-1 empêche le développement des lésions rénales au cours de la réduction néphronique. Chez des rats néphrectomisés, une réduction modérée de l'apport alimentaire de sodium diminue à la fois la progression des lésions rénales et l'activation de la cascade EGF-AP1 [65]. Chez des souris transgéniques, la surexpression sélective dans le tubule contourné proximal (promoteur  $\gamma$ -glutamyl-transpeptidase de type I) d'un mutant dominant négatif du récepteur humain de l'EGF empêche le développement des lésions rénales [66]. De façon intéressante, la protection est retrouvée dans tous les compartiments rénaux (tubules, glomérules, interstitium) malgré l'expression sélective du transgène dans les cellules tubulaires. L'effet protecteur est associé à une réduction importante de la prolifération des cellules tubulaires proximales, de l'accumulation de la matrice extracellulaire et de l'infiltrat inflammatoire interstitiel. Des inhibiteurs sélectifs de l'activité tyrosine kinase du R-EGF ont été récemment développés par plusieurs compagnies pharmaceutiques [67]. Il s'agit de molécules qui lient spécifiquement le R-EGF au niveau de son site de liaison à l'ATP. Leur efficacité a déjà été prouvée chez l'homme au cours de plusieurs types de cancers, y compris l'adénocarcinome rénal [67]. En diminuant la phosphorylation du R-EGF, ces inhibiteurs bloquent la prolifération cellulaire. L'utilisation d'une de ces molécules, l'EKI-785, dans un modèle murin de polykystose autosomique récessive, diminue la formation des kystes et améliore la fonction rénale [68]. L'efficacité de ce traitement dans d'autres modèles d'atteintes rénales chroniques reste à démontrer.

### Vers un déterminisme génétique de la voie de l'EGF

La plupart des études expérimentales sur la progression des lésions rénales ont été réalisées dans deux souches de rats : le *Wistar* et le *Sprague Dawley*. Chez ces animaux, la néphrectomie subtotale entraîne le développement des

lésions rénales sévères qui conduisent rapidement (en 2-3 mois) à la destruction complète du parenchyme rénal et à l'IRT. L'arrivée des souris génétiquement modifiées a ouvert des nouveaux champs de recherche en néphrologie. D'où la nécessité de transférer le modèle de réduction néphronique du rat à la souris. De façon surprenante, nous avons observé que la souche de souris (C57Bl6 ×DBA2/F1) couramment utilisée dans les modèles de transgénèse additionnelle est résistante au développement rapide des lésions rénales. Seules des altérations tubulaires modestes sont observées 8 mois après la réduction néphronique, ce qui suggère que la susceptibilité à développer des lésions rénales pourrait être génétiquement déterminée chez la souris. Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons étudié l'impact d'une réduction néphronique dans plusieurs souches de souris consanguines (A/J, C57Bl6, DBA2, FVB/N, 129/Sv) et non consanguines (C57Bl6×DBA2/F1, C57Bl6×SjL/F1) et montré que seules les souris FVB/N développent des lésions rénales précoces et sévères qui évoluent vers l'insuffisance rénale terminale en trois mois [69]. Des études antérieures ont déjà signalé que la souche C57Bl6 est particulièrement résistante au développement des lésions dans plusieurs modèles d'atteintes rénales chroniques [39, 70]. La destruction du parenchyme rénal, chez les souris FVB/N, s'accompagne d'une prolifération cellulaire accrue et d'une angiogenèse, phénomènes qui ne sont pas observés dans les souches résistantes [71]. Des modifications de la réponse angiogénique selon le fond génétique ont été également observées dans des processus pathologiques concernant d'autres organes, mais les molécules impliquées dans ces phénomènes ne sont pas connues [72, 73]. En réalisant des croisements et rétrocroisements entre la souche FVB/N et la souche C57Bl6×DBA2/F1, nous avons montré que la susceptibilité à développer des lésions rénales ségrège comme un trait monogénique avec un effet du sexe sur le phénotype. En effet, la sévérité et la fréquence des lésions est plus importante chez les mâles que chez les femelles, ce qui confirme des précédentes observations en pathologie humaine. En associant aux études de rétrocroisement un balayage du génome, nous avons observé qu'un seul locus est probablement à l'origine de cette susceptibilité. De façon intéressante, ce locus code pour des molécules de la voie de l'EGF, dont la séquence est en cours d'analyse. De plus, l'expression hétérozygote du mutant dominant négatif du récepteur de l'EGF empêche la détérioration du parenchyme rénal après réduction néphronique dans la souche sensible, ce qui est fortement en faveur d'un rôle de la voie de l'EGF dans la susceptibilité à développer des lésions rénales chez les souris FVB/N.

D'autres observations sont en faveur d'un rôle clé de la voie de l'EGF dans la variabilité à développer des lésions rénales entre les souches. En effet, des résultats préliminaires de notre laboratoire montrent que l'inactivation de l'oncogène *junD*, partenaire du complexe AP-1, entraîne le développement de lésions rénales chez une souche résistante non consanguine, la 129/Sv×C57Bl6. AP-1 est un facteur de transcription qui résulte de l'hétérodimérisation d'une des quatre protéines fos (c-fos, fosB, fra1, fra2) avec un des trois partenaires de la famille jun (c-jun, junB et junD) [74]. Tous les complexes lient la même séquence d'ADN, mais avec différentes capacités de transactivation. En particulier, junD, à la différence de c-jun, inhibe la prolifération cellulaire [75]. Le groupe de Yaniv vient d'établir une lignée de souris transgéniques, dont le gène *junD* a été invalidé par recombinaison homologue : l'invalidation ne comporte pas de phénotype

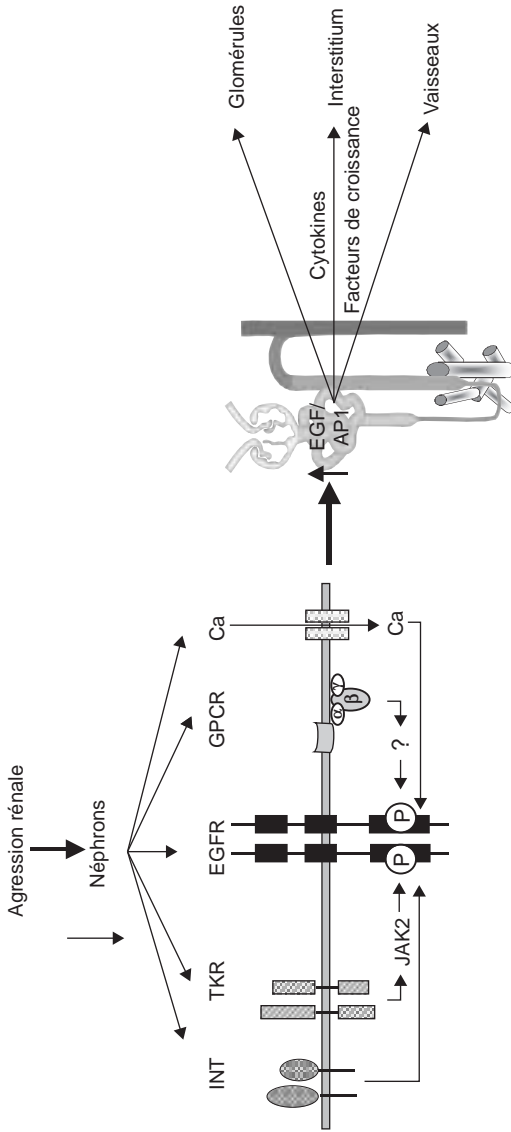


Fig. 2. — Rôle de la voie de l'EGF dans la progression des lésions rénales. La réduction du nombre des néphrons fonctionnels qui suit une agression rénale entraîne l'activation du récepteur de l'EGF directement, via la production des ses ligands, et indirectement, en stimulant plusieurs voies de signalisation qui transactivent le récepteur. L'activation du récepteur dans les cellules tubulaires rénales aboutit à la sécrétion de médiateurs paracrines/autochrines qui, à leur tour, vont déterminer les modifications des glomérules, de l'interstitium et du réseau vasculaire qui sont à l'origine du processus lésionnel. INT : intégrines, TKR : récepteurs tyrosine-kinase, EGFR : récepteur de l'EGF (*Epidermal Growth Factor*), GPCR : récepteur couplé aux petites protéines G, Ca : calcium.

sévère chez les souris mutantes [76]. En réalisant une néphrectomie subtotale chez ces animaux, nous avons montré que la réduction néphronique entraîne des lésions rénales sévères dès le deuxième mois après la chirurgie chez les souris mutantes, alors que des lésions minimales sont observées chez les souris sauvages. La détérioration du parenchyme rénal est associée à la persistance d'une prolifération cellulaire accrue et à la surexpression du TGF- $\alpha$ , alors que celle d'autres facteurs de croissance ne semble pas être modifiée. De façon intéressante, le gène rapporteur  $\beta$ -galactosidase (mis sous contrôle des séquences régulatrices de *junD*) n'est pas exprimé dans les cellules proximales qui prolifèrent, mais dans les cellules distales qui synthétisent le TGF- $\alpha$ . De plus, comme pour les souris FVB/N, l'expression hétérozygote du mutant dominant négatif du récepteur de l'EGF empêche la détérioration du parenchyme rénal et la prolifération cellulaire après réduction néphronique chez les souris *JunD*. L'ensemble de ces résultats suggère que le TGF- $\alpha$ , dont l'expression semble être contrôlée par *junD*, pourrait être l'élément déterminant dans la progression des lésions rénales, en stimulant, par une voie paracrine/autocrine, la prolifération cellulaire. En faveur de cette hypothèse, il faut rappeler que : 1) chez des souris transgéniques, la surexpression du TGF- $\alpha$  entraîne des lésions tubulaires kystiques [61] alors que celle de l'EGF n'induit aucun phénotype rénal [77] ; 2) dans l'adénocarcinome rénal, l'expression du TGF- $\alpha$  semble mieux corrélée que celle de l'EGF à l'évolutivité de la maladie.

L'ensemble de ces résultats suggère que l'activation du récepteur de l'EGF dans les cellules tubulaires rénales pourrait être l'élément déterminant dans la séquence des événements qui aboutit à la constitution de lésions lors d'une agression. Sa transactivation par de nombreuses voies de signalisation, sa capacité à contrôler la sécrétion de facteurs de croissance et cytokines ainsi que son hétérogénéité de réponse en fonction du fond génétique pourraient rendre compte de ce rôle pivot (fig. 2).

## CONCLUSION

Plusieurs arguments expérimentaux et cliniques suggèrent l'existence de gène(s) susceptible(s) de moduler la progression des lésions rénales. Cependant, à ce jour aucun gène n'a été identifié, bien que plusieurs gènes candidats aient été testés. Des études génétiques/épidémiologiques plus vastes, l'exploitation des modèles expérimentaux existants ainsi que la génération de nouveaux modèles devraient favoriser dans le futur l'identification de gènes candidats plus appropriés. Les gènes codant pour plusieurs molécules de la voie de l'EGF pourraient être des « bons candidats ». L'identification des gènes modificateurs aura, au moins, deux retombées très importantes en pathologie humaine : 1) diagnostique, avec la possibilité d'identifier les patients à risque de progresser vers une IRT et, par conséquent, de mieux adapter le traitement. Un patient à risque de développer une insuffisance rénale terminale pourra être traité de manière plus précoce et agressive, alors qu'un patient avec une lente évolution pourra être épargné des traitements potentiellement toxiques ; 2) thérapeutique, en permettant la compréhension du processus lésionnel et l'identification de nouvelles cibles médicamenteuses.

## BIBLIOGRAPHIE

1. EASTERLING RE. Racial factors in the incidence and causation of end-stage renal disease (ESRD). *Trans Am Soc Artif Intern Organs*, 1977, **23**, 28-33.
2. ROSTAND SG, KIRK KA, RUTSKY EA et al. Racial differences in the incidence of treatment for end-stage renal disease. *N Engl J Med*, 1982, **306**, 1276-1279.
3. QUALHEIM RE, ROSTAND SG, KIRK KA et al. Changing patterns of end-stage renal disease due to hypertension. *Am J Kidney Dis*, 1991, **18**, 336-343.
4. BYRNE C, NEDELMAN J, LUKE RG. Race, socioeconomic status, and the development of end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis*, 1994, **23**, 16-22.
5. MCCLELLAN W, TUTTLE E, ISSA A. Racial differences in the incidence of hypertensive end-stage renal disease (ESRD) are not entirely explained by differences in the prevalence of hypertension. *Am J Kidney Dis*, 1988, **12**, 285-290.
6. FREEDMAN BI, ISKANDAR SS, APPEL RG. The link between hypertension and nephrosclerosis. *Am J Kidney Dis*, 1995, **25**, 207-221.
7. KNOWLER WC, BENNETT PH, HAMMAN RF et al. Diabetes incidence and prevalence in Pima Indians : a 19-fold greater incidence than in Rochester, Minnesota. *Am J Epidemiol*, 1978, **108**, 497-505.
8. NELSON RG, NEWMAN JM, KNOWLER WC et al. Incidence of end-stage renal disease in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in Pima Indians. *Diabetologia*, 1988, **31**, 730-736.
9. NELSON RG, KNOWLER WC, PETTITT DJ et al. Diabetic kidney disease in Pima Indians. *Diabetes Care*, 1993, **16**, 335-341.
10. KLEIN R, KLEIN BE, MOSS SE. Incidence of gross proteinuria in older-onset diabetes. A population-based perspective. *Diabetes*, 1993, **42**, 381-389.
11. HOY W, JIM S, WARRINGTON W et al. Urinary findings and renal function in adult Navajo Indians and associations with type 2 diabetes. *Am J Kidney Dis*, 1996, **28**, 339-349.
12. HAFNER SM, MITCHELL BD, PUGH JA et al. Proteinuria in Mexican Americans and non-Hispanic whites with NIDDM. *Diabetes Care*, 1989, **12**, 530-536.
13. BURDEN AC, McNALLY PG, FEEHALLY J et al. Increased incidence of end-stage renal failure secondary to diabetes mellitus in Asian ethnic groups in the United Kingdom. *Diabet Med*, 1992, **9**, 641-645.
14. HOY WE, REES M, KILE E et al. Low birthweight and renal disease in Australian aborigines. *Lancet*, 1998, **352**, 1826-1827.
15. COLLINS VR, DOWSE GK, FINCH CF et al. Prevalence and risk factors for micro- and macroalbuminuria in diabetic subjects and entire population of Nauru. *Diabetes*, 1989, **38**, 1602-1610.
16. FERGUSON R, GRIM CE, OPGENORTH TJ. A familial risk of chronic renal failure among blacks on dialysis ? *J Clin Epidemiol*, 1988, **41**, 1189-1196.
17. SEAQUIST ER, GOETZ FC, RICH S et al. Familial clustering of diabetic kidney disease. Evidence for genetic susceptibility to diabetic nephropathy. *N Engl J Med*, 1989, **320**, 1161-1165.
18. BORCH-JOHNSEN K, NØRGAARD K, HOMMEL E et al. Is diabetic nephropathy an inherited complication ? *Kidney Int*, 1992, **41**, 719-722.
19. FREEDMAN BI, TUTTLE AB, SPRAY BJ. Familial predisposition to nephropathy in African-Americans with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Kidney Dis*, 1995, **25**, 710-713.
20. QUINN M, ANGELICO MC, WARRAM JH et al. Familial factors determine the development of diabetic nephropathy in patients with IDDM. *Diabetologia*, 1996, **39**, 940-945.
21. PETTITT DJ, SAAD MF, BENNETT PH et al. Familial predisposition to renal disease in two generations of Pima Indians with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*, 1990, **33**, 438-443.
22. JULIAN BA, QUIGGINS PA, THOMPSON JS et al. Familial IgA nephropathy. Evidence of an inherited mechanism of disease. *N Engl J Med*, 1985, **312**, 202-208.
23. WALKER R, BAILEY RR, LYNN KL et al. Focal glomerulosclerosis — another familial renal disease ? *N Z Med J*, 1982, **95**, 686-688.
24. FREEDMAN BI, WILSON CH, SPRAY BJ et al. Familial clustering of end-stage renal disease in blacks with lupus nephritis. *Am J Kidney Dis*, 1997, **29**, 729-732.

25. FINIELZ P, CARTAULT F, CHUET C et al. Alport syndrome in Reunion Island : phenotypic heterogeneity of the recessive-autosomal form. *Nephron*, 1998, **79**, A237.
26. KAPLAN BS, KAPLAN P, ROSENBERG HK et al. Polycystic kidney diseases in childhood. *J Pediatr*, 1989, **115**, 867-880.
27. SCHELLING JR, ZARIF L, SEHGAL A et al. Genetic susceptibility to end-stage renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 1999, **8**, 465-472.
28. KROLEWSKI AS. Genetics of diabetic nephropathy : evidence for major and minor gene effects. *Kidney Int*, 1999, **55**, 1582-1596.
29. FREEDMAN BI, SATKO SG. Genes and renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2000, **9**, 273-277.
30. HSU SI, RAMIREZ SB, WINN MP et al. Evidence for genetic factors in the development and progression of IgA nephropathy. *Kidney Int*, 2000, **57**, 1818-1835.
31. BURACZYNSKA M, KSIAZEK A. Searching for a genetic risk profile in end-stage renal disease. *Med Sci Monit*, 2001, **7**, 1376-1380.
32. CHOWDHURY TA, DYER PH, KUMAR S et al. Association of apolipoprotein epsilon2 allele with diabetic nephropathy in Caucasian subjects with IDDM. *Diabetes*, 1998, **47**, 278-280.
33. YU H, FREEDMAN BI, RICH SS et al. Human Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger genes : identification of polymorphisms by radiation hybrid mapping and analysis of linkage in end-stage renal disease. *Hypertension*, 2000, **35**, 135-143.
34. FREEDMAN BI, YU H, ANDERSON PJ et al. Genetic analysis of nitric oxide and endothelin in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant*, 2000, **15**, 1794-1800.
35. IMPERATORE G, HANSON RL, PETTITT DJ et al. Sib-pair linkage analysis for susceptibility genes for microvascular complications among Pima Indians with type 2 diabetes. *Pima Diabetes Genes Group. Diabetes*, 1998, **47**, 821-830.
36. BROWN DM, PROVOOST AP, DALY MJ et al. Renal disease susceptibility and hypertension are under independent genetic control in the fawn-hooded rat. *Nat Genet*, 1996, **12**, 44-51.
37. MURAYAMA S, YAGYU S, HIGO K et al. A genetic locus susceptible to the overt proteinuria in BUF/Mna rat. *Mamm Genome*, 1998, **9**, 886-888.
38. HE C, ESPOSITO C, PHILLIPS C, ZALUPS RK et al. Dissociation of glomerular hypertrophy, cell proliferation, and glomerulosclerosis in mouse strains heterozygous for a mutation (Os) which induces a 50p. 100 reduction in nephron number. *J Clin Invest*, 1996, **97**, 1242-1249.
39. ESPOSITO C, HE CJ, STRIKER GE et al. Nature and severity of the glomerular response to nephron reduction is strain-dependent in mice. *Am J Pathol*, 1999, **154**, 891-897.
40. LENZ O, ZHENG F, VILAR J et al. The inheritance of glomerulosclerosis in mice is controlled by multiple quantitative trait loci. *Nephrol Dial Transplant*, 1998, **13**, 3074-3078.
41. MOREL L, RUDOFSKY UH, LONGMATE JA et al. Polygenic control of susceptibility to murine systemic lupus erythematosus. *Immunity*, 1994, **1**, 219-229.
42. IAKOUBOVA OA, DUSHKIN H, BEIER DR : Localization of a murine recessive polycystic kidney disease mutation and modifying loci that affect disease severity. *Genomics*, 1995, **26**, 107-114.
43. WOO DD, NGUYEN DK, KHATIBI N et al. Genetic identification of two major modifier loci of polycystic kidney disease progression in pcy mice. *J Clin Invest*, 1997, **100**, 1934-1940.
44. UPADHYA P, CHURCHILL G, BIRKENMEIER EH et al. Genetic modifiers of polycystic kidney disease in intersubspecific KAT2J mutants. *Genomics*, 1999, **58**, 129-137.
45. GUAY-WOODFORD LM, WRIGHT CJ, WALZ G et al. Quantitative trait loci modulate renal cystic disease severity in the mouse bpk model. *J Am Soc Nephrol*, 2000, **11**, 1253-1260.
46. ANDREWS KL, MUDD JL, LI C et al. Quantitative trait loci influence renal disease progression in a mouse model of Alport syndrome. *Am J Pathol*, 2002, **160**, 721-730.
47. YU H, SALE M, RICH SS, et al. Evaluation of markers on human chromosome 10, including the homologue of the rodent Rf-1 gene, for linkage to ESRD in black patients. *Am J Kidney Dis*, 1999, **33**, 294-300.
48. FREEDMAN BI, RICH SS, YU H et al. Linkage heterogeneity of end-stage renal disease on human chromosome 10. *Kidney Int*, 2002, **62**, 770-774.
49. HUNT SC, HASSTEDT SJ, COON H et al. Linkage of creatinine clearance to chromosome 10 in Utah pedigrees replicates a locus for end-stage renal disease in humans and renal failure in the fawn-hooded rat. *Kidney Int*, 2002, **62**, 1143-1148.

50. KLEINKNECHT C, TERZI F, BURTIN M et al. Experimental models of nephron reduction : some answers, many questions. *Kidney Int*, 1995, **49**, S51-S54.
51. REMUZZI G, RUGGENENTI P, BENIGNI A. Understanding the nature of renal disease progression. *Kidney Int*, 1997, **51**, 2-15.
52. MOGHAL N, STERNBERG PW. Multiple positive and negative regulators of signaling by the EGF-receptor. *Curr Opin Cell Biol*, 1999, **11**, 190-196.
53. HACKEL PO, ZWICK E, PRENZEL N et al. Epidermal growth factor receptors : critical mediators of multiple receptor pathways. *Curr Opin Cell Biol*, 1999, **11**, 184-189.
54. FERRARA N. Role of vascular endothelial growth factor in the regulation of angiogenesis. *Kidney Int*, 1999, **56**, 794-814.
55. HAMM LL, HERING SK, VEHASKARI VM. Epidermal growth factor and the kidney. *Semin Nephrol*, 1993, **13**, 109-115.
56. HUMES HD, CIESLINSKI DA, COIMBRA TM et al. Epidermal growth factor enhances renal tubule cell regeneration and repair and accelerates the recovery of renal function in posts ischemic acute renal failure. *J Clin Invest*, 1989, **84**, 1757-1761.
57. ORELLANA SA, SWEENEY WE, NEFF CD et al. Epidermal growth factor receptor expression is abnormal in murine polycystic kidney. *Kidney Int*, 1995, **47**, 490-499.
58. TERZI F, TICOZZI C, BURTIN M et al. Subtotal but not unilateral nephrectomy induces hyperplasia and protooncogene expression. *Am J Physiol*, 1995, **268**, F793-F801.
59. TERZI F, BURTIN M, FRIEDLANDER G. Early molecular mechanisms in the progression of renal failure : role of growth factors and protooncogenes. *Kidney Int*, 1998, **53**, S68-S73.
60. UHLMAN DL, NGUYEN P, MANIVEL JC et al. Epidermal growth factor receptor and transforming growth factor alpha expression in papillary and nonpapillary renal cell carcinoma : correlation with metastatic behavior and prognosis. *Clin Cancer Res*, 1995, **1**, 913-920.
61. LOWDEN DA, LINDEMANN GW, MERLINO G et al. Renal cysts in transgenic mice expressing transforming growth factor-alpha. *J Lab Clin Med*, 1994, **124**, 386-394.
62. STOCKLIN E, BOTTERI F, GRONER B. An activated allele of the c-erbB-2 oncogene impairs kidney and lung function and causes early death of transgenic mice. *J Cell Biol*, 1993, **122**, 199-208.
63. SCHAFFNER DL, BARRIOS R, MASSEY C et al. Targeting of the rasT24 oncogene to the proximal convoluted tubules in transgenic mice results in hyperplasia and polycystic kidneys. *Am J Pathol*, 1993, **142**, 1051-1060.
64. RICHARDS WG, SWEENEY WE, YODER BK et al. Epidermal growth factor receptor activity mediates renal cyst formation in polycystic kidney disease. *J Clin Invest*, 1998, **101**, 935-939.
65. TERZI F, BURTIN M, HEKMATI M et al. Sodium restriction decreases AP-1 activation after nephron reduction in the rat : role in the progression of renal lesions. *Exp Nephrol*, 2000, **8**, 104-114.
66. TERZI F, BURTIN M, HEKMATI M et al. Targeted expression of a dominant negative Epidermal Growth Factor Receptor in the kidney reduces tubulo-interstitial lesions after renal injury. *J Clin Invest*, 2000, **106**, 225-234.
67. WOODBURN JR. The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy. *Pharmacol Ther*, 1999, **82**, 241-250.
68. SWEENEY WE, CHEN Y, NAKANISHI K et al. Treatment of polycystic kidney disease with a novel tyrosine kinase inhibitor. *Kidney Int*, 2000, **57**, 33-40.
69. TERZI F, BURTIN M, FRIEDLANDER G. Using transgenic mice to analyze the mechanisms of progression of chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol*, 2000, **11**, S144-S148.
70. KREN S, HOSTETTER TH. The course of the remnant kidney model in mice. *Kidney Int*, 1999, **56**, 333-337.
71. PILLEBOUT E, BURTIN M, YUAN HT et al. Proliferation and remodeling of the peritubular micro-circulation after nephron reduction : association with the progression of renal lesions. *Am J Pathol*, 2001, **159**, 547-560.
72. THURSTON G, MURPHY TJ, BALUK P et al. Angiogenesis in mice with chronic airway inflammation : strain-dependent differences. *Am J Pathol*, 1998, **153**, 1099-1112.
73. HARMON KJ, COUPER LL, LINDNER V. Strain-dependent vascular remodeling phenotypes in inbred mice. *Am J Pathol*, 2000, **156**, 1741-1748.
74. ANGEL P, KARIN M. The role of Jun, Fos and the AP-1 complex in cell-proliferation and transformation. *Biochim Biophys Acta*, 1991, **1072**, 129-157.

75. PFARR CM, MECHTA F, SPYROU G et al. Mouse JunD negatively regulates fibroblast growth and antagonizes transformation by ras. *Cell*, 1994, **76**, 747-760.
76. THEPOT D, WEITZMAN JB, BARRA J et al. Targeted disruption of the murine junD gene results in multiple defects in male reproductive function. *Development*, 2000, **127**, 143-153.
77. WONG RW, KWAN RW, MAK PH et al. Overexpression of epidermal growth factor induced hypospermatogenesis in transgenic mice. *J Biol Chem*, 2000, **275**, 18297-18301.