

# BASES MOLÉCULAIRES DE LA FORMATION DE KYSTES DANS LA POLYKYSTOSE RÉNALE AUTOSOMIQUE DOMINANTE

par

A. CM ONG\*

Onze années se sont à présent écoulées depuis l'identification de *PKD1*, gène muté chez 85 p. 100 des patients atteints de polykystose rénale autosomique dominante (PKRAD) ; le clonage de *PKD2* a été obtenu deux ans plus tard.

L'objectif de cette revue est de résumer ce que l'on a appris des fonctions des des protéines (polycystine 1 et polycystine 2) et de la manière dont leurs mutations conduisent à la formation de kystes et à la progression de la PKRAD.

## HÉTÉROGÉNÉITÉ GÉNÉTIQUE

La mutation de *PKD1* (région chromosomique 16p13.3) est la cause la plus fréquente de PKRAD (~86 p. 100 des cas), la majorité des cas restants étant dus à des modifications de *PKD2* (4q22). Les phénotypes cliniques de PKD1 et de PKD2 se chevauchent largement ; ils n'ont été reconnus comme des maladies avec une étiologie différente qu'à la fin des années 1980 grâce à une analyse de liaison génétique. Cette similitude phénotypique concerne à la fois les manifestations rénales et extra-rénales. La PKD2 est toutefois une maladie significativement plus bénigne en ce qui concerne l'âge moyen au moment du diagnostic, la prévalence plus faible de l'hypertension artérielle et l'âge plus avancé à l'apparition de l'IRT (PKD1, 54,3 ans ; PKD2, 74,0 ans) [1]. En outre, les femmes atteintes de PKD2 ont un pronostic significativement meilleur (âge à l'apparition de l'IRT : hommes, 68,1 ans ; femmes, 76,0 ans) : la raison de cette différence n'est pas établie [2, 3]. Dans les deux maladies, on note une importante variabilité phénotypique intra-

\* Unité universitaire de Néphrologie, Institut de Néphrologie de Sheffield, Division des Sciences cliniques (Nord), Université de Sheffield, Sheffield, Royaume-Uni.

familiale, en ce qui concerne aussi bien la sévérité de la maladie rénale que les anomalies extra-rénales, indiquant que des loci de modification génétique et des facteurs environnementaux influencent de manière significative l'évolution de la maladie [2].

## PRÉDICTIONS STRUCTURELLES

La polycystine 1 est une glycoprotéine de membrane de grosse taille (460 kDa) (11 domaines transmembranaires), avec une région extracellulaire étendue contenant de nombreux domaines différents majoritairement impliqués dans des interactions protéine-protéine ou protéine-glucide, et une courte queue C-terminale contenant un domaine *coiled-coil* (fig. 1). Un rôle possible dans les interactions cellule/cellule et/ou cellule/matrice a été proposé pour cette protéine, mais aucun ligand n'a à ce jour été identifié avec certitude.

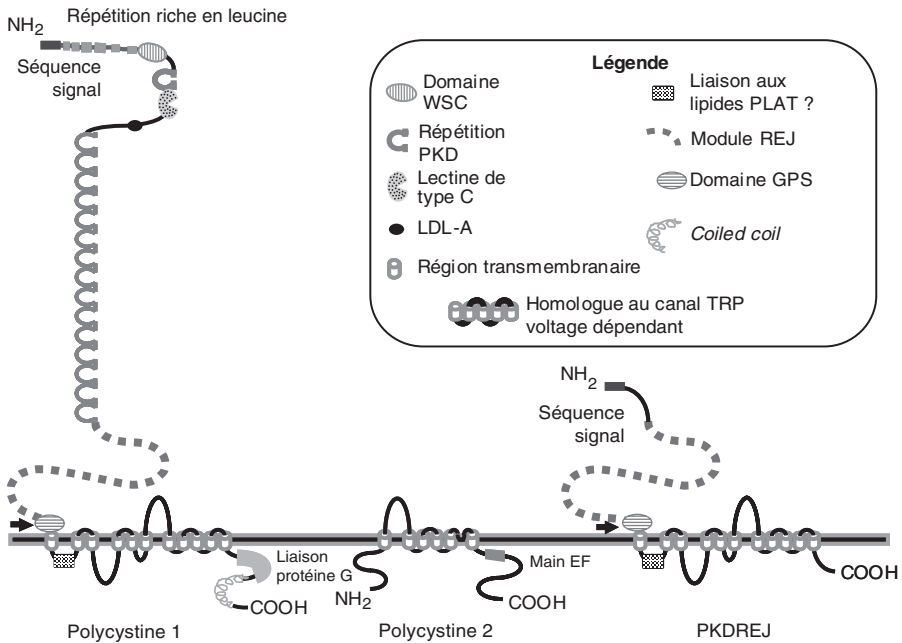


FIG. 1. — Modèles de la structure et de la topologie prévisibles de la polycystine 1, de la polycystine 2 et de l'homologue de la polycystine 1, PKDREJ. La polycystine 1 a de multiples motifs structurels avec une protéine (répétitions riches en leucine et PKD), un glucide (lectine de type C) et une capacité de fixation des lipides (PLAT) prévisibles. Le domaine PLAT et un site de clivage protéolytique des récepteurs couplés aux protéines G (GPS) sont des signatures hautement conservées dans les homologues de type polycystine 1. Les domaines PKD peuvent médier les interactions *cis* ou *trans* homophiles adhésives. La polycystine 2 a une similitude importante avec les canaux calciques VACC (voltage-dépendants) ou TRP (*transient receptor potential*). Le domaine extracellulaire de la protéine PKDREJ est clairement différent de celui de la polycystine 1, à part le domaine REJ.

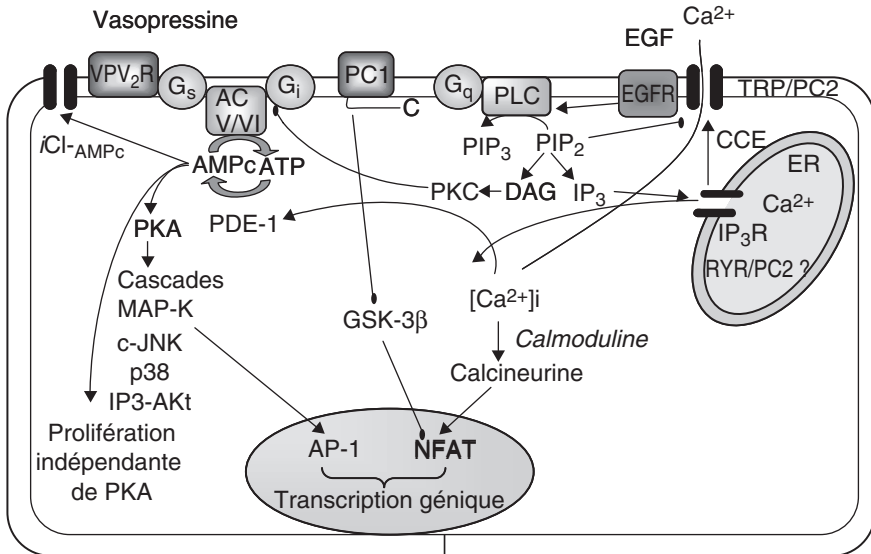


FIG. 2. — Schéma de certaines des voies de signalisation essentielles régulées par la polycystine 1 (PC1) ou la polycystine 2 (PC2). La fonction la mieux caractérisée de la PC2 est une fonction de canal calcique même si on ignore si sa fonction principale est de réguler les stocks de Ca<sup>2+</sup> du réticulum endoplasmique (RE) ou l'entrée du Ca<sup>2+</sup> extracellulaire. La PC2 pourrait également être impliquée dans l'entrée capacitative du calcium (CCE), peut-être en association avec d'autres sous-unités de canaux TRP. La PC1 peut fonctionner comme un récepteur couplé aux protéines G atypiques, activant plusieurs classes de protéines G (par exemple G<sub>i</sub>, G<sub>s</sub>, G<sub>q</sub>). Le rôle possible des adénylate cyclases (AC) et des phosphodiesterases (PDE) dans la régulation des concentrations intracellulaires d'AMPc et donc de la signalisation dépendante de l'AMPc (prolifération cellulaire, sécrétion de chlorure) est montré. L'intersection possible des voies de transduction du signal régulées par la vasopressine, le facteur de croissance épidermique (EGF) et la polycystine, discutée dans le texte, est illustrée.

La polycystine 2 n'a que 25 p. 100 d'identité avec la polycystine 1, mais elle fait preuve de plus d'homologie avec la région des six derniers domaines transmembranaires de la polycystine 1 et d'un degré élevé d'homologie de séquence avec les canaux VAC (voltage-dépendants) et TRP (*transient receptor potential*) (fig. 2) [4]. La similitude avec les protéines TRP a conduit à son inclusion (avec les autres protéines de type polycystine 2) dans une nouvelle sous-famille (TRPP) au sein de la superfamille TRP [5].

## MODIFICATION POST-TRADUCTIONNELLE : GLYCOSYLATION ET PHOSPHORYLATION

Les prédictions de séquence (60 sites N-liés sur la polycystine 1) et les arguments expérimentaux suggèrent que les polycystines sont glycosylées, et plusieurs glycoformes différentes de la polycystine 1 ont été identifiées [6].

L'extrémité C-terminale de la polycystine 1 peut être phosphorylée par la protéine kinase A et une tyrosine kinase de type *src* : l'activation de la signalisation peut se produire par cette modification [7]. La polycystine 2 est constitutivement phosphorylée en Ser812 par la caséine kinase 2, ce qui pourrait moduler la sensibilité au calcium de son activité canalaire ou son transport rétrograde depuis la membrane plasmique jusqu'au RE [8, 9]. Des travaux récents ont montré que la polycystine 2 peut être phosphorylée en d'autres sites (tels que Ser76 au sein de l'extrémité N-terminale), ce qui pourrait moduler son ciblage ou sa rétention dans la membrane plasmique [10].

### **MODIFICATION POST-TRADUCTIONNELLE : CLIVAGE PROTÉOLYTIQUE**

Une autre modification post-traductionnelle de la polycystine 1 proposée est le clivage pouvant générer plus d'un produit protéique. L'homologie de séquence avec les récepteurs de la latrophiline/CL-1 a permis d'identifier un site protéolytique pour les récepteurs couplés aux protéines G (GPS ; où les protéines latrophiline/CL-1 sont clivées) dans les polycystines de type PKD1. Des données récentes obtenues sur la polycystine 1 exprimée de manière ectopique ont mis en évidence un clivage partiel au niveau de ce site ; le clivage ne s'est pas produit dans un éventail de protéines polycystine 1 mutantes avec des mutations faux sens dans la région REJ adjacente [11]. Par analogie avec les récepteurs de la latrophiline/CL-1, les produits des extrémités N- et C-terminales clivés restent attachés, même si, dans ce cas, la liaison n'est pas covalente. La signification fonctionnelle de cet événement de clivage et le fait de savoir si les deux produits restent toujours attachés dans le même complexe sont des questions qui ne sont pas encore complètement résolues. Il est concevable que la polycystine 1 puisse exister sous plusieurs formes fonctionnelles distinctes, à savoir non clivée, clivée et attachée à l'extrémité C-terminale ou sous forme d'une portion N-terminale clivée pouvant être sécrétée.

Il a été proposé que l'extrémité C-terminale de la polycystine 1 puisse subir un événement de clivage protéolytique supplémentaire – un processus qualifié de « protéolyse intramembranaire régulée (RIP) » qui pourrait permettre la translocation de la queue C-terminale de la polycystine 1 vers le noyau pour médier directement la transcription génique [12]. Le site de clivage précis est toutefois incertain, on ne sait pas si ce processus peut se produire *in vivo* et les programmes géniques régulés par ce processus ne sont pas actuellement connus.

### **MÉCANISME MUTATIONNEL : UN TEMPS OU DEUX TEMPS ?**

Un mécanisme de formation des kystes en deux temps a été proposé pour la PKRAD : il s'agit du « double hit », constitué d'une mutation germinale pour un allèle et d'une mutation somatique pour l'autre. Ce mécanisme pourrait rendre compte de plusieurs des caractéristiques de la PKRAD : la nature focale du développement des kystes, l'augmentation du nombre de kystes avec l'âge et la varia-

bilité phénotypique étonnante observée dans la plupart des familles. La description de la clonalité des cellules épithéliales au sein de kystes individuels et la détection de mutations somatiques dans des cellules isolées dans un certain nombre de kystes rénaux et hépatiques confortent l'hypothèse double hit [13-15]. En outre, le développement embryonnaire de kystes rénaux chez des animaux homozygotes invalidés pour *Pkd1* ou *Pkd2* et, en particulier, la maladie kystique progressive observée associée au mutant *Pkd2*<sup>WS25</sup> (qui a un allèle de *Pkd2* prédisposé à l'inactivation par mutation somatique) sont cohérents avec un modèle du double hit favorisant le développement des kystes [16, 17]. On ne sait pas si le double hit est le seul moyen de générer un kyste et il est possible que les mutations somatiques soient des événements tardifs plus importants pour l'expansion et la progression des kystes que pour leur initiation [18].

Une immunoréactivité persistante ou même renforcée pour la polycystine 1 ou 2 est souvent détectée dans les épithéliums kystiques, mais on ne sait pas si ce signal représente ou non une protéine fonctionnelle [19-22]. Des études récentes indiquent que des modifications cytotypiques multiples aboutissant à des déséquilibres chromosomiques sont associées au développement des kystes, et pas seulement à une perte d'hétérozygotie (LOH) au niveau de l'allèle normal (même si la LOH en position 16p a été retrouvée plus fréquemment) [23]. La dédifférenciation progressive des épithéliums kystiques lors de l'augmentation de volume des kystes dans le modèle murin *Pkd2*<sup>WS25/-</sup> indique également que le développement et l'expansion des kystes peuvent être dynamiques et pas seulement le résultat d'un processus mutationnel en deux temps [24]. En utilisant un modèle murin chimérique, une étude récente a montré que des cellules sauvages peuvent être impliquées aux étapes les plus précoces de la croissance et de l'expansion des kystes [25].

Un autre exemple illustre la complexité du développement des kystes : il existe parfois des mutations somatiques de *PKD2* dans les épithéliums kystiques de patients PKD1 et vice versa, suggérant que les cellules qui sont trans-hétérozygotes peuvent être prédisposées au développement de kystes [26, 27]. Des cas de patients et de souris trans-hétérozygotes pour une mutation germinale de *PKD1* et de *PKD2* ont été rapportés [28, 29]. Bien que ces patients ou ces animaux aient une maladie plus sévère que ceux ayant une seule de ces mutations, la différence n'est pas considérable (c'est-à-dire que chaque cellule tubulaire rénale ne donne pas naissance à un kyste). Ces événements somatiques concernant l'autre gène *PKD* semblent donc apparentés aux modifications génétiques qui augmentent le risque de développement de kystes (ou accélèrent leur progression), peut-être en abaissant le « seuil » kystique plutôt qu'en induisant la kystogénèse.

Un autre exemple de mutation germinale d'un second gène pouvant accélérer le développement et l'expansion des kystes est celui de la délétion emportant les gènes contigus *PKD1* et *TSC2* (un allèle du gène de la sclérose tubéreuse) [30]. Ces patients ont une sclérose tubéreuse et une polykystose d'apparition précoce sévère, indiquant un rôle synergique probable pour la polycystine 1 et la tubérine (la protéine TSC2) dans le développement des kystes [31]. Un mécanisme d'interaction entre ces deux protéines a d'ailleurs été suggéré, la tubérine pouvant jouer un rôle dans l'adressage de la polycystine 1 vers la membrane cellulaire latérale [32].

De nombreux éléments indiquent que la perte d'un seul allèle (haplo-insuffisance) suffit à modifier le phénotype. Une étude récente a trouvé que les cellules musculaires lisses vasculaires *Pkd2*<sup>+/-</sup> présentent une altération de l'homéostasie du Ca<sup>2+</sup> intracellulaire [33]. De plus, les souris *Pkd2* haplo-insuffisantes ont une

survie réduite (qui n'est pas due à l'insuffisance rénale), indiquant qu'une réduction de la dose de polycystine 2 peut en soi exercer un impact phénotypique [34]. La surexpression de la polycystine 1 humaine fonctionnelle par l'intermédiaire d'un transgène génomique aboutit à des kystes liés à l'âge dans le rein et le foie, suggérant qu'un déséquilibre dans les quantités relatives d'une protéine polycystine peut également se traduire par le développement de kystes [35].

En résumé, il semble que la kystogénèse soit un processus complexe. Le développement de kystes a nécessité au départ une mutation germinale, mais différents facteurs s'ajoutent à cette mutation et influencent la probabilité de formation des kystes. Parmi eux, citons les événements génétiques somatiques au niveau de l'autre allèle (normal), les mutations au niveau de l'autre gène de la PKRAD et, peut-être, un vaste éventail d'autres loci génétiques. En effet, ces loci agissent comme des modificateurs de la présentation de la maladie dans la PKRAD. Au-delà des événements génétiques, des facteurs stochastiques influencent aussi probablement le fait de savoir si une cellule, haplo-insuffisante pour une mutation de la PKRAD, est détournée vers une voie kystogène. D'autres facteurs sont susceptibles de modifier le phénotype kystique, tels que la présence d'une protéine polycystine 1 partiellement fonctionnelle (par exemple chez des souris *Pkd1* del34 [36]), ou encore la présence d'une protéine mutante non fonctionnelle pouvant agir de manière dominante négative.

## MISE EN ÉVIDENCE D'UN « COMPLEXE POLYCYSTINES »

Il a été montré que la polycystine 1 et la polycystine 2 interagissent par l'intermédiaire de leurs parties C-terminales pour former un complexe. Les éléments en faveur de cette interaction sont d'abord venus d'études de double hybride utilisant un domaine *coiled-coil* conservé de la polycystine 1 [37, 38]. On sait aussi que la polycystine 2 possède une région en amont du domaine d'hétérodimérisation qui est susceptible de médier l'homodimérisation. Il existe enfin désormais de bonnes preuves biochimiques à l'appui d'une interaction entre les polycystines *in vivo* [6].

Les premières preuves directes d'une interaction fonctionnelle entre les polycystines a été la reconstitution de l'activité non sélective des canaux cationiques dans des cellules CHO par l'expression hétérologue de la polycystine 1 et de la polycystine 2 [39]. La spécificité de ces observations a été démontrée par l'incapacité de certains mutants naturels de la polycystine 1 et de la polycystine 2, dépourvus de leurs domaines respectifs d'hétérodimérisation, à reconstituer l'activité des canaux.

## MODÈLES POUR L'INTERACTION DE LA POLYCYSTINE 1 ET DE LA POLYCYSTINE 2

Les études de fractionnement membranaire ont apporté de nouvelles preuves de la présence d'un complexe polycystines dans les membranes plasmiques et

dans le Golgi, même si plus de 90 p. 100 de la polycystine 2 ont été détectés dans le RE [6]. D'autres auteurs ont suggéré une localisation exclusive de la polycystine 2 dans le RE sur la base de sa sensibilité à l'EndoH (une glucosidase qui clive les sucres mannose), car cette propriété est habituellement évocatrice d'une absence de traitement dans le Golgi [40]. Certaines protéines sécrétées conservent toutefois une sensibilité à l'EndoH, indiquant qu'il ne s'agit pas d'une caractéristique absolue du traitement dans le Golgi [41]. Il est également possible que la population de polycystine 2 qui subit une maturation dans le Golgi soit si petite (5 à 10 p. 100) qu'elle est difficile à détecter par des dosages enzymatiques de glycosylation. Cette fraction (qui peut être biotinyllée en surface dans certaines cellules) pourrait encore représenter la population active de polycystine 2 à la surface cellulaire.

L'observation d'une localisation prédominante dans le RE avec malgré tout la description d'une localisation de la polycystine 2 et de l'activité des canaux dans d'autres sites ont généré des débats sur le principal site d'action physiologique de la polycystine 2 endogène. Un facteur de confusion potentiel est le fait que la polycystine 2 hétérologue est presque entièrement retenue dans le RE de certaines cellules. Une activité des canaux de la polycystine 2 a été détectée dans la membrane apicale des syncytiotrophoblastes placentaires, les cils primaires et la membrane plasmique de cellules en culture [42-44]. Il a en revanche été montré que la polycystine 2 hétérologue fonctionne comme un canal calcique du RE activé par le calcium dans les cellules LLCPK [45]. Evidemment, ces observations pourraient être rapprochées si la polycystine 2 peut fonctionner au niveau de plus d'une localisation subcellulaire (par exemple, RE, cils primaires, membrane plasmique).

Si la polycystine 2 est complètement retenue dans le RE, un modèle de couplage conformationnel analogue à celui décrit entre les canaux TRP et les récepteurs IP3 pourrait expliquer son interaction avec la polycystine 1 de la membrane plasmique [46]. Ce modèle ne devrait cependant pas permettre d'expliquer l'activité des canaux de la polycystine 2 localisée avec la polycystine 1 au niveau de la membrane ciliaire de sorte qu'une portion de polycystine 2 doit quitter le RE [43]. Si le ciblage, le trafic ou la rétention de la polycystine 2 entre les différents compartiments membranaires sont étroitement régulés, cela pourrait être un moyen efficace de contrôler son activité en différents sites cellulaires [8-10, 47]. De plus, certaines des différences observées entre les études pourraient s'expliquer par les facteurs spécifiques aux cellules ou aux tissus qui contrôlent la ou les localisations de la protéine.

## LA POLYCYSTINE 2 PEUT INTERAGIR AVEC D'AUTRES SOUS-UNITÉS DES CANAUX TRP

La polycystine 2 endogène peut interagir avec elle-même pour former des homodimères [6] et elle peut probablement s'hétérodimeriser avec d'autres membres de la superfamille des canaux TRP, par exemple TRPC1, pour reconstituer de nouvelles propriétés de canaux potentiellement dans les domaines de la membrane plasmique [4]. Aucune preuve fonctionnelle directe de ces nouvelles interactions n'a toutefois encore été apportée.

## SIGNALISATION DES CILS NODAUX : UNE FONCTION SPÉCIFIQUE DE LA POLYCYSTINE 2 ?

Une observation inattendue a été faite dans des embryons *Pkd2<sup>-/-</sup>*, à savoir la manifestation de défauts de latéralité sous forme d'une randomisation de l'asymétrie gauche/droite. Cette observation a conduit à impliquer la polycystine 2 dans la voie de signalisation ciliaire nodale qui établit l'asymétrie du plan du corps [48]. Des données récentes indiquent que la polycystine 2 est exprimée dans les monocils nodaux et transduit le signal  $\text{Ca}^{2+}$  asymétrique activé par le flux détecté au niveau de la bordure gauche du nœud [49]. Il n'a pas été décrit de défauts de latéralité dans des embryons *Pkd1<sup>-/-</sup>*, ce qui suggère qu'il puisse s'agir d'une fonction spécifique de la polycystine 2 [50].

### LA POLYCYSTINE 2 RÉGULE LE CALCIUM INTRACELLULAIRE

L'étroite ressemblance entre la polycystine 2 (et les protéines de type polycystine 2) et les canaux TRP a conduit à penser que la polycystine 2 était susceptible de reconstituer un canal  $\text{Ca}^{2+}$ . Il a d'abord été montré que la polycystine L (proche de PKD2), pouvait reconstituer un canal  $\text{Ca}^{2+}$  dans des oocytes de *Xenopus* [51]. Des études ultérieures ont démontré que la polycystine 2 elle-même pouvait conduire les cations divalents, y compris le  $\text{Ca}^{2+}$  [39, 42, 43, 45]. Ces études ont employé divers systèmes expérimentaux pour caractériser les propriétés des canaux d'une polycystine 2 traduite *in vitro* dans des bicouches lipidiques, de la polycystine 2 hétérologue dans des cellules ou dans des oocytes de *Xenopus*, et une activité des canaux endogènes dans des syncytiotrophoblastes placentaires. Les propriétés des canaux « polycystine 2 » mesurées dans chaque système ont différé en dépit de quelques caractéristiques communes [52].

Hormis la cas des cellules placentaires, il a été difficile de mesurer dans des cultures de cellules des courants de polycystine 2 endogène membranaires, probablement en raison du nombre faible de canaux insérés dans la membrane plasmique à l'état d'équilibre. De plus, l'activité et le trafic de ces canaux sont probablement étroitement régulés. Dans une étude récente, il a été montré que le facteur de croissance épidermique (EGF) se lie à l'extrémité C-terminale de la polycystine 2 et active l'activité des canaux en réduisant les taux de PIP2 [44] (voir fig. 2). Le mécanisme proposé est analogue à celui décrit pour d'autres canaux TRP, à savoir que l'EGF libère le canal polycystine 2 de l'inhibition tonique par la PIP2 de manière à permettre son activation par d'autres stimuli (positifs), par exemple le flux laminaire. Cette observation fournit un lien intéressant entre la régulation soluble et mécanique du canal polycystine 2.

Une question non résolue est de savoir à quel point la fonction de canal de la polycystine 2 endogène dépend de la présence ou de l'activité de la polycystine 1. Comme les deux protéines sont presque ubiquitaires dans leur expression, cette question a été difficile à résoudre. La polycystine 1 peut être impliquée dans le trafic de la polycystine 2 vers la membrane plasmique, elle peut être essentielle pour l'activation par le flux des courants de la polycystine 2 et pourrait (positive-

ment ou négativement) réguler l'activité des canaux de la polycystine 2 [39, 43, 53, 54]. La capacité de la polycystine 1 à reconstituer l'activité des canaux par elle-même ou à faire partie d'un pore de canal (avec des sous-unités autres que la polycystine 2) n'a pas encore été définitivement établie. Dans certains systèmes, l'expression hétérologue de la polycystine 1 complète ou de son extrémité C-terminale peut à elle seule activer un courant calcique non sélectif [55], indépendamment de la polycystine 2 [56].

## UN CANAL MÉCANO-SENSORIEL POLYCYSTINE 1/ POLYCYSTINE 2 DANS LES CILS PRIMAIRES

Une fonction mécano-sensorielle des cils primaires rénaux a été suggérée, car l'inclinaison des cils induite par le flux liquidien conduit, par l'entrée de  $\text{Ca}^{2+}$  extracellulaire, à la libération de  $\text{Ca}^{2+}$  provenant des stocks intracellulaires (mécanisme appelé libération de calcium induite par le calcium ou CICR) [57]. On dispose désormais de données expérimentales indiquant qu'un complexe ciliaire de polycystines agit comme mécano-senseur et que le canal polycystine 2 médie l'entrée sensible au flux du  $\text{Ca}^{2+}$  extracellulaire [43]. On ne sait pas si les canaux  $\text{Ca}^{2+}$  du RE (IP3 ou ryanonidine) qui médient la libération de calcium induite par le flux sont différents dans les deux modèles utilisés. Ces résultats suggèrent toutefois qu'un défaut dans la mécano-sensation ciliaire dû à des mutations de *PKD1* ou *PKD2* aboutit à la perturbation de l'entrée de  $\text{Ca}^{2+}$  et probablement de l'homéostasie : cela conduit d'une certaine façon au développement des kystes. D'autres rôles possibles ont été proposés pour les cils primaires, par exemple un rôle de senseur du diamètre luminal tubulaire, agissant comme un point de contrôle important dans la maturation des tubules avec secondairement une expansion kystique lorsque cette maturation est déficiente [58].

## AUTRES VOIES DE SIGNALISATION : PROTÉINES G ET AMPc

L'analyse fonctionnelle des cellules exprimant *PKD1* et *PKD2* hétérologues ou des cellules déficientes en l'une ou l'autre de ces protéines a montré que les polycystines étaient impliquées dans la régulation d'un certain nombre de voies de signalisation essentielles (voir fig. 2). Des preuves solides indiquent que la polycystine 1 peut fonctionner comme un récepteur couplé aux protéines G. L'extrémité C-terminale de la polycystine 1 contient une séquence d'activation des protéines G hautement conservée (voir fig. 1) qui peut fixer et activer plusieurs classes de sous-unités  $G_{\alpha}$  et peut-être d'autres GTPases telles que Rac1 et cdc42 [59, 60]. La co-expression de la polycystine 2 avec la polycystine 1 a fait preuve d'effets à la fois coopératifs et inhibiteurs sur la signalisation en aval médiée par la polycystine 1. Par exemple, la polycystine 2 ectopique augmente la signalisation de l'AP-1 médiée par la PKC activée par la polycystine 1 ( $G_q$ ) dans des cellules de rein embryonnaire humain (HEK) mais inhibe la signalisation couplée aux

protéines G ( $G_{i/o}$ ) déclenchée par la polycystine 1 dans des cellules neuronales sympathiques [61, 62]. Comme la polycystine 1 semble se coupler à des protéines G différentes dans ces deux types de cellules, l'interaction entre les polycystines pourrait potentiellement se traduire par l'activation ou l'inactivation de voies couplées aux protéines G différentes. L'extrémité C-terminale de la polycystine 1 peut fixer et stabiliser RGS7, un régulateur de la molécule de signalisation des protéines G (RGS) qui est habituellement rapidement dégradé [63]. La stabilisation de RGS-7 pourrait à son tour moduler un certain nombre de cascades de signalisation dépendantes des protéines G, notamment celles qui sont activées par la polycystine 1. Une comparaison directe entre les différentes études est toutefois compliquée par l'utilisation de polycystine 1 de différentes longueurs (la plupart des études ont utilisé la queue C-terminale), ainsi que de types cellulaires et de paramètres différents pour la transduction du signal. En particulier, l'expression hétérologue de l'extrémité C-terminale peut induire des cascades de signalisation liées à la « perte de fonction » de la polycystine 1 par un mécanisme dominant négatif puisqu'il a été montré qu'elle convertissait des cellules normales d'un phénotype « kystique » inhibiteur de l'AMPC à un phénotype « kystique » sensible à l'AMPC (*voir ci-dessous*) [64].

Il a récemment été montré qu'une voie importante jouait un rôle prédominant dans la régulation de la transduction du signal médiée par l'AMP cyclique (*voir fig. 2*). Les cellules épithéliales kystiques de l'PKRAD semblent subir une commutation phénotypique de l'inhibition à la stimulation de la prolifération cellulaire en cas d'exposition à des agents qui augmentent les concentrations cellulaires d'AMPC [65]. Il est intéressant de noter que des cellules normales ont été commutées à ce phénotype lorsqu'elles ont été exposées à des milieux pauvres en calcium, des inhibiteurs calciques non sélectifs ou de type L, ce qui laisse supposer que la perturbation de la régulation du calcium intracellulaire joue un rôle important dans ce phénotype [66]. Les concentrations d'AMP cyclique sont augmentées dans les cellules et les tissus de souris  $Pkd2^{+/-}$ , parallèlement à une réduction du  $Ca^{2+}$  à l'état d'équilibre et des courants de  $Ca^{2+}$  activés par la vidange des stocks (SOC) [33] ; il est concevable que ces anomalies calciques modifient les taux d'AMPC en stimulant les isoformes de l'adénylate cyclase pouvant être inhibées par le Ca (V, VI) ou en inhibant les phosphodiesterases stimulées par le  $Ca^{2+}$  (Classe I). La polycystine 1 pourrait également potentiellement inhiber l'activité adénylate cyclase par l'activation des protéines G ( $G_{i/o}$ ). Toutefois, les cellules mutantes  $Pkd1$  ou les tissus ne semblent pas présenter d'augmentation des concentrations d'AMPC [67], de sorte qu'un mécanisme différent doit expliquer la sensibilité à l'AMPC dans ce contexte. On ne sait pas non plus clairement si l'haplo-insuffisance de la polycystine 1 entraîne une altération de l'homéostasie du  $Ca^{2+}$  comme il a été décrit pour les cellules haplo-insuffisantes de la polycystine 2.

## AUTRES FONCTIONS POSSIBLES DU COMPLEXE POLYCYSTINE 1/POLYCYSTINE 2

L'interaction des polycystines a été étudiée dans plusieurs systèmes modèles *in vitro* et organismes modèles, permettant d'évoquer d'autres fonctions putatives.

### **Prolifération, apoptose, tubulogénèse**

L'augmentation de la prolifération cellulaire est une caractéristique précoce dans les tubules non kystiques (normaux) des reins atteints de PKRAD, impliquant indirectement la polycystine 1 et la polycystine 2 dans le contrôle de la prolifération des cellules tubulaires. La surexpression exogène de *PKD1* dans des cellules MDCK entraîne la suppression de la prolifération cellulaire, l'augmentation de la résistance à l'apoptose et le développement de tubules branchés plutôt que de kystes [68]. Ce rôle de la polycystine 1 et de la polycystine 2 dans la différenciation épithéliale pourrait être lié à l'activation de la voie JAK2 et STAT1/3 [69].

### **Adhésion cellulaire : polycystine 1, E-cadhérine et intégrines**

Des interactions homophiliques de la polycystine 1 (par l'intermédiaire des domaines PKD) susceptibles de médier les contacts cellule-cellule ont été décrites [70]. L'adhésion cellule-cellule peut être altérée par des anticorps dirigés contre les domaines PKD, un effet qui est partiellement surmonté dans les cellules de tube collecteur de souris exprimant la polycystine 1 transgénique humaine [71]. Des interactions hétérophiles de la polycystine 1 avec le complexe E-cadhérine/caténine ont également été rapportées : elles pourraient contribuer au maintien d'une adhésion intercellulaire normale [72, 73]. Les cellules kystiques de patients PKRAD présentent un défaut du trafic de la membrane basolatérale pour les lipides et pour certaines protéines telles que la E-cadhérine et le LDL-R qui sont retenues dans le Golgi [74]. Ceci pourrait expliquer le remplacement de la E-cadhérine par la N-cadhérine dans les cellules kystiques [71, 73].

La polycystine 1 a également été localisée dans des adhésions focales et pourrait faire partie d'un complexe d'adhésion focale médiant l'adhésion cellule-matrice, la tubulogénèse branchée et la migration cellulaire [68, 75-77]. Les cellules PKD kystiques ont une adhésion accrue vis-à-vis du collagène I ou de la laminine 5, suggérant que la polycystine 1 et/ou la polycystine 2 pourraient influencer la signalisation médiée par les intégrines [75, 78]. Il serait intéressant de savoir si la phosphorylation de la polycystine 1 détermine son enrichissement en complexes cellule-cellule ou cellule-matrice, ce qui permettrait alors de déterminer son principal site d'action dans différents états de différenciation cellulaire dans la vie fœtale et adulte [79].

### **ÉLÉMENTS PROVENANT D'AUTRES ORGANISMES MODÈLES**

Dans *C. elegans*, *lov-1* (l'orthologue *pkd1* de *C. elegans*) et *pkd2* sont tous deux localisés dans un sous-ensemble de neurones sensoriels ciliés impliqués dans le comportement d'appariement des mâles, les impliquant ainsi potentiellement dans les mêmes voies de signalisation mécano-sensorielles ou chimio-sensorielles [80]. Chez la drosophile, *dpkd2* a été immunolocalisée dans les flagelles spermatiques ;

les spermatozoïdes mutants (amo) *dpkd2* sont normalement motiles, mais ils ont une incapacité caractéristique à pénétrer dans l'organe de stockage des spermatozoïdes de la femelle [81]. Le phénotype des mutants *pkd1* de *Drosophila* n'a pas été défini, peut-être parce qu'il y a plusieurs homologues étroitement apparentés. Les homologues de la polycystine chez l'oursin, *suREJ3* et *suPC2*, ont tous deux été immunolocalisés dans la vésicule acrosomique du spermatozoïde et ils peuvent co-immunoprécipiter [82]. Ces données, d'une manière générale, impliquent *pkd2* et *pkd1* dans l'activation par des ligands et/ou la mécanotransduction même si les ligands ou stimuli précis qui activent le complexe de polycystines sont clairement différents dans chaque modèle. Les voies de signalisation activées pourraient également être différentes.

## AUTRES HOMOLOGUES DE LA POLYCYSTINE

Plusieurs homologues de type polycystine 1 (par exemple *PKDREJ*) ou polycystine 2 (par exemple *PKDL*) ont été décrits, certains avec une expression tissulaire distincte ou des fonctions spécifiques (tableau 1). Les protéines de type *PKD1* ont une signature caractéristique de domaines GPS et PLAT combinés tandis que les protéines de type *PKD2* ont des motifs de canaux caractéristiques (voir fig. 1). La polycystine *REJ* est probablement l'orthologue humain de la protéine *suREJ3* de l'oursin impliquée dans la réaction acrosomique [83]. Même si aucun de ces homologues n'a été définitivement associé à un phénotype *PKD*, ces homologues pourraient potentiellement modifier certaines des manifestations extra-rénales de la polycystine 1 ou de la polycystine 2 en formant des hétérodimères dotés de propriétés distinctes : on attend la preuve expérimentale de cette hypothèse.

## PERSPECTIVES POUR LE TRAITEMENT

L'identification de *PKD1* et de *PKD2* a également permis de créer des modèles de maladie orthologues pour étude. Un modèle de rongeur *pkd2* particulier, la souris *Pkd2<sup>ws25/-</sup>*, survit à l'âge adulte et reproduit fidèlement le phénotype kystique rénal.

Des résultats prometteurs utilisant un nouvel inhibiteur (*OPC31260*) ciblant le récepteur *V2* de la vasopressine (*VPV2R*) ont été rapportés dans ce modèle, avec une inhibition marquée de la taille du rein et de la progression des kystes [84]. L'*OPC31260* semble avoir peu d'effets secondaires, peut-être en raison de l'expression restreinte du *VPV2R* dans les principales cellules du tube collecteur. Son mécanisme d'action pourrait passer par la réduction des concentrations d'*AMPC* dans le tissu *PKD*. Même si son efficacité reste à démontrer dans la *PKRAD* humaine, ce composé devrait être le premier d'une série de nouveaux médicaments prometteurs dotés du potentiel de modifier l'histoire naturelle de la progression de la maladie dans la *PKRAD*.

TABLEAU I. — HOMOLOGUES HUMAINS DE LA POLYCYSTINE 1 ET DE LA POLYCYSTINE 2.

| PROTÉINE  | GÈNE   | CHROMOSOME | FONCTION  | MALADIE HUMAINE | DISTRIBUTION TISSULAIRE  |
|---|--|------------|---|-----------------|--|
| Polycystine 1   | <i>PKD1</i>  | 16p13.3    | ? adhésion<br>? régulateur des canaux<br>? mécano-senseur   | PKRAD           | Large, plus élevée dans le tissu fœtal                                   |
| Polycystine REJ                                       | <i>PKDREJ</i>                                      | 22q13      | ? réaction acrosomique                                      | Inconnu         | Testicule  |
| Polycystine 1L1                                       | <i>PKD1L1</i>                                      | 7p12-13    | ?   | Inconnu         | Cœur, cerveau, placenta, testicule, tissu mammaire                       |
| Polycystine 1L2                                       | <i>PKD1L2</i>                                      | 16q 22-23  | ?   | Inconnu         | Cœur, cerveau, placenta, testicule, poumon, pancréas, foie, muscle strié |
| Polycystine 1L3                                       | <i>PKD1L3</i>                                      | 16q 22-23  | ?   | Inconnu         | Placenta, foie, testicule  |
| Polycystine 2   | <i>PKD2</i>  | 4q21-23    | Canal ionique<br>Détermination LR<br>? réaction acrosomique | PKRAD           | Large  |
| Polycystine L<br>(polycystine 2L;<br>polycystine 2L1) | <i>PKDL</i><br>( <i>PKD2L</i> ;<br><i>PKD2L1</i> ) | 10q24-25   | Canal ionique   | Inconnu         | Cœur, cerveau, testicule, rétine, rate, rein, muscle strié               |
| Polycystine 2L2                                       | <i>PKD2L2</i>                                      | 5q31       | ?   | Inconnu         | Testicule  |

## BIBLIOGRAPHIE

1. HATEBOER N, v DIJK MA, BOGDANOVA N et al. Comparison of phenotypes of polycystic kidney disease types 1 and 2. European PKD1-PKD2 Study Group. *Lancet*, 1999 ; **353** : 103-107.
2. ROSSETTI S, BURTON S, STRMECKI L et al. The position of the polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene mutation correlates with the severity of renal disease. *J Am Soc Nephrol*, 2002 ; **13** : 1230-1237.
3. MAGISTRONI R, HE N, WANG K et al. Genotype-renal function correlation in type 2 autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*, 2003 ; **14** : 1164-1174.
4. TSIOKAS L, ARNOULD T, ZHU C. Specific association of the gene product of PKD2 with the TRPC1 channel. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999 ; **96** : 3934-3939.
5. MONTELL C, BIRNBAUMER L, FLOCKERZI V et al. A unified nomenclature for the superfamily of TRP cation channels. *Mol Cell*, 2002 ; **9** : 229-231.
6. NEWBY LJ, STREETS AJ, ZHAO Y et al. Identification, characterization, and localization of a novel kidney polycystin-1-polycystin-2 complex. *J Biol Chem*, 2002 ; **277** : 20763-20773.
7. LI HP, GENG L, BURROW CR. Identification of phosphorylation sites in the PKD1-encoded protein C-terminal domain. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999 ; **259** : 356-363.
8. CAI Y, ANYATONWU G, OKUHARA D et al. Calcium dependence of polycystin-2 channel activity is modulated by phosphorylation at Ser812. *J Biol Chem*, 2004 ; **279** : 19987-19995.
9. KOTTGEN M, BENZING T, SIMMEN T et al. Trafficking of TRPP2 by PACS proteins represents a novel mechanism of ion channel regulation. *Embo J*, 2005 ; **24** : 705-716.
10. STREETS AJ, MOON DJ, ONG AC. Identification of a glycogen synthase kinase 3 phosphorylation site within the N-terminus of polycystin-2 which regulates its localisation at the plasma membrane. *J Am Soc Nephrol*, 2005 ; **16** : 25A.
11. QIAN F, BOLETTA A, BHUNIA AK et al. Cleavage of polycystin-1 requires the receptor for egg jelly domain and is disrupted by human autosomal-dominant polycystic kidney disease 1-associated mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002 ; **99** : 16981-16986.
12. CHAUVET V, TIAN X, HUSSON H et al. Mechanical stimuli induce cleavage and nuclear translocation of the polycystin-1 C terminus. *J Clin Invest*, 2004 ; **114** : 1433-1443.
13. WATNICK TJ, TORRES VE, GANDOLPH MA et al. Somatic mutation in individual liver cysts supports a two-hit model of cystogenesis in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Mol Cell*, 1998 ; **2** : 247-251.
14. BRASIER JL, HENSKE EP. Loss of the polycystic kidney disease (PKD1) region of chromosome 16p13 in renal cyst cells supports a loss-of-function model for cyst pathogenesis. *J Clin Invest*, 1997 ; **99** : 194-199.
15. QIAN F, WATNICK TJ, ONUCHIC LF. The molecular basis of focal cyst formation in human autosomal dominant polycystic kidney disease type I. *Cell*, 1996 ; **87** : 979-987.
16. LU W, PEISSEL B, BABAKHANLOU H et al. Perinatal lethality with kidney and pancreas defects in mice with a targeted Pkd1 mutation. *Nat Genet*, 1997 ; **17** : 179-181.
17. WU G, D'AGATI V, CAI Y et al. Somatic inactivation of Pkd2 results in polycystic kidney disease. *Cell*, 1998 ; **93** : 177-188.
18. ONG AC, HARRIS PC. Molecular basis of renal cyst formation--one hit or two ? *Lancet*, 1997 ; **349** : 1039-1040.
19. ONG AC, HARRIS PC, DAVIES DR et al. Polycystin-1 expression in PKD1, early-onset PKD1, and TSC2/PKD1 cystic tissue. *Kidney Int*, 1999 ; **56** : 1324-1333.
20. ONG AC, WARD CJ, BUTLER RJ et al. Coordinate expression of the autosomal dominant polycystic kidney disease proteins, polycystin-2 and polycystin-1, in normal and cystic tissue. *Am J Pathol*, 1999 ; **154** : 1721-1729.
21. WARD CJ, TURLEY H, ONG AC et al. Polycystin, the polycystic kidney disease 1 protein, is expressed by epithelial cells in fetal, adult, and polycystic kidney. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996 ; **93** : 1524-1528.
22. GENG L, SEGAL Y, PEISSEL B et al. Identification and localization of polycystin, the PKD1 gene product. *J Clin Invest*, 1996 ; **98** : 2674-2682.

23. GOGUSEV J, MURAKAMI I, DOUSSAU M et al. Molecular cytogenetic aberrations in autosomal dominant polycystic kidney disease tissue. *J Am Soc Nephrol*, 2003 ; **14** : 359-366.
24. THOMSON RB, MENTONE S, KIM R et al. Histopathological analysis of renal cystic epithelia in the Pkd2WS25/- mouse model of ADPKD. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2003 ; **285** : F870-F880.
25. NISHIO S, HATANO M, NAGATA M et al. Pkd1 regulates immortalized proliferation of renal tubular epithelial cells through p53 induction and JNK activation. *J Clin Invest*, 2005 ; **115** : 910-918.
26. KOPTIDES M, MEAN R, DEMETRIOU K et al. Genetic evidence for a trans-heterozygous model for cystogenesis in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Hum Mol Genet*, 2000 ; **9** : 447-452.
27. WATNICK T, HE N, WANG K et al. Mutations of PKD1 in ADPKD2 cysts suggest a pathogenic effect of trans- heterozygous mutations. *Nat Genet*, 2000 ; **25** : 143-144.
28. PEI Y, PATERSON AD, WANG KR et al. Bilineal disease and trans-heterozygotes in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Hum Genet*, 2001 ; **68** : 355-363.
29. WU G, TIAN X, NISHIMURA S et al. Trans-heterozygous Pkd1 and Pkd2 mutations modify expression of polycystic kidney disease. *Hum Mol Genet*, 2002 ; **11** : 1845-1854.
30. BROOK-CARTER PT, PERAL B, WARD CJ et al. Deletion of the TSC2 and PKD1 genes associated with severe infantile polycystic kidney disease--a contiguous gene syndrome. *Nat Genet*, 1994 ; **8** : 328-332.
31. ONG AC, HARRIS PC, BIDDOLPH S et al. Characterisation and expression of the PKD-1 protein, polycystin, in renal and extrarenal tissues. *Kidney Int*, 1999 ; **55** : 2091-2116.
32. KLEYMENOVA E, IBRAGHIMOV-BESKROVNAYA O, KUGOH H et al. Tuberin-dependent membrane localization of polycystin-1 : a functional link between polycystic kidney disease and the TSC2 tumor suppressor gene. *Mol Cell*, 2001 ; **7** : 823-832.
33. QIAN Q, HUNTER LW, LI M et al. Pkd2 haploinsufficiency alters intracellular calcium regulation in vascular smooth muscle cells. *Hum Mol Genet*, 2003 ; **12** : 1875-1880.
34. WU G, MARKOWITZ GS, LI L et al. Cardiac defects and renal failure in mice with targeted mutations in Pkd2. *Nat Genet*, 2000 ; **24** : 75-78.
35. PRITCHARD L, SLOANE-STANLEY JA, SHARPE JA et al. A human PKD1 transgene generates functional polycystin-1 in mice and is associated with a cystic phenotype. *Hum Mol Genet*, 2000 ; **9** : 2617-2627.
36. LU W, SHEN X, PAVLOVA A et al. Comparison of Pkd1-targeted mutants reveals that loss of polycystin-1 causes cystogenesis and bone defects. *Hum Mol Genet*, 2001 ; **10** : 2385-2396.
37. QIAN F, GERMINO FJ, CAI Y et al. PKD1 interacts with PKD2 through a probable coiled-coil domain. *Nat Genet*, 1997 ; **16** : 179-183.
38. TSIOKAS L, KIM E, ARNOULD T et al. Homo- and heterodimeric interactions between the gene products of PKD1 and PKD2. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997 ; **94** : 6965-6970.
39. HANAOKA K, QIAN F, BOLETTA A et al. Co-assembly of polycystin-1 and -2 produces unique cation-permeable currents. *Nature*, 2000 ; **408** : 990-994.
40. CAI Y, MAEDA Y, CEDZICH A et al. Identification and characterization of polycystin-2, the PKD2 gene product. *J Biol Chem*, 1999 ; **274** : 28557-28565.
41. POLLACK L, ATKINSON PH. Correlation of glycosylation forms with position in amino acid sequence. *J Cell Biol*, 1983 ; **97** : 293-300.
42. GONZALEZ-PERRETT S, KIM K, IBARRA C et al. Polycystin-2, the protein mutated in autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD), is a Ca<sup>2+</sup>-permeable nonselective cation channel. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001 ; **98** : 1182-1187.
43. NAULI SM, ALENGHAT FJ, LUO Y et al. Polycystins 1 and 2 mediate mechanosensation in the primary cilium of kidney cells. *Nat Genet*, 2003 ; **33** : 129-137.
44. MA R, LI WP, RUNDLE D et al. PKD2 functions as an epidermal growth factor-activated plasma membrane channel. *Mol Cell Biol*, 2005 ; **25** : 8285-8298.
45. KOULEN P, CAI Y, GENG L et al. Polycystin-2 is an intracellular calcium release channel. *Nat Cell Biol*, 2002 ; **4** : 191-197.
46. PUTNEY JW, JR. « Kissin' cousins » : intimate plasma membrane-ER interactions underlie capacitative calcium entry. *Cell*, 1999 ; **99** : 5-8.
47. HIDAKA S, KONECKE V, OSTEN L et al. PIGEA-14, a Novel Coiled-coil Protein Affecting the Intracellular Distribution of Polycystin-2. *J Biol Chem*, 2004 ; **279** : 35009-35016.

48. PENNEKAMP P, KARCHER C, FISCHER A et al. The ion channel polycystin-2 is required for left-right axis determination in mice. *Curr Biol*, 2002 ; **12** : 938-943.
49. MCGRATH J, SOMLO S, MAKOVA S et al. Two populations of node monocilia initiate left-right asymmetry in the mouse. *Cell*, 2003 ; **114** : 61-73.
50. ONG AC, HARRIS PC. Molecular pathogenesis of ADPKD : The polycystin complex gets complex. *Kidney Int*, 2005 ; **67** : 1234-1247.
51. CHEN XZ, VASSILEV PM, BASORA N et al. Polycystin-L is a calcium-regulated cation channel permeable to calcium ions. *Nature*, 1999 ; **401** : 383-386.
52. IKEDA M, GUGGINO WB. Do polycystins function as cation channels ? *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2002 ; **11** : 539-545.
53. XU GM, GONZALEZ-PERRETT S, ESSAFI M et al. Polycystin-1 activates and stabilizes the polycystin-2 channel. *J Biol Chem*, 2003 ; **278** : 1457-1462.
54. DELMAS P, NAULI SM, LI X et al. Gating of the polycystin ion channel signaling complex in neurons and kidney cells. *Faseb J* 2004 ; **18** : 740-742.
55. VANDORPE DH, CHERNOVA MN, JIANG L et al. The cytoplasmic C-terminal fragment of polycystin-1 regulates a Ca<sup>2+</sup>-permeable cation channel. *J Biol Chem*, 2001 ; **276** : 4093-4101.
56. BABICH V, ZENG WZ, YEH BI et al. The N-terminal extracellular domain is required for polycystin-1-dependent channel activity. *J Biol Chem*, 2004 ; **279** : 25582-25589.
57. PRAETORIUS HA, SPRING KR. Bending the MDCK cell primary cilium increases intracellular calcium. *J Membr Biol*, 2001 ; **184** : 71-79.
58. LUBARSKY B, KRASNOW MA. Tube morphogenesis : making and shaping biological tubes. *Cell*, 2003 ; **112** : 19-28.
59. PARNELL SC, MAGENHEIMER BS, MASER RL et al. Polycystin-1 activation of c-Jun N-terminal kinase and AP-1 is mediated by heterotrimeric G proteins. *J Biol Chem*, 2002 ; **277** : 19566-19572.
60. ARNOULD T, KIM E, TSIOKAS L et al. The polycystic kidney disease 1 gene product mediates protein kinase C alpha-dependent and c-Jun N-terminal kinase-dependent activation of the transcription factor AP-1. *J Biol Chem*, 1998 ; **273** : 6013-6018.
61. ARNOULD T, SELLIN L, BENZING T et al. Cellular activation triggered by the autosomal dominant polycystic kidney disease gene product PKD2. *Mol Cell Biol*, 1999 ; **19** : 3423-3434.
62. DELMAS P, NOMURA H, LI X et al. Constitutive activation of G-proteins by polycystin-1 is antagonized by polycystin-2. *J Biol Chem*, 2002 ; **277** : 11276-11283.
63. KIM E, ARNOULD T, SELLIN L et al. Interaction between RGS7 and polycystin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999 ; **96** : 6371-6376.
64. SUTTERS M, YAMAGUCHI T, MASER RL et al. Polycystin-1 transforms the cAMP growth-responsive phenotype of M-1 cells. *Kidney Int*, 2001 ; **60** : 484-494.
65. YAMAGUCHI T, PELLING JC, RAMASWAMY NT et al. cAMP stimulates the in vitro proliferation of renal cyst epithelial cells by activating the extracellular signal-regulated kinase pathway. *Kidney Int*, 2000 ; **57** : 1460-1471.
66. YAMAGUCHI T, WALLACE DP, Magenheimer BS, Calcium restriction allows cAMP activation of the B-Raf/ERK pathway, switching cells to a cAMP-dependent growth-stimulated phenotype. *J Biol Chem*, 2004 ; **279** : 40419-40430.
67. YAMAGUCHI T, NAGAO S, WALLACE DP et al. Cyclic AMP activates B-Raf and ERK in cyst epithelial cells from autosomal-dominant polycystic kidneys. *Kidney Int*, 2003 ; **63** : 1983-1994.
68. BOLETTA A, QIAN F, ONUCHIC LF et al. Polycystin-1, the gene product of PKD1, induces resistance to apoptosis and spontaneous tubulogenesis in MDCK cells. *Mol Cell*, 2000 ; **6** : 1267-1273.
69. BHUNIA AK, PIONTEK K, BOLETTA A et al. PKD1 induces p21(waf1) and regulation of the cell cycle via direct activation of the JAK-STAT signaling pathway in a process requiring PKD2. *Cell*, 2002 ; **109** : 157-168.
70. IBRAGHIMOV-BESKROVNAYA O, BUKANOV NO, DONOHUE LC et al. Strong homophilic interactions of the Ig-like domains of polycystin-1, the protein product of an autosomal dominant polycystic kidney disease gene, PKD1. *Hum Mol Genet*, 2000 ; **9** : 1641-1649.
71. STREETS AJ, NEWBY LJ, O'HARE MJ et al. Functional analysis of PKD1 transgenic lines reveals a direct role for polycystin-1 in mediating cell-cell adhesion. *J Am Soc Nephrol* 2003 ; **14** : 1804-1815.

72. HUAN Y, VAN ADELSBERG J. Polycystin-1, the PKD1 gene product, is in a complex containing E-cadherin and the catenins. *J Clin Invest*, 1999 ; **104** : 1459-1468.
73. ROITBAK T, WARD CJ, HARRIS PC et al. A polycystin-1 multiprotein complex is disrupted in polycystic kidney disease cells. *Mol Biol Cell*, 2004 ; **15** : 1334-1346.
74. CHARRON AJ, NAKAMURA S, BACALLAO R et al. A. Compromised cytoarchitecture and polarized trafficking in autosomal dominant polycystic kidney disease cells. *J Cell Biol*, 2000 ; **149** : 111-124.
75. WILSON PD, GENG L, LI X et al. The PKD1 gene product, « polycystin-1, » is a tyrosine-phosphorylated protein that colocalizes with alpha2beta1-integrin in focal clusters in adherent renal epithelia. *Lab Invest*, 1999 ; **79** : 1311-1323.
76. NICKEL C, BENZING T, SELLIN L et al. The polycystin-1 C-terminal fragment triggers branching morphogenesis and migration of tubular kidney epithelial cells. *J Clin Invest*, 2002 ; **109** : 481-489.
77. BUKANOV ON, HUSSON H, DACKOWSKI WR et al. Functional polycystin-1 expression is developmentally regulated during epithelial morphogenesis in vitro : downregulation and loss of membrane localization during cystogenesis. *Hum Mol Genet*, 2002 ; **11** : 923-936.
78. JOLY D, MOREL V, HUMMEL A et al. Beta4 integrin and laminin 5 are aberrantly expressed in polycystic kidney disease : role in increased cell adhesion and migration. *Am J Pathol*, 2003 ; **163** : 1791-1800.
79. GENG L, BURROW CR, LI HP et al. Modification of the composition of polycystin-1 multiprotein complexes by calcium and tyrosine phosphorylation. *Biochim Biophys Acta*, 2000 ; **1535** : 21-35.
80. BARR MM, STERNBERG PW. A polycystic kidney-disease gene homologue required for male mating behaviour in *C. elegans*. *Nature*, 1999 ; 401 : 386-389.
81. WATNICK TJ, JIN Y, MATUNIS E et al. A flagellar polycystin-2 homologue required for male fertility in *Drosophila*. *Curr Biol*, 2003 ; **13** : 2179-2184.
82. MENERINK KJ, MOY GW, VACQUIER VD. SuREJ3, a polycystin-1 protein, is cleaved at the GPS domain and localizes to the acrosomal region of sea urchin sperm. *J Biol Chem*, 2002 ; **277** : 943-948.
83. HUGHES J, WARD CJ, ASPINWALL R et al. Identification of a human homologue of the sea urchin receptor for egg jelly : a polycystic kidney disease-like protein. *Hum Mol Genet*, 1999 ; **8** : 543-549.
84. TORRES VE, WANG X, QIAN Q et al. 2nd. Effective treatment of an orthologous model of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nat Med*, 2004 ; **10** : 363-364.