

RÉABSORPTION RÉNALE TUBULAIRE DE L'ALBUMINE EN PHYSIOLOGIE ET EN PATHOLOGIE

par

E. I. CHRISTENSEN*

L'albumine a été l'une des protéines les plus étudiées dans le cadre de la fonction rénale en physiologie et en pathologie (pour des revues plus en détail, voir [1, 2]). C'est une protéine plasmatique, anionique, pesant 65 kDa, qui transporte diverses substances dans la circulation, notamment des acides gras, la bilirubine, des ions, les médicaments ainsi que plusieurs vitamines. Elle est responsable de 70 à 80 p. 100 de la pression oncotique plasmatique. De manière générale, on considère qu'elle n'est que faiblement filtrée par le glomérule rénal. De plus, l'albuminurie est utilisée comme un indicateur de lésions glomérulaires. Les faibles quantités filtrées sont normalement réabsorbées par le tubule proximal par un mécanisme d'endocytose médiée par un récepteur que nous décrivons plus en détails un peu plus tard. Étant donné que l'urine humaine contient normalement de très faibles quantités d'albumine et de protéines, le processus de réabsorption doit être très efficace pour les petites et les grosses protéines filtrées par le glomérule. L'albuminurie et la protéinurie sont donc en général dépendantes à la fois de la filtration glomérulaire et de la réabsorption tubulaire proximale. Il s'avère que l'albuminurie est importante dans le cadre de la progression de la maladie rénale, et la protection rénale à l'aide de traitement antiprotéïnurique est bien établie [3]. De même, il a été démontré qu'une albuminurie excessive chez les rats et les souris provoque une inflammation et une fibrose interstitielle rénales [4, 5].

* Département de Biologie cellulaire, Institut d'Anatomie, Université d'Aarhus, DK-8000, Aarhus C, Danemark.

FILTRATION GLOMÉRULAIRE

La clairance glomérulaire fractionnelle (coefficient de filtration) de l'albumine a été déterminée chez l'homme, le rat et la souris par un ensemble de techniques, le positionnant dans la fourchette d'environ $0,8 \times 10^{-4}$ à environ 7×10^{-4} [6-11]. Ainsi, de nombreux résultats convergeant déterminent que le coefficient de filtration glomérulaire de l'albumine est bien inférieur à 0,001. Ceci contraste avec le coefficient de filtration glomérulaire de 0,04 récemment rapporté par Russo et al. [12].

Les principales conclusions présentées par Russo et al. reposaient sur une nouvelle technique de microscopie biphotonique quantitative intravitale, et sont très différentes des observations précédentes établies par microponction et autres techniques. Dans un commentaire de l'article de Russo et al., Gekle [13] a exprimé plusieurs inquiétudes importantes, notamment le faible signal observé avec l'albumine fluorescente, qui pourrait conduire à de fausses interprétations. Les calculs de Gekle [13] montrent que la filtration de l'albumine et la réabsorption tubulaire estimées correspondraient, pour un rein humain, à une filtration glomérulaire d'environ 225 g d'albumine par 24 heures, ce qui pourrait être comparé à la quantité totale d'albumine plasmatique qui est d'environ 125 g. Ceci impliquerait que de très grandes quantités d'albumine (environ 200 p. 100 de l'albumine plasmatique totale) sont transportées intactes au travers de l'épithélium tubulaire proximal.

Si une filtration d'albumine aussi abondante était un phénomène physiologique, cela changerait radicalement la manière dont nous considérons l'albuminurie abondante et le syndrome néphrotique. Ceux-ci ne seraient plus liés à des problèmes d'origine glomérulaire, mais bien à des problèmes d'origine tubulaire. Ainsi, ces discordances quant à la quantité d'albumine filtrée posent un problème important qui concerne aussi bien la physiologie rénale que la compréhension et le traitement de la maladie rénale.

RÉABSORPTION TUBULAIRE DE L'ALBUMINE

Deux récepteurs, la mégaline et la cubiline, semblent jouer un rôle dans l'absorption par récepteur de l'albumine et d'autres protéines par le tubule proximal [14-16].

Mégaline

La mégaline, également connue sous le nom de gp330 ou lrp2, est un récepteur transmembranaire pesant 600 kDa (517 kDa non glycosylée). Elle a été identifiée pour la première fois comme étant l'antigène cible de la néphrite de Heymann [17, 18]. Le récepteur d'endocytose multifonctionnel appartient à la famille des récepteurs de lipoprotéines à faible densité (LDL) [19]. Le gène humain de la mégaline se trouve sur le chromosome 2q24-q31. La mégaline se caractérise par un grand domaine extracellulaire comprenant quatre *clusters* de motifs riches en cystéine, se liant à des ligands de type complément, un seul domaine transmembranaire et une courte queue cytoplasmique [20, 21]. La

queue carboxy-terminale cytoplasmique contient deux motifs NPXY et un motif NQNY (motif NPXY *like*). Les deux motifs NPXY assurent le *clustering* dans les puits à clathrine, provoquant ainsi l'endocytose, et le motif NPXY *like* est impliqué dans la localisation apicale du récepteur [22].

De manière générale, la mégaline est présente dans les membranes apicales et dans l'appareil d'endocytose de nombreux tissus, et de ce fait n'est pas en contact avec la circulation. Les ligands de la mégaline sont nombreux et comprennent l'albumine, les protéines se liant aux vitamines, les enzymes et les inhibiteurs enzymatiques, les hormones, les médicaments et les toxines, les lipoprotéines, le calcium, l'hémoglobine, la myoglobine et les protéines associées aux récepteurs (RAP) [23]. L'importance de la réabsorption par la mégaline dans le tubule proximal rénal peut être démontré chez la souris déficiente en mégaline en étudiant par exemple la protéine liant le ligand de vitamine D. Le fait que ces souris ne peuvent pas réabsorber et donc métaboliser la vitamine D filtrée entraîne un déficit en vitamine D et donc une atteinte osseuse [24].

Cubiline

La cubiline est une protéine de la membrane périphérique pesant 460 kDa (400 kDa non glycosylée) identique au récepteur du complexe facteur intrinsèque-vitamine B12 de l'intestin grêle. Son ADNc complet a été déterminé chez le rat [25], l'homme [26] et le chien [27]. Le gène humain se trouve sur le chromosome 10p12.33-p13. La majorité de la protéine se compose de domaines appelés CUB. Ces domaines de 120 acides aminés se liant au ligand ont des analogies avec la molécule du Complément C1r/C1s, le facteur Uegf (facteur de croissance épidermique lié à la protéine de l'oursin), et la protéine-1 morphogénique de l'os (BMP1), d'où le nom de cubiline. Cette accumulation de domaines CUB indique que la cubiline peut interagir avec un grand nombre de ligands. Il a été démontré que les modules 5-8 et 13-14 contenant des domaines CUB sont des sites de liaison pour le facteur intrinsèque de la vitamine B12 et la protéine associée au récepteur (RAP), respectivement [28]. La cubiline a un domaine N-terminal de 110 acides aminés [25] impliqué dans l'interaction avec la membrane [28]. Cette interaction pourrait aussi impliquer une hélice amphipathique hypothétique, ainsi qu'une palmytation.

Les données biochimiques et immunomorphologiques suggèrent que l'internalisation de la cubiline est, au moins en partie, médiée par la mégaline [25, 29], probablement après liaison de la mégaline à la cubiline au niveau du domaine N-terminal qui comprend les domaines CUB 1 et 2 [30]. Plusieurs autres découvertes ont appuyé ce concept. De ce fait, les études d'absorption *in vitro* des ligands de la cubiline et de l'apolipoprotéine A-I (apo A-I)/lipoprotéines de haute densité (HDL) ont montré que l'absorption était inhibée par la présence d'anticorps anti-mégaline [29, 31] ainsi que par les oligonucléotides anti-sens de la mégaline [32]. De plus, chez la souris déficiente en mégaline, la transferrine s'accumule sur la surface apicale des cellules du tubule proximal sans être internalisée [29]. Plus tard, l'interaction entre la cubiline et l'amnionless (AMN), voir détail ci-dessous, a été découverte, et étant donné que le complexe cubiline-AMN est internalisé par les cellules déficientes en mégaline [33], il se peut que la cubiline ait d'autres partenaires d'interaction afin de faciliter son internalisation.

Les ligands de la cubiline incluent l'albumine, le facteur intrinsèque de la vitamine B12, la transferrine, l'apolipoprotéine A1 et la protéine de liaison de la vitamine D (voir [23] pour une liste plus exhaustive).

EXPRESSION DES RÉCEPTEURS

Les deux récepteurs sont très exprimés et se trouvent à la fois dans la bordure en brosse du tubule proximal du rein et dans l'appareil d'endocytose luminal (revu en [34]). La mégaline a également été identifiée dans les podocytes glomérulaires des rats Lewis [18]. Les deux récepteurs se trouvent également à la fois dans plusieurs tissus extrarénaux, notamment dans les épithéliums absorbateurs tels que le sac viscéral [35], l'épithélium de l'intestin grêle [36, 37], et le placenta [32, 38, 39]. De plus, la mégaline s'exprime dans beaucoup d'autres tissus [38] (revu en [40]).

L'expression normale de la mégaline dépend de la protéine associée au récepteur (RAP) [41]. La molécule RAP sert de molécule chaperonne, elle prévient la liaison précoce des ligands au récepteur nouvellement synthétisé et pourrait aussi être impliquée dans le repliement du récepteur [42-46]. La RAP se lie aussi à la cubiline [28, 36] bien que son rôle dans le processing post-translational de ce récepteur est encore inconnu. L'expression normale de la cubiline dépend de l'amnionless (AMN), une protéine transmembranaire pesant 45 kDa, identifiée comme étant un facteur important pour le développement normal de la portion médiane de la ligne primitive chez la souris [47]. L'AMN est co-localisée avec la cubiline dans le tubule proximal du rein [33], elle interagit avec les répétitions de type EGF de la cubiline, et est essentielle pour la translocation normale du complexe cubiline-AMN du réticulum endoplasmique le ER à la membrane plasmique et pour les endocytoses ultérieures [33, 48].

TRANSPORT TRANSTUBULAIRE DE L'ALBUMINE

Grâce à une série une série d'expériences avec des tubules proximaux perfusés isolés, nous avons fait la démonstration que le transport transtubulaire d'une protéine intacte est négligeable : ceci est vrai pour la ferritine [49], le lysozyme [50], et l'insuline [51].

À l'aide d'études immunohistochimiques chez le rat, Russo et al. ont proposé que les grandes quantités d'albumine ultrafiltrées (environ 225 g d'albumine par 24 heures dans un rein humain) étaient réabsorbées et se retrouvaient intactes dans la circulation [12]. Comme cela est discuté dans notre commentaire de leur article [11], nous n'avons jamais vu d'images suggérant une transcytose de l'albumine endogène chez le rat dans des tissus rénaux fixés de manière adaptée. De plus, la mesure de l'excrétion d'albumine urinaire, nous a permis d'établir un coefficient de tamisage de l'albumine de $1,6 \times 10^{-4}$ chez la souris déficiente en mégaline, [11] et le fait que nous n'avons jamais vu d'absorption d'albumine dans les tubules proximaux

de ces souris [16] sont des arguments incompatibles avec un coefficient de filtration élevé ($3,4 \times 10^{-2}$) ainsi qu'avec la proposition d'une transcytose de l'albumine [12].

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

En résumé, il semble que physiologiquement, seule une petite quantité d'albumine est filtrée par le glomérule. Au contraire, dans plusieurs situations pathologiques, lorsque le filtre glomérulaire est lésé, les reins commencent à excréter de l'albumine dans les urines dès que la capacité de réabsorption du tubule proximal a été dépassée. Le fait que la progression de la maladie rénale et de la fibrose interstitielle soit 1) la conséquence de la réabsorption excessive de protéines filtrées, 2) la conséquence plus directe de lésions du glomérule ou 3) une combinaison des deux reste à déterminer.

BIBLIOGRAPHIE

1. GEKLE M. Renal tubule albumin transport. *Annu Rev Physiol*, 2005 ; **67** : 573-594.
2. BIRN H, CHRISTENSEN EI. Renal albumin absorption in physiology and pathology. *Kidney Int*, 2006 ; **69** : 440-449.
3. CHIURCHIU C, REMUZZI G, RUGGENENTI P. Angiotensin-converting enzyme inhibition and renal protection in nondiabetic patients : the data of the meta-analyses. *J Am Soc Nephrol*, 2005 ; **16** : S58-S63.
4. EDDY AA, GIACHELLI CM. Renal expression of genes that promote interstitial inflammation and fibrosis in rats with protein-overload proteinuria. *Kidney Int*, 1995 ; **47** : 1546-1557.
5. EDDY AA, KIM H, LOPEZ-GUISA J et al. Interstitial fibrosis in mice with overload proteinuria : deficiency of TIMP-1 is not protective. *Kidney Int*, 2000 ; **58** : 618-628.
6. NORDEN AG, LAPSLEY M, LEE PJ et al. Glomerular protein sieving and implications for renal failure in Fanconi syndrome. *Kidney Int*, 2001 ; **60** : 1885-1892.
7. TENCER J, FRICK IM, OQUIST BW et al. Size-selectivity of the glomerular barrier to high molecular weight proteins : upper size limitations of shunt pathways. *Kidney Int*, 1998 ; **53** : 709-715.
8. TOJO A, ENDOU H. Intrarenal handling of proteins in rats using fractional micropuncture technique. *Am J Physiol*, 1992 ; **263** : F601-F606.
9. LUND U, RIPPE A, VENTUROLI D et al. Glomerular filtration rate dependence of sieving of albumin and some neutral proteins in rat kidneys. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2003 ; **284** : F1226-F1234.
10. HARALDSSON B, SORENSSON J. Why do we not all have proteinuria ? An update of our current understanding of the glomerular barrier. *News Physiol Sci*, 2004 ; **19** : 7-10.
11. CHRISTENSEN EI, BIRN H, RIPPE B et al. Controversies in nephrology : renal albumin handling, facts, and artifacts ! *Kidney Int*, 2007 ; **72** : 1192-1194.
12. RUSSO LM, SANDOVAL RM, MCKEE M et al. The normal kidney filters nephrotic levels of albumin retrieved by proximal tubule cells : retrieval is disrupted in nephrotic states. *Kidney Int*, 2007 ; **71** : 504-513.
13. GEKLE M. Renal albumin handling : a look at the dark side of the filter. *Kidney Int*, 2007 ; **71** : 479-481.
14. CUI S, VERRROUST PJ, MOESTRUP SK et al. Megalin/gp330 mediates uptake of albumin in renal proximal tubule. *Am J Physiol*, 1996 ; **271** : F900-F907.

15. ZHAI XY, NIELSEN R, BIRN H et al. Cubilin- and megalin-mediated uptake of albumin in cultured proximal tubule cells of opossum kidney. *Kidney Int*, 2000 ; **58** : 1523-1533.
16. BIRN H, FYFE JC, JACOBSEN C et al. Cubilin is an albumin binding protein important for renal tubular albumin reabsorption. *J Clin Invest*, 2000 ; **105** : 1353-1361.
17. KERJASCHKI D, FARQUHAR MG. The pathogenic antigen of Heymann nephritis is a membrane glycoprotein of the renal proximal tubule brush border. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1982 ; **79** : 5557-5561.
18. KERJASCHKI D, FARQUHAR MG. Immunocytochemical localization of the Heymann nephritis antigen (GP330) in glomerular epithelial cells of normal Lewis rats. *J Exp Med*, 1983 ; **157** : 667-686.
19. RAYCHOWDHURY R, NILES JL, McCLUSKEY RT et al. Autoimmune target in Heymann nephritis is a glycoprotein with homology to the LDL receptor. *Science*, 1989 ; **244** : 1163-1165.
20. SAITO A, PIETROMONACO S, LOO AK et al. Complete cloning and sequencing of rat gp330/« megalin, » a distinctive member of the low density lipoprotein receptor gene family. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994 ; **91** : 9725-9729.
21. HJÄLM G, MURRAY E, CRUMLEY G et al. Cloning and sequencing of human gp330, a Ca(2+)-binding receptor with potential intracellular signaling properties. *Eur J Biochem*, 1996 ; **239** : 132-137.
22. TAKEDA T, YAMAZAKI H, FARQUHAR MG. Identification of an apical sorting determinant in the cytoplasmic tail of megalin. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2003 ; **284** : C1105-C1113.
23. CHRISTENSEN EI, NIELSEN R. Role of megalin and cubilin in renal physiology and pathophysiology. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 2007 ; **158** : 1-22.
24. NYKJÆR A, DRAGUN D, WALTHER D et al. An endocytic pathway essential for renal uptake and activation of the steroid 25-(OH) vitamin D3. *Cell*, 1999 ; **96** : 507-515.
25. MOESTRUP SK, KOZYRAKI R, KRISTIANSEN M et al. The intrinsic factor-vitamin B12 receptor and target of teratogenic antibodies is a megalin-binding peripheral membrane protein with homology to developmental proteins. *J Biol Chem*, 1998 ; **273** : 5235-5242.
26. KOZYRAKI R, Kristiansen M, SILAHTAROGLU A et al. The human intrinsic factor-vitamin B12 receptor, cubilin : molecular characterization and chromosomal mapping of the gene to 10p within the autosomal recessive megaloblastic anemia (MGA1) region. *Blood*, 1998 ; **91** : 3593-3600.
27. XU D, KOZYRAKI R, NEWMAN TC et al. Genetic evidence of an accessory activity required specifically for cubilin brush-border expression and intrinsic factor-cobalamin absorption. *Blood*, 1999 ; **94** : 3604-3606.
28. KRISTIANSEN M, KOZYRAKI R, JACOBSEN C et al. Molecular dissection of the intrinsic factor-vitamin B12 receptor, cubilin, discloses regions important for membrane association and ligand binding. *J Biol Chem*, 1999 ; **274** : 20540-20544.
29. KOZYRAKI R, FYFE J, VERRONST PJ et al. Megalin-dependent cubilin-mediated endocytosis is a major pathway for the apical uptake of transferrin in polarized epithelia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001 ; **98** : 12491-12496.
30. YAMMANI RR, SEETHARAM S, SEETHARAM B. Cubilin and megalin expression and their interaction in the rat intestine : effect of thyroidectomy. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001 ; **281** : E900-E907.
31. KOZYRAKI R, FYFE J, KRISTIANSEN M et al. The intrinsic factor-vitamin B12 receptor, cubilin, is a high-affinity apolipoprotein A-I receptor facilitating endocytosis of high-density lipoprotein. *Nat Med*, 1999 ; **5** : 656-661.
32. HAMDAD SM, BARTH JL, KNAACK C et al. Megalin acts in concert with cubilin to mediate endocytosis of high density lipoproteins. *J Biol Chem*, 2000 ; **275** : 12003-12008.
33. FYFE JC, MADSEN M, HOJRUP P et al. The functional cobalamin (vitamin B12)-intrinsic factor receptor is a novel complex of cubilin and amnionless. *Blood*, 2004 ; **103** : 1573-1579.
34. CHRISTENSEN EI, BIRN H. Megalin and cubilin : multifunctional endocytic receptors. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002 ; **3** : 256-266.
35. SAHALI D, MULLIEZ N, CHATELET F et al. Characterization of a 280-kD protein restricted to the coated pits of the renal brush border and the epithelial cells of the yolk sac. Teratogenic effect of the specific monoclonal antibodies. *J Exp Med*, 1988 ; **167** : 213-218.
36. BIRN H, VERRONST PJ, NEXØ E et al. Characterization of an epithelial approximately 460-kDa protein that facilitates endocytosis of intrinsic factor-vitamin B12 and binds receptor-associated protein. *J Biol Chem*, 1997 ; **272** : 26497-26504.

37. LEVINE JS, ALLEN RH, ALPERS DH et al. Immunocytochemical localization of the intrinsic factor-cobalamin receptor in dog-ileum : distribution of intracellular receptor during cell maturation. *J Cell Biol*, 1984 ; **98** : 1111-1118.
38. ZHENG G, BACHINSKY DR, STAMENKOVIC I et al. Organ distribution in rats of two members of the low-density lipoprotein receptor gene family, gp330 and LRP/alpha 2MR, and the receptor-associated protein (RAP). *J Histochem Cytochem*, 1994 ; **42** : 531-542.
39. LUNDGREN S, CARLING T, HJÄLM G et al. Tissue distribution of human gp330/megalín, a putative Ca(2+)-sensing protein. *J Histochem Cytochem*, 1997 ; **45** : 383-392.
40. CHRISTENSEN EI, BIRN H, VERRAUST P et al. Membrane receptors for endocytosis in the renal proximal tubule. *Int Rev Cytol*, 1998 ; **180** : 237-284.
41. BIRN H, VORUM H, VERRAUST PJ et al. Receptor-associated protein is important for normal processing of megalín in kidney proximal tubules. *J Am Soc Nephrol*, 2000 ; **11** : 191-202.
42. BU G, GEUZE HJ, STROUS GJ et al. 39 kDa receptor-associated protein is an ER resident protein and molecular chaperone for LDL receptor-related protein. *EMBO J*, 1995 ; **14** : 2269-2280.
43. BU G, RENNKE S. Receptor-associated protein is a folding chaperone for low density lipoprotein receptor-related protein. *J Biol Chem*, 1996 ; **271** : 22218-22224.
44. WILLNOW TE, ARMSTRONG SA, HAMMER RE et al. Functional expression of low density lipoprotein receptor-related protein is controlled by receptor-associated protein in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995 ; **92** : 4537-4541.
45. WILLNOW TE, ROHLMANN A, HORTON J et al. RAP, a specialized chaperone, prevents ligand-induced ER retention and degradation of LDL receptor-related endocytic receptors. *EMBO J*, 1996 ; **15** : 2632-2639.
46. WILLNOW TE : Receptor-associated protein (RAP) : a specialized chaperone for endocytic receptors. *Biol Chem* 1998 ; **379** : 1025-1031.
47. KALANTRY S, MANNING S, HAUB O et al. The amnionless gene, essential for mouse gastrulation, encodes a visceral-endoderm-specific protein with an extracellular cysteine-rich domain. *Nat Genet*, 2001 ; **27** : 412-416.
48. COUDROY G, GBUREK J, KOZYRAKI R et al. Contribution of cubilin and amnionless to processing and membrane targeting of cubilin-amnionless complex. *J Am Soc Nephrol*, 2005 ; **16** : 2330-2337.
49. NIELSEN JT, NIELSEN S, CHRISTENSEN EI. Transtubular transport of proteins in rabbit proximal tubules. *J Ultrastruct Res*, 1985 ; **92** : 133-145.
50. NIELSEN JT, NIELSEN S, CHRISTENSEN EI. Handling of lysozyme in isolated, perfused proximal tubules. *Am J Physiol* ; 1986, **251** : F822-F830.
51. NIELSEN S, NIELSEN JT, CHRISTENSEN EI. Luminal and basolateral uptake of insulin in isolated, perfused proximal tubules. *Am J Physiol*, 1987 ; **253** : F857-F867.