

# Aspects moléculaires de l'homéostasie du phosphate chez les mammifères

L. Beck<sup>1</sup> et C. Silve<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>INSERM U 426 et Institut fédératif de recherche « Cellules épithéliales », Faculté de médecine Xavier Bichat, Paris;

<sup>2</sup>Service des explorations fonctionnelles, Hôpital Bichat, Assistance publique – Hôpitaux de Paris, Paris

## Résumé • Summary

L'homéostasie du phosphate est déterminée en majorité par les mécanismes rénaux de la réabsorption rénale de phosphate, eux-mêmes dépendants des apports à l'organisme et de multiples facteurs hormonaux. L'identification des co-transporteurs sodium-phosphate présents dans le rein, l'intestin et l'os au cours de ces dernières années, ainsi que les données récentes concernant les mécanismes moléculaires impliqués dans quelques hypophosphatémies héréditaires, permettent de mettre en place de nouvelles voies de régulation de la réabsorption de phosphate. Cette revue décrit les acteurs moléculaires impliqués dans ces mécanismes, résume les données concernant le transport de phosphate dans le rein, l'intestin et l'os, et décrit les données récentes concernant la pathogenèse des trois hypophosphatémies héréditaires les plus couramment rencontrées en clinique.

Mots clés: Phosphate – Homéostasie – Hypophosphatémie – Npt2 – PHEX – FGF23.

Renal phosphate reabsorption, the major determinant of phosphate homeostasis, is primarily dependent on dietary phosphate content and multiple hormonal factors. Over the last few years, the identification of sodium-dependent phosphate transporters in kidney, intestine and bone, as well as new insights into the molecular mechanisms involved in several hereditary hypophosphatemias, allow to set up novel phosphate reabsorption regulatory pathways. This review describes molecular players involved in these mechanisms, summarizes phosphate transport data in kidney, intestine and bone, and describes recent findings concerning the three most common hereditary hypophosphatemias.

Key words: Phosphate – Homeostasis – Hypophosphatemia – Npt2 – PHEX – FGF23.

### ● Abréviations

PHEX: Phosphate regulating gene with homologies to endo-peptidases, on the X chromosome

PDZ: postsynaptic density protein PSD95/*Drosophila* tumor repressor dlg-A/tight junction protein ZO-1

EAAT3: excitatory amino-acid transporter 3

SGLT1: sodium/glucose transporter 1

NEP: neutral endopeptidase

ECE1: endothelin converting enzyme 1

## ■ Introduction

Le phosphate inorganique tient un rôle essentiel dans le métabolisme cellulaire et la minéralisation osseuse. Le bilan du phosphate de l'organisme repose sur l'équilibre entre le régime alimentaire, l'absorption intestinale, la réabsorption rénale et le stockage osseux sous forme d'hydroxyapatite. La concentration sérique de phosphate est maintenue par un processus complexe et encore mal connu, mais il est clair que les mécanismes rénaux de réabsorption constituent le déterminant majeur contrôlant l'homéostasie du phosphate. L'essentiel de la réabsorption tubulaire de phosphate a lieu dans le tubule proximal (environ 70 à 80%) où le transport de phosphate, couplé à celui du sodium, constitue à la fois l'étape limitante de l'ensemble du processus

de réabsorption de phosphate et le site majeur de sa régulation.<sup>1</sup> Les principaux modulateurs de la réabsorption rénale de phosphate sont l'apport alimentaire en phosphate et l'hormone parathyroïdienne (PTH). L'identification des co-transporteurs sodium-phosphate ( $\text{Na}^+\text{-PO}_4$ ) présents dans le rein, l'intestin et l'os au cours des dernières années a constitué une avancée majeure dans la compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans le maintien de l'homéostasie du phosphate. Ces transporteurs  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  se divisent essentiellement en quatre types hétérogènes régulés de façon différente et dont l'implication dans le bilan du phosphate apparaît inégale.

Cette revue a pour but de présenter dans un premier temps les différents types de transporteurs  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  clonés et de leur modulateurs, d'évaluer leurs rôles respectifs dans l'homéostasie

du phosphate, et enfin de résumer brièvement l'apport des données récentes provenant de l'étude des hypophosphatémies héréditaires à la compréhension du contrôle de l'homéostasie du phosphate.

## ■ Variété moléculaire des co-transporteurs $\text{Na}^+\text{-PO}_4$

### ● Co-transporteurs $\text{Na}^+\text{-PO}_4$ de type I

Le clonage du tout premier ADNc codant pour un co-transporteur  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  ne fut achevé qu'en 1991 par l'équipe de Murer en utilisant le clonage d'expression dans les œufs de Xénope.<sup>2</sup> Ce premier ADNc, cloné à partir d'ARNm de rein de lapin, a été appelé NaPi-1. Depuis, les homologues de NaPi-1 chez l'homme, la souris et rat ont été isolés et constituent la famille de co-transporteurs  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  de type I, ou Npt1 (Tableau I). Npt1 code pour une protéine de 465 acides aminés comportant sept à neuf segments transmembranaires et induisant une activité de co-transport  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  lorsqu'elle est exprimée dans les œufs de

Xénope.<sup>2</sup> Le gène Npt1 est localisé sur le chromosome 6p22 chez l'homme, et sa région promotrice a été clonée et caractérisée chez l'homme.<sup>3</sup> Le transporteur Npt1 est exprimé principalement dans le rein, mais aussi dans le foie et le cerveau. Il a été localisé par immunohistochimie et in situ RT-PCR sur la membrane des bordures en brosse dans les trois segments du tubule proximal.<sup>4,5</sup> Chez l'homme, des gènes nommés NPT3 et NPT4 et identifiés dans le cadre du séquençage du génome humain, présentent des homologues fortes avec Npt1, et seraient probablement des pseudogènes. La caractérisation de ces molécules et de leur fonction n'a pas été entreprise.

La caractérisation fonctionnelle de Npt1 (lapin et homme) a conduit à des données inattendues et controversées. L'injection d'ARNc Npt1 dans les œufs de Xénope induit une activité de co-transport  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  électrogénique.<sup>6</sup> Toutefois, cette activité n'est pas corrélée de façon linéaire à la quantité d'ARNc injecté ni à la durée d'incubation.<sup>2,7</sup> De plus, il a été montré par électrophysiologie que Npt1 induisait une conductance au chlore inhibée par des inhibiteurs de canal chlore ou des anions organiques.<sup>6</sup> Npt1 est également capable de transporter des drogues anioniques comme la benzylpénicilline.<sup>8</sup> Il a donc été proposé que Npt1 ne fonctionne pas seulement en tant que co-transporteur  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$ ,

Tableau I : Variété moléculaire des co-transporteurs  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$ .

| Type        | Affinité pour Pi | Chromosome (homme) | Nom       | Espèce    | Expression tissulaire principale | ADNc (nucl.) | Protéine (aa) | Accession GenBank |  |
|-------------|------------------|--------------------|-----------|-----------|----------------------------------|--------------|---------------|-------------------|--|
| I           | 0,29 mM          | 6p22               | NPT1      | homme     | rein, foie                       | 1549         | 467           | X71355            |  |
|             |                  |                    | NPT1      | homme     | rein, foie                       | 1794         | 465           | D28532            |  |
|             |                  |                    | Npt1      | souris    | rein, foie                       | 1885         | 465           | X77241            |  |
|             |                  |                    | NaPi1     | rat       | rein, foie                       | 1700         | 465           | U28504            |  |
|             |                  |                    | NaPi-1    | lapin     | rein, foie                       | 1855         | 465           | M76466            |  |
| IIa         | 0,1 mM           | 5q35               | NaPi-2    | rat       | rein                             | 2440         | 637           | L13257            |  |
|             |                  |                    | NaPi-3    | homme     | rein                             | 2554         | 639           | L13258            |  |
|             |                  |                    | NaPi-4    | opossum   | rein                             | 2528         | 653           | L26308            |  |
|             |                  |                    | NaPi-6    | lapin     | rein                             | 2501         | 642           | U20793            |  |
|             |                  |                    | NaPi-7    | souris    | rein                             | 2423         | 637           | U22465            |  |
|             |                  |                    | NaPi-8    | mouton    | rein                             | 2452         | 639           | AJ001385          |  |
|             |                  |                    | NaPi-II   | bœuf      | rein                             | 722          | 232           | AJ224334          |  |
|             |                  |                    | (partiel) | (partiel) |                                  |              |               |                   |  |
| IIb         | 0,05 mM          | 4p15               | Npt2b     | souris    | intestin, poumon                 | 4039         | 697           | AF081499          |  |
|             |                  |                    | NAPI-3B   | homme     | intestin, poumon                 | 2280         | 690           | AF111856          |  |
|             |                  |                    | NaPi-IIb  | homme     | intestin, poumon                 | 4135         | 689           | AF146796          |  |
|             |                  |                    | NaPi-5    | flet      | intestin, rein                   | 2392         | 636           | U13963            |  |
|             |                  |                    | NBL-1     | bœuf      | intestin, rein                   | 2266         | 693           | X81699            |  |
|             |                  |                    | x-NaPi-A  | Xénope    | intestin                         | 2186         | 674           | L78835            |  |
|             |                  |                    | x-NaPi-B  | Xénope    | intestin                         | 4660         | 674           | L78836            |  |
|             |                  |                    | NaPi-II   | Zebrafish | intestin, rein                   | 2607         | 631           | AF121796          |  |
| III (PiT-1) | 0,025 mM         | 2q13               | GLVr1     | homme     | ubiquitaire                      | 3220         | 679           | L20859            |  |
|             |                  |                    | Glv1      | souris    | ubiquitaire                      | 3227         | 681           | M73696            |  |
|             |                  |                    | Glv1      | hamster   | ubiquitaire                      | 2040         | 679           | U13946            |  |
|             |                  |                    | RPHO-1    | Rat       | ubiquitaire                      | 2890         | 681           | AB000489          |  |
|             |                  |                    | Pit1      | chat      | ubiquitaire                      | 2128         | 681           | AF074085          |  |
| III (PiT-2) | 0,025 mM         | 8p11               | Ram1      | hamster   | ubiquitaire                      | 1959         | 652           | U13945            |  |
|             |                  |                    | Ram1      | rat       | ubiquitaire                      | 2287         | 656           | L19931            |  |
|             |                  |                    | GLVR2     | homme     | ubiquitaire                      | 3175         | 652           | L20852            |  |
|             |                  |                    | MolPiT2a  | souris    | ubiquitaire                      | 717          | 239           | U62559            |  |
|             |                  |                    | (partiel) | (partiel) |                                  |              |               |                   |  |
|             |                  |                    | MolPiT2b  | souris    | ubiquitaire                      | 571          | 190           | U62560            |  |
| (partiel)   | (partiel)        |                    |           |           |                                  |              |               |                   |  |
| IV          |                  | 19q13              | BNPI      | rat       | cerveau                          | 2024         | 560           | U07609            |  |
|             |                  |                    | hBNPI     | homme     | cerveau                          | 2366         | 560           | AB032436          |  |
|             |                  |                    | DNPI      | homme     | cerveau                          | 3946         | 582           | AB032435          |  |

mais aussi comme canal chlore et transporteur de xénobiotiques. Broer et coll. ont suggéré que Npt1 ne serait pas un transporteur de phosphate lui-même, mais pourrait fonctionner comme modulateur d'un transporteur de phosphate endogène à l'œuf de Xénope.<sup>7</sup> Quoi qu'il en soit, ces données n'excluent pas formellement que Npt1 soit un transporteur de phosphate, mais indiquent que la fonction physiologique réelle de Npt1 n'est pas évidente. Une protéine bi-fonctionnelle transportant à la fois du phosphate et du chlore est envisageable, à l'image de SGLT1 transportant à la fois le glucose et l'eau, ou comme EAAT3 transportant le glutamate et exhibant une conductance au chlore. D'autre part, il est intéressant de noter l'existence d'un motif protéique T/H-TRL dans la partie C-terminale de Npt1, capable de se lier aux domaines PDZ présents dans certaines protéines et impliqués dans l'agrégation de protéines membranaires.<sup>9</sup> Il est donc tentant d'envisager l'existence d'interactions protéiques entre Npt1 et d'autres protéines membranaires, rendant ainsi compte d'activités multiples de transport associées à Npt1.

### ● Co-transporteurs Na<sup>+</sup>-PO<sub>4</sub> de type II

Peu de temps après le clonage du transporteur Npt1, il devint clair que les caractéristiques fonctionnelles et physiologiques de cette protéine ne correspondaient pas à celles connues de l'activité de co-transport Na<sup>+</sup>-PO<sub>4</sub> rénal. En particulier, l'activité de Npt1 n'était pas régulée par le régime en phosphate ou la PTH. Le criblage par expression fonctionnelle dans les œufs de Xénope fut repris par l'équipe de Murer, et deux ans plus tard deux ADNc correspondant à un deuxième type de co-transporteurs Na<sup>+</sup>-PO<sub>4</sub>, furent isolés chez le rat et l'homme.<sup>10</sup> Ces ADNc, respectivement appelés NaPi-2 et NaPi-3, appartiennent au type II de co-transporteurs Na<sup>+</sup>-PO<sub>4</sub>, dénommé aussi Npt2 (Tableau I). Les propriétés de transport de ces protéines reproduisent les caractéristiques de la réabsorption rénale de phosphate, en particulier la sensibilité au pH, la régulation par la PTH et la disponibilité au phosphate. Plus récemment un autre co-transporteur Na<sup>+</sup>-PO<sub>4</sub> présentant de fortes homologies avec Npt2, mais différent de celui-ci, a été cloné.<sup>11</sup> Cette identification a donc conduit à l'établissement de deux sous-familles distinctes de transporteurs Npt2, le type IIa et le type IIb (Tableau I).

Des revues très complètes ayant été récemment consacrées aux transporteurs Na<sup>+</sup>-PO<sub>4</sub> de type II,<sup>12-14</sup> nous ne présentons ici qu'une description succincte de ces transporteurs.

#### Type IIa

Les transporteurs Na<sup>+</sup>-PO<sub>4</sub> de type IIa, ou Npt2a, ont été clonés chez l'homme, le rat, la souris, l'opossum, le lapin et le mouton (Tableau I). Ils comprennent 637 à 653 acides aminés et ces protéines comporteraient huit à dix segments transmembranaires. Le gène Npt2 est présent sur le chromosome 5q35 chez l'homme, sa structure a été déterminée chez l'homme et la souris, et les séquences promotrices ont été clonées et analysées chez l'homme, l'opossum, et le rat.<sup>14</sup> Le transporteur Npt2a est exprimé quasi exclusivement dans le rein, dans les cellules épithéliales du tubule proximal. La localisation de Npt2a par immunohistochimie et *in situ* RT-PCR montre une distribution plus hétérogène que celle de Npt1, avec une immunoréactivité forte dans le segment S1 du tubule proximal, diminuant progressive-

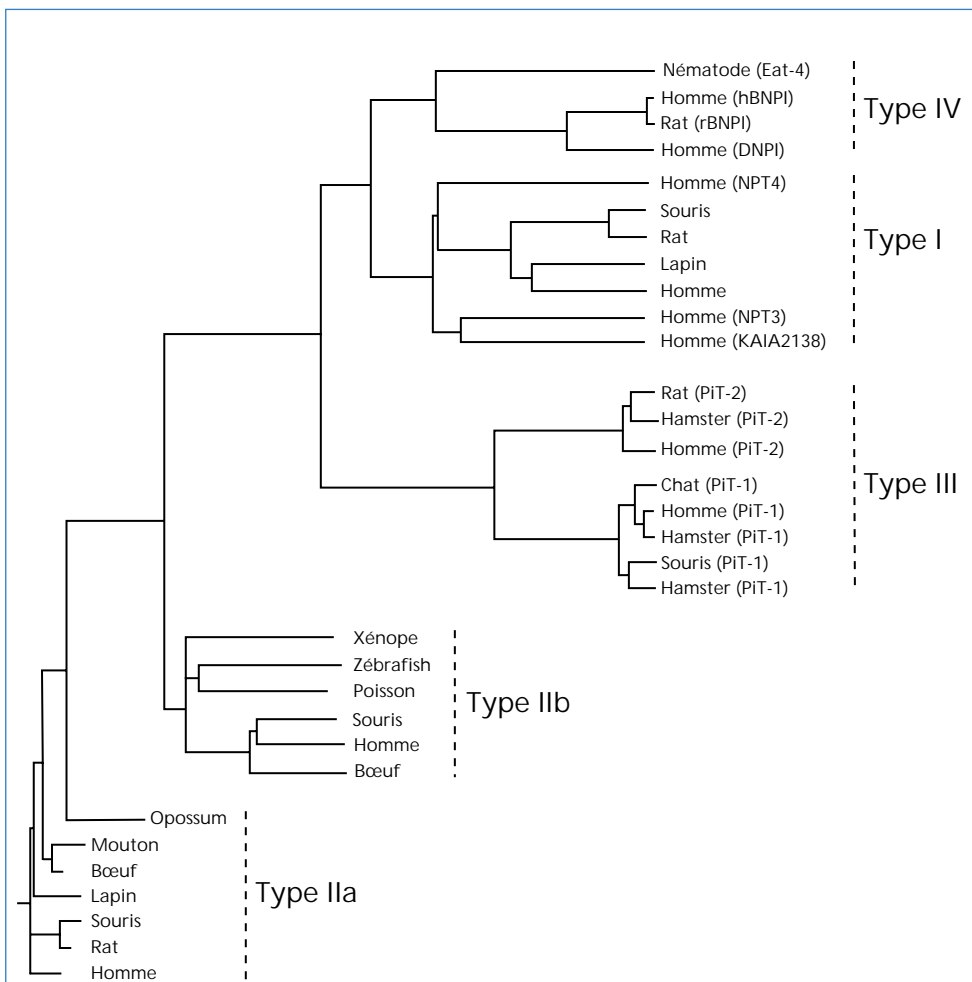
ment vers la *pars recta*.<sup>15</sup> En plus de l'expression dans le rein, deux études isolées ont montré la présence possible de Npt2a dans les ostéoclastes de lapin<sup>16</sup> et le cerveau de rat.<sup>17</sup>

Trois isoformes ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) de l'ARNm Npt2a générées par épissage alternatif ont été identifiées dans le rein.<sup>18</sup> Elles codent pour des protéines de 337, 327 et 268 acides aminés comportant des homologies avec la partie N terminale ( $\alpha$  et  $\beta$ ) ou C-terminale ( $\gamma$ ) de Npt2a. Des études fonctionnelles dans les œufs de Xénope ont montré que Npt2a $\alpha$  et Npt2a $\gamma$ , mais pas Npt2a $\beta$ , inhibaient le transport de phosphate médié par Npt2a, probablement en fonctionnant comme des inhibiteurs dominant-négatifs.<sup>18</sup> Leur rôle dans la régulation de Npt2a *in vivo* reste cependant à démontrer.

La fonction de transport de Npt2a a été étudiée de façon très exhaustive dans les œufs de Xénope, les cellules d'insectes Sf-9, les cellules MDCK et les cellules LLC-PK1 exprimant le transporteur après injection d'ARNc (oocytes) ou transfection d'ADNc (lignées cellulaires).<sup>12</sup> Les caractéristiques électrophysiologiques du co-transporteur Npt2a ont également été explorées.<sup>12</sup> L'ensemble de ces études permet de dégager un modèle dans lequel l'ion sodium se lie en premier, puis l'ion phosphate (monovalent ou divalent), avec une stœchiométrie de 1 : 3. L'activité de transport médiée par Npt2a est augmentée à pH alcalin. Une étude récente montre que l'association oligomérique du co-transporteur Npt2a n'est pas nécessaire pour induire une activité de transport de phosphate dépendant du sodium, permettant de conclure que l'unité fonctionnelle de Npt2a est monomérique.<sup>19</sup>

#### Type IIb

Un co-transporteur Na<sup>+</sup>-PO<sub>4</sub>, Npt2b, partageant une forte homologie avec le transporteur Npt2a, a récemment été cloné à partir de l'intestin grêle chez la souris. L'homologue humain de Npt2b a récemment été isolé, ainsi que des transporteurs homologues chez le Xénope et le zébrafish, constituant désormais une famille à part (Tableau I et Fig. 1). L'identification des transporteurs Na<sup>+</sup>-PO<sub>4</sub> de type IIb a par ailleurs montré que les co-transporteurs NaPi-5 (flet) et NBL-1 (bœuf), originellement considérés comme appartenant au type IIa, font en réalité partie de la famille IIb (Fig. 1). Chez l'homme, l'expression de l'ARNm Npt2b a été détectée par Northern blot dans le poumon, l'intestin et le rein,<sup>20</sup> mais aussi dans le pancréas, le thymus et la prostate.<sup>21</sup> Chez la souris, son expression a aussi été détectée dans le foie et les testicules par RT-PCR.<sup>11</sup> Dans l'intestin grêle, il a été localisé dans la bordure en brosse des entérocytes par immunofluorescence,<sup>11</sup> et est absent du tubule rénal proximal.<sup>22</sup> Deux études montrent que l'expression de ce transporteur est très forte dans le poumon et est localisé exclusivement dans la membrane apicale des pneumocytes de type II de l'épithélium alvéolaire.<sup>21,23</sup> Le gène du transporteur Npt2b est présent sur le chromosome 4p15.-p15.3 chez l'homme, sa structure génomique n'est pas connue. L'activité de transport de Npt2b a été étudiée dans les œufs de Xénope et reproduit les caractéristiques du transport de phosphate intestinal dépendant du sodium. C'est un transporteur électrogénique ayant un Km de 50 $\mu$ M pour le phosphate et de 30 mM pour le sodium. De plus, son activité de transport est sensiblement augmentée à pH acide, contrairement à celle de Npt2a.



**Fig. 1 :** Relation phylogénique apparente entre les différents membres des co-transporteurs  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$ . La longueur de chaque ligne horizontale est proportionnelle au degré de divergence des séquences protéiques. L'analyse de cet arbre, mais aussi de la répartition tissulaire de ces transporteurs (Tableau I), permet de classer les co-transporteurs  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  en différents types.

● Co-transporteurs  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  de type III

Les protéines Glvr-1 (pour Gibbon ape leukemia virus receptor 1) et Ram-1 (pour Rat amphotrophic virus) ont originellement été décrites comme récepteurs viraux. De part une homologie de séquence faible avec la perméase au phosphate de *Neurospora crassa*, il a été suggéré que ces récepteurs pourraient fonctionner comme des transporteurs de phosphate. Des études de transport dans les œufs de Xénope ont en effet montré que ces protéines fonctionnaient comme des co-transporteurs  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  de haute affinité ( $K_m \text{PO}_4 = 25 \mu\text{M}$ ).<sup>24</sup> De part leur fonction de transporteurs de phosphate, ces protéines sont désormais appelées PiT-1 (anciennement Glvr-1) et PiT-2 (anciennement Ram-1).

Les transporteurs PiT-1 et PiT-2 ont été clonés chez l'homme, la souris, le rat, le hamster et le chat (Tableau I). Ils comprennent 648 à 681 acides aminés et comporteraient 5 à 6 segments transmembranaires. Le gène PiT-1 est présent sur le chromosome 2q13 chez l'homme, sa structure a été déterminée et les séquences promotrices ont été clonées et analysées chez l'homme.<sup>25</sup> Le gène PiT-2 est localisé sur le chromosome 8p11 chez l'homme, sa structure génomique est en cours de détermi-

nation. A la grande différence des autres types de transporteurs de phosphate, PiT-1 et PiT-2 sont exprimés de façon ubiquitaire.<sup>24,26</sup> En culture, il a été montré que la quantité d'ARN PiT-1/2 augmente en réponse à une carence en phosphate,<sup>24,27</sup> ce qui, couplé à l'expression ubiquitaire des PiTs, suggère le possible rôle de ces protéines comme régulateurs cellulaires ubiquitaires du transport de phosphate. Dans le rein, nous avons récemment déterminé que les transporteurs de type III sont localisés dans la membrane basolatérale des cellules épithéliales (C. Silve, non publié). Cette localisation cellulaire concorde avec la localisation préférentiellement basolatérale des protéines constitutives ainsi que la fonction de récepteur viral portée par PiT-1 et PiT-2.

■ Modulateurs des co-transporteurs  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$

Deux protéines modifiant le transport de phosphate dans l'œuf de Xénope, diphor-1 et PiUS, ont été identifiées.<sup>29,30</sup> Diphor-1, isolé à partir d'ARN de rein de rat, est une protéine non membranaire de 52 kDa présentant des homologues significatives avec la protéine NHE-RF, facteur modulant l'activité de l'échangeur  $\text{Na}^+\text{/H}^+$  rénal NHE3. Diphor-1 (dietary phosphate

● Co-transporteurs  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  de type IV

Un dernier type de co-transporteur  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  a été identifié ces dernières années<sup>28</sup> et se distingue des autres types par l'expression quasi exclusive de ces protéines dans le système nerveux central. Cette famille se compose à l'heure actuelle de quatre membres (Tableau I), BNPI chez le rat, BNPI et DNPI chez l'homme et Eat-4 chez le néma-

regulator 1) est exprimé dans le rein et l'intestin grêle où elle est sur-réglée lors d'une carence en phosphate. Cette protéine induit une augmentation du transport de phosphate médié par Npt2a lorsqu'elle est co-exprimée avec celui-ci, suggérant un rôle potentiel dans la régulation du transport de phosphate. L'homologue humain de diphor-1, PDZK1, a été localisé sur le chromosome 1q21. PDZK1 contient un motif PDZ connu pour être impliqué dans l'interaction des protéines membranaires.<sup>9,31</sup> Cette observation est significative puisqu'il existe un motif TRL dans la partie C-terminale de Npt2a pouvant potentiellement interagir avec le domaine PDZ de diphor-1/PDZK1. Très récemment, en utilisant le système double-hybride et les extrémités C- et N-terminales de Npt2a comme appâts, l'équipe de Murer a isolé deux protéines baptisées NaPi-Cap1 et NaPi-Cap2 interagissant avec le domaine PDZ présent dans la partie C-terminale de Npt2a.<sup>32</sup> Le domaine PDZ présent dans la partie N-terminale quant à lui interagit avec la protéine MAP17,<sup>32</sup> préalablement identifiée dans des carcinomes. Après analyse, il apparaît que la protéine NaPi-Cap1 n'est autre que diphor-1/PDZK1. Le rôle précis de ces interactions reste à démontrer, mais il est vraisemblable qu'à l'instar d'autres systèmes,<sup>31</sup> leur rôle dans la régulation de l'activité de Npt2a soit primordial.

PiUS est une protéine hautement hydrophile non glycosylée de 60kDa clonée à partir d'ARN d'intestin de lapin.<sup>29</sup> PiUS est exprimé dans le rein, l'intestin, le foie et le cœur, et a été isolé aussi chez le rat et l'homme. Chez l'homme son gène a été localisé en 3p21.3. Lorsque PiUS est exprimé dans l'œuf de Xénope, sans co-expression de Npt2a, il induit une augmentation de 3 à 4 fois du co-transport  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  dans l'œuf de Xénope.<sup>29</sup> Toutefois, en raison de la nature hydrophile de PiUS et du fait que le transport de phosphate indépendant du sodium soit lui aussi augmenté, il a été suggéré que PiUS fonctionnerait plutôt comme un régulateur général du métabolisme cellulaire de phosphate.<sup>29</sup> De fait, récemment, il a été montré que PiUS était une inositol phosphate kinase, enzyme impliquée dans la conversion d'inositol hexakisphosphate en inositol heptakisphosphate.<sup>33</sup>

Les rôles précis que jouent diphor-1 et PiUS dans la régulation du transport de phosphate *in vivo* restent largement à démontrer.

## ■ Transport de phosphate dans le rein

Le tubule proximal est le site principal de la réabsorption du phosphate. A ce niveau, 70 à 80% du phosphate filtré est réabsorbé. Le transport transépithélial dans ce segment est essentiellement unidirectionnel et implique le transport de phosphate à travers la bordure en brosse, la translocation à travers la cellule puis l'efflux à travers la membrane basolatérale. Les transporteurs de type I, II et III sont exprimés dans le rein. Une étude comparative entre les types I, IIa et III a montré que leurs ARNm représentaient respectivement 15, 84 et 1% des ARNm codant pour des co-transporteurs  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$ .<sup>34</sup> Le transporteur Npt2a est donc le transporteur de phosphate majoritaire trouvé dans le rein. Bien que les ARNm PiTs représentent moins de 1% des ARNm codant pour des transporteurs de phosphate rénaux, ils sont détectés tout au long au néphron,<sup>34</sup> et représenteraient plus de 40% des ARNm codant pour des transporteurs de phosphate dans la partie distale du néphron.<sup>35</sup>

Bien avant l'identification moléculaire des transporteurs de phosphate, de nombreux arguments montrent que la régulation de la réabsorption rénale de phosphate se fait presque exclusivement par un ajustement du co-transport  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  à travers la bordure en brosse des cellules épithéliales du tubule contourné proximal.<sup>36</sup> Les données actuelles montrent que le transporteur Npt2a est l'entité protéique majeure impliquée dans ce phénomène.<sup>12</sup> Au-delà du fait que Npt2a est le transporteur principal présent dans la bordure en brosse rénale, un nombre important d'études montre la corrélation entre régulation du co-transport  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  proximal et régulation de Npt2a.<sup>12</sup> Les deux régulateurs physiologiques principaux, à la fois de la réabsorption de phosphate et de l'expression de Npt2a, sont la PTH et la disponibilité en phosphate.

L'action phosphaturique de la PTH, limitée au tubule proximal, est connue depuis longtemps.<sup>1</sup> Une augmentation des taux de PTH provoque une réponse phosphaturique dont on sait maintenant qu'elle est due à une diminution de la  $V_{\text{max}}$  du co-transport  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  de la membrane apicale des cellules épithéliales proximales.<sup>1,36</sup> De nombreux arguments montrent que cette réduction de  $V_{\text{max}}$  est due à une diminution de la quantité de protéine Npt2a dans les microvilli des cellules épithéliales. Bien qu'une analyse exhaustive des mécanismes impliqués dans l'action de la PTH sur Npt2a dépasse le cadre de cet article (revue dans<sup>37</sup>), il faut toutefois savoir que la diminution de Npt2a par la PTH passe par une internalisation irréversible du transporteur avec routage vers les lysosomes et dégradation ultérieure. Ceci implique qu'un retour à la normale du nombre de transporteurs Npt2a après inhibition par la PTH requiert une synthèse protéique *de novo*. Enfin, il semble que les deux voies d'activation, adénylate cyclase et phospholipase C, soient impliquées dans l'action de la PTH sur Npt2a, sans que soient connus les déterminants moléculaires mis en cause.<sup>37</sup>

Le contenu en phosphate du régime alimentaire provoque lui aussi des changements dans l'abondance de Npt2a au niveau de la bordure en brosse. Lors d'un changement aigu en phosphate, la quantité de protéine Npt2a varie de trois à quatre fois en quelques heures (augmentation lors d'un régime pauvre en phosphate, diminution si régime riche en phosphate). Les mécanismes impliqués sont similaires à ceux qui sont mis en œuvre lors de l'inhibition par la PTH et impliquent soit une mobilisation de transporteurs présents sous la membrane plasmique,<sup>37</sup> soit le routage vers les lysosomes.<sup>38</sup> Dans les deux situations, la quantité d'ARNm Npt2a ne varie pas et l'effet n'est pas inhibé par la cycloheximine,<sup>39</sup> confirmant que la régulation est de nature post-traductionnelle.<sup>39</sup>

Npt2a est aussi la cible d'autres hormones régulant le transport de phosphate rénal, comme l'hormone thyroïdienne et l'IGF-1 augmentant le co-transport  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$ , et l'EGF et la dexaméthasone diminuant le co-transport  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$ . Dans tous ces cas, un mécanisme post-transcriptionnel de régulation est probablement impliqué. La régulation de Npt2a par le métabolite actif de la vitamine D, le  $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ , est sujet à controverses.<sup>1,40</sup> Toutefois des données récentes montrent que le  $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$  induit une augmentation à la fois des ARNm et des protéines Npt2a. Cet effet passerait par une action directe du  $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$  sur la transcription du gène Npt2a.<sup>40,41</sup>

En invalidant chez la souris le gène Npt2a, nous avons pu démontrer le rôle crucial que ce transporteur jouait au niveau de l'organisme entier dans le maintien de l'homéostasie du

phosphate.<sup>42</sup> Les souris invalidées pour Npt2a ont une excrétion fractionnelle de phosphate augmentée, une diminution de 80% du co-transport  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  dans les vésicules de bordure en brosse, une hypophosphatémie, une hyperphosphaturie et une hypercalciurie, des concentrations plasmatiques élevées de  $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}$  et des basses de PTH, et des anomalies du développement osseux. Le phénotype biochimique des souris homozygotes pour la délétion de Npt2 est schématiquement représenté dans la figure 2. Il est intéressant de souligner que la plupart de ces caractéristiques phénotypiques évoluent avec l'âge et que les souris Npt2a<sup>-/-</sup> sont capables de s'adapter, dans une certaine mesure, à l'absence de Npt2a. Les souris hétérozygotes pour l'inactivation de Npt2a n'ont pas d'hypophosphatémie mais ont une hyperphosphaturie et des concentrations élevées de  $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}$  intermédiaires entre souris mutantes et souris normales.<sup>42</sup> De façon inattendue, l'expression des transporteurs Npt1, PiT-1 et PiT-2 est significativement diminuée dans la souris Npt2a<sup>-/-</sup>. Par contre, l'expression de Npt1, PiT-1 et PiT-2 augmente avec l'âge de la souris mutante, alors que seule l'expression de Npt1 varie chez la souris normale.<sup>43</sup> Lorsque les souris Npt2a<sup>-/-</sup> sont mises en carence en phosphate, il n'y a plus aucune adaptation du co-transport  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  suggérant le rôle exclusif de Npt2a dans ce mécanisme.<sup>43</sup> La souris invalidée pour Npt2a fournit donc un modèle unique pour étudier la régulation de l'homéostasie du phosphate et évaluer les effets d'une carence en phosphate, non seulement sur l'os, mais sur tout autre organe pour lequel le phosphate joue un rôle crucial.

La souris invalidée pour Npt2a est à ce jour le seul modèle animal connu pour lequel un transporteur de phosphate ait été invalidé. Ce modèle animal a permis, entre autres, de montrer que la participation des autres types de co-transporteurs de phosphate à la réabsorption rénale de phosphate est minoritaire,

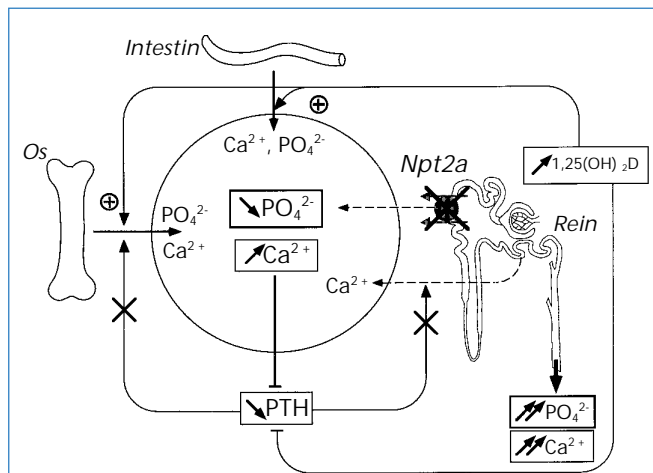


Fig. 2: Représentation schématique du phénotype biochimique de la souris invalidée pour Npt2a.

L'absence de Npt2a dans le tubule proximal du néphron induit une hypophosphatémie, malgré la présence des co-transporteurs  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  de type I et III. L'hypophosphatémie est associée à une hyperphosphaturie et des concentrations de  $1,25\text{(OH)}_2\text{D}$  élevées. Par son action sur l'os et l'intestin, la  $1,25\text{(OH)}_2\text{D}$  conduit à une hypercalcémie et une hypercalciurie, associées à des concentrations sériques basses de PTH. Ce phénotype biochimique conduit à un retard de minéralisation osseuse, qui est rattrapé à l'âge adulte. Les souris hétérozygotes pour la délétion ont un bilan calcique et une PTH normaux. Elles n'ont pas d'hypophosphatémie mais ont une fuite urinaire de phosphate associée à des concentrations de  $1,25\text{(OH)}_2\text{D}$  élevées.

mais non négligeable. En particulier, les phénomènes d'adaptation se mettant en place au cours du vieillissement en l'absence de transporteur Npt2a, ne sont pas élucidés et nécessitent peut-être la participation de ces transporteurs,<sup>42,43</sup> ou d'autres transporteurs non encore identifiés.

## ■ Transport de phosphate dans l'intestin

Il existe de nombreuses similitudes entre le transport transépithélial de phosphate dans l'intestin et dans le rein.<sup>44</sup> L'absorption du phosphate par la muqueuse intestinale requiert comme étape initiale le transport du phosphate à travers la bordure en brosse des entérocytes. Comme dans le rein, ce transport de phosphate est secondairement actif et dépendant du sodium (co-transport  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$ ), et représente l'étape limitante du transport transépithélial. Dans l'intestin, il existe une composante de transport indépendante du sodium et non saturable, représentant une part significativement plus importante que son homologue rénal.<sup>45</sup>

La disponibilité en phosphate et le  $1,25\text{(OH)}_2\text{D}_3$  sont les régulateurs majeurs de l'absorption intestinale de phosphate.<sup>46</sup> Le  $1,25\text{(OH)}_2\text{D}_3$  ou une carence en phosphate stimulent l'activité de co-transport  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  intestinal par augmentation de la  $V_{\text{max}}$  du transport.<sup>46</sup> Les mécanismes moléculaires précis mis en jeu dans ces régulations sont peu connus en raison de l'absence encore récente d'identification de la structure moléculaire des transporteurs de phosphate intestinaux. Le co-transporteur  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  de type IIb Npt2b exprimé dans l'intestin et localisé dans la bordure en brosse des entérocytes,<sup>11</sup> représente un bon candidat. De fait, sa localisation apicale, ses caractéristiques cinétiques de transport et sa sensibilité au pH acide suggèrent que ce transporteur est impliqué dans l'absorption intestinale de phosphate. Une étude récente montre que l'augmentation de l'activité de co-transport  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  intestinal induite par le  $1,25\text{(OH)}_2\text{D}_3$  ou secondaire à une carence en phosphate peut s'expliquer par une augmentation de la quantité d'entités protéiques Npt2b dans la membrane apicale des entérocytes.<sup>47</sup> Dans cette étude, la quantité d'ARNm Npt2b ne varie pas en réponse au  $1,25\text{(OH)}_2\text{D}_3$  ou une carence en phosphate, suggérant que les effets observés sont de nature post-transcriptionnelle.<sup>47</sup> Simultanément, Katai et coll. ont étudié l'effet du  $1,25\text{(OH)}_2\text{D}_3$  et de la carence en phosphate sur l'activité de co-transport  $\text{Na}^+\text{-PO}_4$  intestinal et la quantité d'ARNm des transporteurs Npt2b, PiT-1, PiT-2 et BNPI, ainsi que de PiUS.<sup>48</sup> Leurs résultats rejoignent en partie ceux de Hattenbauer<sup>47</sup> et montrent que seuls les ARNm de PiUS sont augmentés suite à une carence en phosphate, et seuls ceux de PiT-2 sont augmentés par le  $1,25\text{(OH)}_2\text{D}_3$ . Bien que cette étude soit restreinte à l'étude des quantités d'ARNm et ne comporte pas de données concernant la régulation au niveau protéique, elle démontre que le transport de phosphate intestinal ne s'explique pas par la seule implication de Npt2b, mais intègre de multiples composants.

## ■ Transport de phosphate dans l'os

Le phosphate est essentiel pour la minéralisation de la matrice extracellulaire osseuse par les ostéoblastes. Le transport

de phosphate dans les ostéoblastes en culture est dépendant du sodium et est régulé par la concentration de phosphate extracellulaire.<sup>49</sup> Différentes hormones, comme la PTH, l'IGF-1 ou les prostaglandines E<sub>2</sub> régulent le co-transport Na<sup>+</sup>-PO<sub>4</sub> dans les ostéoblastes.<sup>49</sup> Les caractéristiques du transport de phosphate dans les cellules ostéogéniques suggèrent l'implication de transporteurs de phosphate ne correspondant pas aux types I et II. Par contre, l'action du pH sur le transport de phosphate dans les cellules ostéogéniques est compatible avec la sensibilité au pH des transporteurs de phosphate de type III (diminution de l'activité à pH alcalin).<sup>24</sup> De fait, le transporteur de type III PIT-1 a récemment été identifié dans des cellules de lignée ostéoblastique (SaOS-2), et son expression est modulée par l'IGF-1, facteur de croissance abondant dans l'os.<sup>50</sup> De plus, PIT-1 est exprimé dans les chondrocytes hypertrophiques pendant la formation de l'os endochondral dans une région où a lieu la minéralisation de la matrice extracellulaire.<sup>51</sup> Ces observations sont donc en accord avec un rôle potentiel de PIT-1 dans les événements précoces de la calcification de la matrice osseuse.

Alors que les ostéoblastes sont responsables de la déposition de phosphate dans l'os, les ostéoclastes sont impliqués dans la résorption osseuse et sont donc exposés à une forte concentration extracellulaire de phosphate. Afin de subvenir aux besoins énergétiques très importants requis pour les processus de migration, d'attachement et de résorption, ces cellules sont susceptibles de posséder des systèmes de transport en relation avec l'utilisation du phosphate et la production d'ATP. Deux études isolées provenant du même groupe, décrivent une activité de co-transport Na<sup>+</sup>-phosphate dans les ostéoclastes.<sup>16,52</sup> En utilisant des anticorps anti-Npt2, Gupta et coll. détectent la présence d'une protéine possiblement apparentée à Npt2. Toutefois, le poids moléculaire de cette protéine est plus élevé que la forme rénale de Npt2, et est non expliqué par une différence de glycosylation.<sup>52</sup> Il reste donc un doute sur l'identité formelle du ou des système(s) de transport de phosphate dans les ostéoclastes. Quoi qu'il en soit, l'activité de co-transport Na<sup>+</sup>-phosphate permettrait, après résorption osseuse, de transporter le phosphate depuis le fluide interstitiel afin de maintenir les besoins en énergie de l'ostéoclaste.

## ■ Hypophosphatémies d'origine génétique

De nombreuses causes d'anomalies du transport de phosphate, qu'elles soient acquises ou héréditaires ont été identifiées (Tableau II) et ont récemment fait l'objet de revues détaillées.<sup>53-57</sup> Parmi ces anomalies, les hypophosphatémies d'origine génétique se dissocient en deux groupes: celles résultant d'un défaut primaire de réabsorption rénale de phosphate, qui nous intéressent ici, et celles secondaires à d'autres anomalies génétiques.<sup>53,54</sup> Cinq formes d'hypophosphatémie familiale résultant d'un défaut primaire de réabsorp-

tion rénale de phosphate et associées à un rachitisme en vitamine D résistant ont été décrites (Tableau II). Dans cette revue, nous parlerons brièvement des dernières avancées concernant le rachitisme hypophosphatémique lié à l'X (XLH), le rachitisme hypophosphatémique autosomique dominant (ADHR) et le rachitisme hypophosphatémique héréditaire avec hypercalciurie (HHRH).

### ● XLH, PHEX et phosphatonine

L'hypophosphatémie liée au chromosome X (XLH) est une maladie héréditaire dominante affectant l'homéostasie du phosphate chez l'homme. Avec une incidence de 1 pour 20 000 en Amérique du Nord, c'est la forme la plus courante des différentes hypophosphatémies héréditaires. Les patients atteints de cette maladie ont en commun un rachitisme le plus souvent associé à des déformations osseuses, un retard de croissance et une diminution de la réabsorption tubulaire de phosphate menant à une hypophosphatémie. XLH se distingue des autres formes autosomales d'hypophosphatémie héréditaire par la disponibilité de modèles murins de la maladie. Grâce à ces souris, appelées souris *Hyp* et *Gy*, de nombreuses avancées ont été faites sur l'étiologie de XLH. Chez les souris *Hyp*, la diminution de la réabsorption de phosphate est due à une diminution de l'activité de co-transport Na<sup>+</sup>-PO<sub>4</sub> à travers la bordure en brosse des cellules épithéliales du tubule proximal, elle-même causée par une diminution spécifique à la fois d'ARNm et de protéine Npt2a, sans changement de l'expression de Npt1. Pour cette raison, Npt2 apparaissait comme candidat naturel à la maladie, mais sa localisation sur le chromosome 5 infirma cette hypothèse. Peu de temps après cette étude, un gène nommé PEX puis PHEX, pour «Phosphate regulating gene with homologies to endopeptidases, on the X chromosome», fut cloné par un consortium international et des mutations dans ce gène étaient décrites chez des patients XLH. A ce jour, environ 140 mutations ont été décrites dans le gène PHEX chez les patients XLH. Tous les types de mutations sont retrouvés (délétion, épissage anormal, décalage du cadre de lecture, faux-sens, non-sens, stop, pseudo-exon) et une banque de données est accessible sur internet.<sup>59</sup> Bien que cela ne soit pas encore démontré, ces mutations entraîneraient une perte de fonction de PHEX. Le gène PHEX

**Tableau II:** Hypophosphatémies héréditaires résultant d'un défaut primaire de réabsorption rénale de phosphate.

| Hypophosphatémies héréditaires  | Abréviation | Gène/Chromosome  |
|---|-------------|------------------|
| Rachitisme hypophosphatémique lié à l'X<br><i>X-Linked Hypophosphatemia</i>   | XLH         | PHEX<br>Xp22.1   |
| Rachitisme hypophosphatémique autosomique dominant<br><i>Autosomal Dominant Hypophosphatemic Ricket</i>                         | ADHR        | FGF23<br>12p13   |
| Rachitisme hypophosphatémique héréditaire avec hypercalciurie<br><i>Hereditary Hypophosphatemic Rickets with Hypercalciuria</i> | HHRH        | ?                |
| Maladie osseuse hypophosphatémique<br><i>Hypophosphatemic Bone Disease</i>  | HBD         | ?                |
| Rachitisme hypophosphatémique autosomique récessif<br><i>Autosomal Recessive Hypophosphatemic Ricket</i>                        | ARHR        | ?                |
| Rachitisme hypophosphatémique récessif lié à l'X<br><i>X-Linked Recessive Hypophosphatemic Ricket</i>                           | XLRHR       | CLCN5<br>Xp11.22 |

humain comporte 22 exons repartis sur environ 250kb<sup>58,60</sup> et code pour une protéine de 749 acides aminés présentant de fortes homologies avec la famille M13 des métallopeptidases regroupant, entre autres, NEP et ECE-1.<sup>58</sup> De part cette homologie et les fonctions connues des métallopeptidases, il est très probable que la fonction de PHEX consiste, soit à dégrader, soit à activer un peptide.<sup>61</sup> Le clonage du gène PHEX a rapidement permis l'isolation de l'homologue murin, ainsi que la nature des mutations présentes dans le gène *Phex* chez les souris *Hyp* et *Gy*.<sup>62-64</sup> Nous avons montré que la mutation *Hyp* consistait en une délétion d'au moins 30kb de la partie 3' du gène *Phex*,<sup>62</sup> alors que la mutation *Gy* consiste en une délétion des trois premiers exons de *Phex*, en 5' du gène.<sup>65</sup>

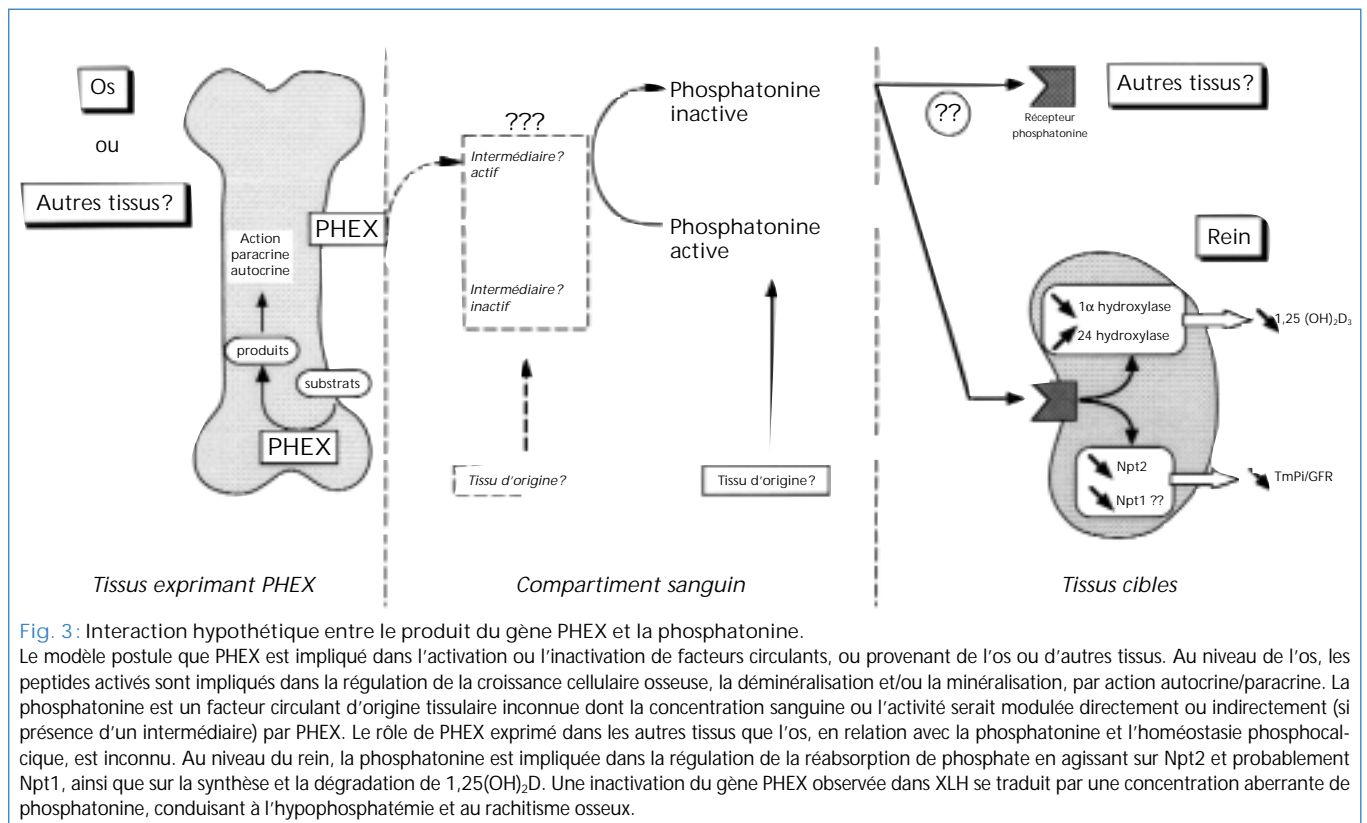
Le profil d'expression de PHEX/*Phex* est très intéressant. Nous avons montré chez l'homme et la souris, que le tissu d'expression principal de PHEX/*Phex* était l'os et que dans l'os PHEX/*Phex* était très faiblement exprimé sous la forme d'un transcript d'environ 7kb. Des résultats similaires ont été obtenus par d'autres équipes.<sup>61,63</sup> Toutefois, PHEX est aussi exprimé faiblement dans le poumon, le cerveau, le muscle, les ovaires et les testicules, suggérant soit un rôle de certains de ces tissus dans l'homéostasie du phosphate, soit une action de PHEX dans ces tissus sans rapport avec l'homéostasie du phosphate.<sup>62</sup> Il est important de noter l'absence d'expression de PHEX dans le rein.

Alors qu'il est clair que des mutations dans PHEX sont responsables de XLH, le mécanisme par lequel l'inactivation de PHEX conduit au phénotype XLH n'est pas immédiatement évident. L'expression de PHEX dans l'os, la présence d'un phénotype rénal (inhibition de *Npt2a* et métabolisme de la vitamine D anormal) ainsi que des expériences de cross-transplantation

rénale et de parasymbiose<sup>66</sup> ont conduit à la notion de l'existence d'une hormone phosphaturique, modulée par PHEX et différente de la PTH, nommée « phosphatonine ». <sup>67</sup> L'hypothèse de l'existence d'une telle hormone est renforcée par l'existence de l'ostéomalacie hypophosphatémique d'origine oncogénique (OHO) reproduisant un phénotype similaire à XLH et qui disparaît totalement après excision de la tumeur.<sup>68</sup> PHEX ne peut être la phosphatonine elle-même, mais il est clair que PHEX régule, soit directement (si la phosphatonine est clivée par PHEX), soit indirectement (si présence d'un intermédiaire), la concentration de phosphatonine circulante. A l'heure actuelle, la phosphatonine n'est pas identifiée, mais de nombreux projets sont en cours visant à l'isoler. La figure 3 illustre les interactions possibles entre le produit du gène PHEX et la phosphatonine.

#### ● ADHR et FGF23

Le rachitisme hypophosphatémique autosomique dominant, ou ADHR, est avec HBD (Hypophosphatemic Bone Disease) l'une des deux formes autosomiques dominantes de rachitisme hypophosphatémique. ADHR est moins fréquent que XLH et a été moins étudié, en partie à cause de l'absence de modèle murin de la maladie. Le tableau clinique des patients ADHR est très proche de celui des patients XLH. Les malades ont une fuite rénale de phosphate associée à des concentrations sériques de calcitriol inappropriées. Par rapport à XLH, la pénétrance de la maladie est moins complète, et une variabilité relativement importante peut être observée pour le phénotype osseux.<sup>69</sup> La disponibilité d'une large famille ADHR a récemment permis de restreindre la région chromosomique portant le gène ADHR en 12p13. Très récem-



ment, des mutations ont été identifiées dans un gène, FGF23, présent dans cette région et présentant des homologies avec la famille des FGF.<sup>70</sup> Cette dernière étude étant très récente, peu de choses sont connues. On peut toutefois indiquer que FGF23 est exprimé à de très faibles taux dans le cœur, le foie, les glandes thyroïdes/parathyroïdes, mais pas dans le rein, ni dans l'os.<sup>70</sup> Fgf23 a été cloné de façon concomitante par une équipe japonaise, par clonage d'homologie.<sup>71</sup> Ce travail, réalisé chez la souris, révèle une distribution tissulaire légèrement différente. Fgf23 serait préférentiellement exprimé dans le cerveau, le thymus, et dans une moindre mesure dans l'intestin et le cœur (real-time quantitative PCR). Il confirme par ailleurs l'absence d'expression dans le rein. Dans le cerveau, Fgf23 est détecté par hybridation in situ dans le noyau thalamique ventrolatéral.<sup>71</sup> Enfin, les phénotypes des patients XLH/ADHR et OHO étant très similaires, une étude très récente montre que FGF23 est très fortement surexprimé dans les tumeurs OHO, ce qui conduit à l'hypothèse que les mutations présentes dans FGF23 chez les patients ADHR puissent être des mutations activatrices.<sup>72</sup> Cela étant dit, le mécanisme par lequel FGF23 muté perturbe l'homéostasie du phosphate, la relation potentielle de FGF23 avec PHEX ou Npt2a, et son rôle éventuel en tant qu'hormone phosphaturique (phosphatonine) sont inconnus.

### ● HHRH et Npt2a

Le rachitisme hypophosphatémique héréditaire avec hypercalciurie (HHRH) a été décrit en premier dans une tribu de Bédouins.<sup>73</sup> HHRH est caractérisé par une fuite rénale de phosphate induisant une hypophosphatémie. Contrairement à XLH et ADHR, cette hypophosphatémie conduit à des concentrations sériques de calcitriol élevées. Ce phénotype s'accompagne d'une baisse des concentrations sériques de PTH et d'une hypercalciurie sans hypocalcémie. Le diagnostic clinique précis de HHRH est important car contrairement à XLH, le traitement de HHRH nécessite un apport en phosphate seul, sans apport de 1,25(OH)<sub>2</sub>D. Dans le cas contraire, des complications peuvent intervenir comme une hypercalcémie, des lithiases ou une néphrocalcinose.<sup>74</sup>

Le mode de transmission de HHRH est complexe et il a été proposé qu'il soit autosomique récessif.<sup>73</sup> Le gène responsable de HHRH n'est pas identifié. Parce que les souris invalidées pour Npt2a ont un phénotype biochimique pratiquement identique à celui des patients HHRH, il a été proposé que ce gène soit responsable de la maladie.<sup>42</sup> Toutefois, le séquençage du gène Npt2a et l'étude de liaison par microsatellite dans une famille de Bédouins HHRH a montré que ce n'était pas le cas.<sup>75</sup> Une autre étude très récente, portant sur un pedigree beaucoup plus simple a conduit aux mêmes résultats.<sup>76</sup> L'exclusion de Npt2a comme gène candidat fournit un exemple supplémentaire de l'hétérogénéité génétique associée à de nombreuses maladies et conduit à l'hypothèse que des protéines accessoires essentielles pour l'activité de Npt2a, comme diphor1, PiUS ou d'autres non encore identifiées, pourraient être responsables du phénotype HHRH.

## ■ Conclusion

L'homéostasie du phosphate est un processus complexe impliquant de nombreux transporteurs, diverses protéines régulatrices, différentes hormones ou enzymes, répartis dans de mul-

tiples organes. Récemment, de nombreuses molécules jouant un rôle essentiel dans ce processus ont été identifiées. Cette identification permet de mieux comprendre comment se fait la régulation de l'homéostasie du phosphate, et conduit à la mise en évidence de nouvelles boucles de régulation. Ces études permettent de faire progresser notre compréhension de la pathogenèse des hypophosphatémies héréditaires et permettent à terme de faire face à la variabilité clinique de ces maladies en proposant des traitements adaptés.

### Adresse de correspondance :

Dr Laurent Beck  
INSERM U426  
Faculté de médecine Xavier Bichat  
16, rue Henri Huchard,  
F-75018 Paris  
E-mail : beck@bichat.inserm.fr



## Références

- Berndt T, Knox F. Renal regulation of phosphate excretion. In Seldin D, Giebisch G, eds. *The Kidney: Physiology and Pathology*. New York: Raven Press, 1992; 2511-32.
- Werner A, Moore M, Mantei N, Biber J, Semenza G, Murer H. Cloning and expression of cDNA for a Na/Pi cotransport system of kidney cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 9608-12.
- Taketani Y, Miyamoto K, Chikamori M, Tanaka K, Yamamoto H, Tatsumi S, Morita K, Takeda E. Characterization of the 5' flanking region of the human NPT-1 Na<sup>+</sup>/phosphate cotransporter gene. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1396: 267-72.
- Biber J, Custer M, Werner A, Kaissling B, Murer H. Localization of NaPi-1, a Na/Pi cotransporter, in rabbit kidney proximal tubules. II. Localization by immunohistochemistry. *Pflügers Arch* 1993; 424: 210-5.
- Custer M, Meier F, Schlatter E, Greger R, Garcia-Perez A, Biber J, Murer H. Localization of NaPi-1, a Na-Pi cotransporter, in rabbit kidney proximal tubules. I. mRNA localization by reverse transcription/polymerase chain reaction. *Pflügers Arch* 1993; 424: 203-9.
- Busch AE, Schuster A, Waldegger S, Wagner CA, Zempel G, Broer S, Biber J, Murer H, Lang F. Expression of a renal type I sodium/phosphate transporter (NaPi-1) induces a conductance in *Xenopus* oocytes permeable for organic and inorganic anions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 5347-51.
- Broer S, Schuster A, Wagner CA, Broer A, Forster I, Biber J, Murer H, Werner A, Lang F, Busch AE. Chloride conductance and Pi transport are separate functions induced by the expression of NaPi-1 in *Xenopus* oocytes. *J Membr Biol* 1998; 164: 71-7.
- Yabuuchi H, Tamai I, Morita K, Kouda T, Miyamoto K, Takeda E, Tsuji A. Hepatic sinusoidal membrane transport of anionic drugs mediated by anion transporter Npt1. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 286: 1391-6.
- Staub O, Rotin D. Regulation of ion transport by protein-protein interaction domains. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1997; 6: 447-54.
- Magagnin S, Werner A, Markovich D, Sorribas V, Stange G, Biber J, Murer H. Expression cloning of human and rat renal cortex Na/Pi cotransport. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 5979-83.

11. Hilfiker H, Hattenhauer O, Traebert M, Forster I, Murer H, Biber J. Characterization of a murine type II sodium-phosphate cotransporter expressed in mammalian small intestine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 14564-9.
12. Murer H, Hernando N, Forster I, Biber J. Proximal tubular phosphate reabsorption: Molecular mechanisms. *Physiol Rev* 2000; 80: 1373-409.
13. Hernando N, Forster IC, Biber J, Murer H. Molecular characteristics of phosphate transporters and their regulation. *Exp Nephrol* 2000; 8: 366-75.
14. Takeda E, Taketani Y, Morita K, Tatsumi S, Katai K, Nii T, Yamamoto H, Miyamoto K. Molecular mechanisms of mammalian inorganic phosphate homeostasis. *Adv Enzyme Regul* 2000; 40: 285-302.
15. Custer M, Lotscher M, Biber J, Murer H, Kaissling B. Expression of Na-P(i) cotransport in rat kidney: Localization by RT-PCR and immunohistochemistry. *Am J Physiol* 1994; 266: F767-74.
16. Gupta A, Guo XL, Alvarez UM, Hruska KA. Regulation of sodium-dependent phosphate transport in osteoclasts. *J Clin Invest* 1997; 100: 538-49.
17. Hisano S, Haga H, Li Z, Tatsumi S, Miyamoto KI, Takeda E, Fukui Y. Immunohistochemical and RT-PCR detection of Na<sup>+</sup>-dependent inorganic phosphate cotransporter (NaPi-2) in rat brain. *Brain Res* 1997; 772: 149-55.
18. Tatsumi S, Miyamoto K, Kouda T, Motonaga K, Katai K, Ohkido I, Morita K, Segawa H, Tani Y, Yamamoto H, Taketani Y, Takeda E. Identification of three isoforms for the Na<sup>+</sup>-dependent phosphate cotransporter (NaPi-2) in rat kidney. *J Biol Chem* 1998; 273: 28568-75.
19. Kohler K, Forster IC, Lambert G, Biber J, Murer H. The functional unit of the renal type IIa Na<sup>+</sup>/Pi cotransporter is a monomer. *J Biol Chem* 2000; 275: 26113-20.
20. Xu H, Bai L, Collins JF, Ghishan FK. Molecular cloning, functional characterization, tissue distribution, and chromosomal localization of a human, small intestinal sodium-phosphate (Na<sup>+</sup>-Pi) transporter (SLC34A2). *Genomics* 1999; 62: 281-4.
21. Feild JA, Zhang L, Brun KA, Brooks DP, Edwards RM. Cloning and functional characterization of a sodium-dependent phosphate transporter expressed in human lung and small intestine. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 258: 578-82.
22. Karim-Jimenez Z, Hernando N, Biber J, Murer H. Requirement of a leucine residue for (apical) membrane expression of type IIb NaPi cotransporters. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 2916-21.
23. Traebert M, Hattenhauer O, Murer H, Kaissling B, Biber J. Expression of type II Na-P(i) cotransporter in alveolar type II cells. *Am J Physiol* 1999; 277: L868-73.
24. Kavanaugh MP, Miller DG, Zhang W, Law W, Kozak SL, Kabat D, Miller AD. Cell-surface receptors for gibbon ape leukemia virus and amphotropic murine retrovirus are inducible sodium-dependent phosphate symporters. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 7071-5.
25. Palmer G, Manen D, Bonjour JP, Caverzasio J. Characterization of the human Glvr-1 phosphate transporter/retrovirus receptor gene and promoter region. *Gene* 1999; 226: 25-33.
26. Tatsumi S, Segawa H, Morita K, Haga H, Kouda T, Yamamoto H, Inoue Y, Nii T, Katai K, Taketani Y, Miyamoto KI, Takeda E. Molecular cloning and hormonal regulation of PiT-1, a sodium-dependent phosphate cotransporter from rat parathyroid glands. *Endocrinology* 1998; 139: 1692-9.
27. Miyamoto K, Tatsumi S, Segawa H, Morita K, Nii T, Fujioka A, Kitano M, Inoue Y, Takeda E. Regulation of PiT-1, a sodium-dependent phosphate co-transporter in rat parathyroid glands. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 73-5.
28. Ni B, Rosteck PR, Jr., Nadi NS, Paul SM. Cloning and expression of a cDNA encoding a brain-specific Na<sup>(+)</sup>-dependent inorganic phosphate cotransporter. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 5607-11.
29. Norbis F, Boll M, Stange G, Markovich D, Verrey F, Biber J, Murer H. Identification of a cDNA/protein leading to an increased Pi-uptake in *Xenopus laevis* oocytes. *J Membr Biol* 1997; 156: 19-24.
30. Custer M, Spindler B, Verrey F, Murer H, Biber J. Identification of a new gene product (diphor-1) regulated by dietary phosphate. *Am J Physiol* 1997; 273: F801-6.
31. Fanning AS, Anderson JM. PDZ domains: Fundamental building blocks in the organization of protein complexes at the plasma membrane. *J Clin Invest* 1999; 103: 767-72.
32. Gisler S, Pribanic S, Traebert M, Biber J, Murer H. Protein-protein interaction pattern of the renal type IIa Na/Pi-cotransporter. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 563A.
33. Schell MJ, Letcher AJ, Brearley CA, Biber J, Murer H, Irvine RF. PiUS (Pi uptake stimulator) is an inositol hexakisphosphate kinase. *FEBS Lett* 1999; 461: 169-72.
34. Tenenhouse HS, Roy S, Martel J, Gauthier C. Differential expression, abundance, and regulation of Na<sup>+</sup>-phosphate cotransporter genes in murine kidney. *Am J Physiol* 1998; 275: F527-34.
35. Tenenhouse HS, Gauthier C, Martel J, Gesek FA, Coutermarsh BA, Friedman PA. Na<sup>+</sup>-phosphate cotransport in mouse distal convoluted tubule cells: Evidence for Glvr-1 and Ram-1 gene expression. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 590-7.
36. Murer H, Biber J. Renal tubular phosphate transport: Cellular mechanisms. In Seldin D, Giebisch G, eds. *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*. New York: Raven Press, 1992; 2481-2509.
37. Murer H, Forster I, Hernando N, Lambert G, Traebert M, Biber J. Post-transcriptional regulation of the proximal tubule NaPi-II transporter in response to PTH and dietary P(i). *Am J Physiol* 1999; 277: F676-84.
38. Keusch I, Traebert M, Lotscher M, Kaissling B, Murer H, Biber J. Parathyroid hormone and dietary phosphate provoke a lysosomal routing of the proximal tubular Na/Pi-cotransporter type II. *Kidney Int* 1998; 54: 1224-32.
39. Levi M, Kempson SA, Lotscher M, Biber J, Murer H. Molecular regulation of renal phosphate transport. *J Membr Biol* 1996; 154: 1-9.
40. Taketani Y, Segawa H, Chikamori M, Morita K, Tanaka K, Kido S, Yamamoto H, Iemori Y, Tatsumi S, Tsugawa N, Okano T, Kobayashi T, Miyamoto K, Takeda E. Regulation of type II renal Na<sup>+</sup>-dependent inorganic phosphate transporters by 1,25-dihydroxyvitamin D3. Identification of a vitamin D-responsive element in the human NAPI-3 gene. *J Biol Chem* 1998; 273: 14575-81.
41. Taketani Y, Miyamoto K, Tanaka K, Katai K, Chikamori M, Tatsumi S, Segawa H, Yamamoto H, Morita K, Takeda E. Gene structure and functional analysis of the human Na<sup>+</sup>/phosphate co-transporter. *Biochem J* 1997; 324: 927-34.
42. Beck L, Karaplis AC, Amizuka N, Hewson AS, Ozawa H, Tenenhouse HS. Targeted inactivation of Npt2 in mice leads to severe renal phosphate wasting, hypercalciuria, and skeletal abnormalities. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 5372-7.
43. Hoag HM, Martel J, Gauthier C, Tenenhouse HS. Effects of Npt2 gene ablation and low-phosphate diet on renal Na<sup>(+)</sup>/phosphate cotransport and cotransporter gene expression. *J Clin Invest* 1999; 104: 679-86.
44. Danisi G, Caverzasio J, Bonjour JP, Murer H, Straub RW. Mechanism of phosphate transport adaptation in rat intestinal and renal brush border membranes. *Adv Exp Med Biol* 1986; 208: 223-6.
45. Danisi G, Caverzasio J, Trechsel U, Bonjour JP, Straub RW. Phosphate transport adaptation in rat jejunum and plasma level of 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Scand J Gastroenterol* 1990; 25: 210-5.
46. Danisi G, Murer H. Inorganic phosphate absorption in small intestine. In Field M, Frizzell R, eds. *Handbook of Physiology - the gastrointestinal system*. New York: Oxford University Press, 1991; 323-36.
47. Hattenhauer O, Traebert M, Murer H, Biber J. Regulation of small intestinal Na-P(i) type IIb cotransporter by dietary phosphate intake. *Am J Physiol* 1999; 277: G756-62.
48. Katai K, Miyamoto K, Kishida S, Segawa H, Nii T, Tanaka H, Tani Y, Arai H, Tatsumi S, Morita K, Taketani Y, Takeda E. Regulation of intestinal Na<sup>+</sup>-dependent phosphate co-transporters by a low-phosphate diet and 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Biochem J* 1999; 343 Pt 3: 705-12.

49. Caverzasio J, Bonjour JP. Characteristics and regulation of Pi transport in osteogenic cells for bone metabolism. *Kidney Int* 1996; 49: 975-80.
50. Palmer G, Bonjour JP, Caverzasio J. Expression of a newly identified phosphate transporter/retrovirus receptor in human SaOS-2 osteoblast-like cells and its regulation by insulin-like growth factor I. *Endocrinology* 1997; 138: 5202-9.
51. Palmer G, Zhao J, Bonjour J, Hofstetter W, Caverzasio J. In vivo expression of transcripts encoding the Glv-1 phosphate transporter/retrovirus receptor during bone development. *Bone* 1999; 24: 1-7.
52. Gupta A, Miyauchi A, Fujimori A, Hruska KA. Phosphate transport in osteoclasts: Functional and immunochemical characterization. *Kidney Int* 1996; 49: 968-74.
53. Escoubet B, Silve C. Hypophosphatémies d'origine génétique. *Néphrologie* 1992; 13: 115-21.
54. Amiel C, Escoubet B, Silve C, Friedlander G. Hypo-hyperphosphataemia. In Davison A, Cameron J, Grunfeld J, Kerr D, Ritz E, Winearls C, eds. *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press, 1998; 249-69.
55. Econs M, Strom T. The molecular basis of hypophosphatemic rickets. In Handwerger S, eds. *Molecular and Cellular Pediatric Endocrinology*. Totowa: Humana Press Inc., 1998; 39-55.
56. Econs MJ. New insights into the pathogenesis of inherited phosphate wasting disorders. *Bone* 1999; 25: 131-5.
57. Econs M, White K. Inherited phosphate wasting disorders. In Econs M, eds. *The Genetics of osteoporosis and metabolic bone disease*. Totowa, New Jersey: Humana Press, 2000; 111-32.
58. HYP consortium. A gene (PEX) with homologies to endopeptidases is mutated in patients with X-linked hypophosphatemic rickets. The HYP Consortium. *Nat Genet* 1995; 11: 130-6.
59. Sabbagh Y, Jones AO, Tenenhouse HS. PHEXdb, a locus-specific database for mutations causing X-linked hypophosphatemia. *Hum Mutat* 2000; 16: 1-6.
60. Francis F, Strom TM, Hennig S, Boddlich A, Lorenz B, Brandau O, Mohnike KL, Cagnoli M, Steffens C, Klages S, Borzym K, Pohl T, Oudet C, Econs MJ, Rowe PS, Reinhardt R, Meitinger T, Lehrach H. Genomic organization of the human PEX gene mutated in X-linked dominant hypophosphatemic rickets. *Genome Res* 1997; 7: 573-85.
61. Lipman ML, Panda D, Bennett HP, Henderson JE, Shane E, Shen Y, Goltzman D, Karaplis AC. Cloning of human PEX cDNA. Expression, subcellular localization, and endopeptidase activity. *J Biol Chem* 1998; 273: 13729-37.
62. Beck L, Soumounou Y, Martel J, Krishnamurthy G, Gauthier C, Goodyer CG, Tenenhouse HS. Pex/PEX tissue distribution and evidence for a deletion in the 3' region of the Pex gene in X-linked hypophosphatemic mice. *J Clin Invest* 1997; 99: 1200-9.
63. Du L, Desbarats M, Viel J, Glorieux FH, Cawthorn C, Ecarot B. cDNA cloning of the murine Pex gene implicated in X-linked hypophosphatemia and evidence for expression in bone. *Genomics* 1996; 36: 22-8.
64. Strom TM, Francis F, Lorenz B, Boddlich A, Econs MJ, Lehrach H, Meitinger T. Pex gene deletions in Gy and Hyp mice provide mouse models for X-linked hypophosphatemia. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 165-71.
65. Meyer RA Jr., Henley CM, Meyer MH, Morgan PL, McDonald AG, Mills C, Price DK. Partial deletion of both the spermine synthase gene and the Pex gene in the X-linked hypophosphatemic, gyro (Gy) mouse. *Genomics* 1998; 48: 289-95.
66. Drezner MK. PHEX gene and hypophosphatemia. *Kidney Int* 2000; 57: 9-18.
67. Econs MJ, Drezner MK. Tumor-induced osteomalacia-unveiling a new hormone. *N Engl J Med* 1994; 330: 1679-81.
68. Cai Q, Hodgson SF, Kao PC, Lennon VA, Klee GG, Zinsmeister AR, Kumar R. Brief report: Inhibition of renal phosphate transport by a tumor product in a patient with oncogenic osteomalacia. *N Engl J Med* 1994; 330: 1645-9.
69. Econs MJ, McEnery PT. Autosomal dominant hypophosphatemic rickets/osteomalacia: Clinical characterization of a novel renal phosphate-wasting disorder. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 674-81.
70. White KE, Evans WE, O'Riordan JL, Speer MC, Econs MJ, Lorenz-Depiereux B, Grabowski M, Meitinger T, Strom TM. Autosomal dominant hypophosphatemic rickets is associated with mutations in FGF23. *Nat Genet* 2000; 26: 345-8.
71. Yamashita T, Yoshioka M, Itoh N. Identification of a novel fibroblast growth factor, FGF-23, preferentially expressed in the ventrolateral thalamic nucleus of the brain. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 277: 494-8.
72. White KE, Jonsson KB, Carn G, Hampson G, Spector TD, Mannstadt M, Lorenz-Depiereux B, Miyauchi A, Yang IM, Ljunggren O, Meitinger T, Strom TM, Juppner H, Econs MJ. The autosomal dominant hypophosphatemic rickets (ADHR) gene is a secreted polypeptide overexpressed by tumors that cause phosphate wasting. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 497-500.
73. Tieder M, Nodai D, Samuel R, Arie R, Halabe A, Bab I, Gabizon D, Luberman UA. Hereditary hypophosphatemic rickets with hypercalciuria. *N Engl J Med* 1985; 312: 611-7.
74. Chen C, Carpenter T, Steg N, Baron R, Anast C. Hypercalciuric hypophosphatemic rickets, mineral balance, bone histomorphometry, and therapeutic implications of hypercalciuria. *Pediatrics* 1989; 84: 276-80.
75. Jones AO, Tzenova J, Fujiwara TM, Frappier D, Tieder M, Morgan K, Tenenhouse HS. NPT2 is not the gene responsible for hereditary hypophosphatemic rickets with hypercalciuria (HHRH) in a Bedouin kindred. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 435A.
76. van den Heuvel L, Op de Koul K, Knots E, Knoers N, Monnens L. Autosomal recessive hypophosphatemic rickets with hypercalciuria is not caused by mutations in the type II renal sodium/phosphate cotransporter gene. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 48-51.