

LES ÉCHOS DE LA RECHERCHE

SYNDROME D'ALPORT

■ **Dr Laurence Heidet,**
Unité INSERM 423,
Hôpital Necker-Enfants malades,
Paris.



Un rappel de ce qui se passe dans le rein

La maladie est liée à une anomalie de l'une des trois chaînes (3, 4 et 5) de collagène IV (exprimées de façon majoritaire dans la membrane basale des glomérules) qui est soit absente, soit anormale. La membrane basale est alors fragilisée. Elle est d'abord trop fine, puis a tendance à se casser et à être réparée. L'ensemble de ces réparations représente des sortes de cicatrices, et l'aspect en microscopie électronique est ensuite celui d'une membrane épaissie et irrégulière. La fonction de filtration du glomérule n'est pas bien assurée : la membrane basale laisse d'abord passer les globules rouges, puis l'albumine. A la longue, les altérations des glomérules entraînent une réaction de fibrose dans le rein, et une destruction progressive des reins.



Un rappel de la génétique

Chacune des chaînes 3, 4 et 5 est codée par un gène différent. La chaîne 5 est codée par un gène appelé COL4A5 localisé sur le

Le syndrome d'Alport est une maladie héréditaire comportant l'association d'une atteinte rénale, d'une baisse de l'audition et d'anomalies oculaires. Les atteintes de l'oreille et de l'œil sont inconstantes. La maladie rénale est progressive, évoluant vers l'insuffisance rénale.

chromosome X ; ce chromosome est présent en deux exemplaires chez les filles et en un seul exemplaire chez les garçons. Les chaînes 3 et 4 sont codées par les gènes COL4A3 et COL4A4, localisés sur le chromosome 2 (présent en deux exemplaires chez les filles et chez les garçons). Le syndrome d'Alport est secondaire à des mutations dans l'un de ces trois gènes.

Les mutations dans le gène COIAA5 sont responsables de la forme liée à l'X de la maladie, de loin la plus fréquente (environ 85 % des familles). La maladie est plus grave chez les garçons qui n'ont qu'un chromosome X, que chez les filles qui ont deux chromosomes X, un seul des deux portant de la mutation. La chaîne 5 de collagène IV, altérée dans cette forme, est normalement présente dans la membrane basale de la peau, comme dans la membrane basale du glomérule. Dans certains cas, il est possible de faire le diagnostic de la maladie en étudiant une biopsie de peau du patient. La chaîne 5 n'est pas retrouvée dans la peau, ce qui permet de faire le diagnostic de façon certaine, et d'éviter de faire une biopsie rénale. Malheureusement, l'inverse n'est pas vrai : si la

chaîne 5 est présente normalement dans la peau, cela n'élimine pas le diagnostic de syndrome d'Alport lié au chromosome X.

Dans de rares familles de syndrome d'Alport lié à l'X, la maladie est associée à une léiomyomatose œsophagienne diffuse. Il s'agit d'un épaississement de la paroi musculaire de l'œsophage, qui peut être responsable de difficultés pour avaler. Cette association est secondaire à des **mutations touchant à la fois le gène COL4A5 et le gène COL4A6** ; ce dernier gène code pour la chaîne 6 de collagène IV et est localisé à côté de COL4A5. La chaîne 6 n'est pas exprimée dans le rein, mais est exprimée dans les cellules musculaires de l'œsophage. Notre équipe INSERM à l'hôpital Necker-Enfants malades est particulièrement impliquée dans les mécanismes responsables de l'atteinte des cellules musculaires dans cette pathologie.

Les mutations dans les gènes COL4A3 ou COL4A4, qui codent pour les chaînes 3 et 4, sont responsables des formes autosomiques récessives. La maladie se développe si les deux copies du gène COL4A3 ou les deux copies du gène COL4A4 sont mutées. Elle est aussi

sévère dans les deux sexes, et en général évolue rapidement vers l'insuffisance rénale. L'étude de la biopsie de peau ne montre pas d'anomalie d'expression des chaînes de collagène.

Les mutations dans les gènes COL4A3 ou COL4A4, peuvent également être responsables des formes autosomiques dominantes, beaucoup plus rares. La maladie se développe chez des individus porteurs d'une mutation touchant une seule des deux copies du gène COL4A3 ou COL4A4. La maladie est de même gravité dans les deux sexes. L'évolutivité de la maladie est en général moins sévère (insuffisance rénale apparaissant à l'âge adulte) que dans les formes autosomiques récessives.

Les généticiens cherchent à comprendre pourquoi, lorsqu'elles sont présentes sur une seule des deux copies du gène, certaines mutations dans le gène COL4A3 ou dans le gène COL4A4 ne sont responsables d'aucun symptôme (comme chez les parents des enfants atteints de forme récessive), alors que d'autres sont responsables d'une maladie (dans le syndrome d'Alport autosomique dominant). Il est probable que le type de mutation et sa localisation dans le gène impliqué jouent un rôle. D'autre part, l'intervention d'autres facteurs génétique (ou gènes modificateurs) est probablement importante, et plusieurs équipes s'attachent actuellement à déterminer quels sont ces facteurs

Enfin il faut distinguer une forme particulière de maladie associant une atteinte rénale, une atteinte auditive et une atteinte des plaquettes sanguines (responsable de

saignements). Le gène dont la mutation est responsable de la maladie a été découvert récemment. Il ne s'agit pas d'un gène de collagène, mais d'un **gène codant pour une molécule appelée myosine non musculaire**. Récemment notre équipe a étudié la localisation de cette molécule dans le rein. Nous avons montré qu'elle était principalement localisée dans les cellules rénales du glomérule appelées podocytes (et non dans la membrane basale des glomérules). Il s'agit par conséquent d'une maladie différente du syndrome d'Alport, même si elle associe maladie rénale glomérulaire et atteinte de l'audition. En outre, l'étude des familles atteintes nous a montré qu'il existait une variabilité très importante des symptômes (rénaux, auditifs et sanguins) d'un apparenté à l'autre. Cette observation suggère une influence importante d'autres facteurs génétiques et/ou d'environnement.

▼ **Le diagnostic moléculaire dans le syndrome d'Alport**

Il consiste à rechercher la mutation en cause. Mais ces études sont longues, car les gènes de collagène de type IV sont de très grande taille, et les mutations peuvent être localisées à n'importe quel niveau du gène. De plus, la démonstration directe de la mutation est encore difficile et, dans certaines familles, on ne retrouve pas la mutation en cause. Dans cette situation, on peut regarder, non pas les gènes, mais chercher à déterminer quels sont les chromosomes porteurs de ces gènes. Il peut être possible de déterminer lequel des deux chromo-

somes X ou lequel des deux chromosomes 2 est associé à la maladie, et ainsi savoir si un individu est porteur ou non de la mutation. Cette détermination n'est cependant pas possible dans toutes les familles.

Dans quelles circonstances fait-on un diagnostic moléculaire ?

Il se fait dans deux circonstances :
1° si après l'examen clinique, l'étude de l'arbre généalogique, l'étude de la biopsie rénale et de la biopsie cutanée, le diagnostic de syndrome d'Alport n'est pas certain. Ces cas sont assez rares.

2° si le patient ou des membres de sa famille ont besoin d'un conseil génétique (pour savoir si il ou elle peut transmettre la maladie ; pour savoir si il ou elle peut donner son rein pour une transplantation intra familiale ; pour savoir le risque de transmission à ses enfants ; pour pouvoir faire un diagnostic prénatal). On essaiera d'abord de définir le mode de transmission de la maladie (est-elle liée au chromosome X ou est-elle autosomique ?) en étudiant l'arbre généalogique afin de savoir quels chromosomes (chromosome X ou chromosome 2) et quels gènes étudier.

▼ **A-t-on progressé dans le traitement ?**

Il n'existe pas, à l'heure actuelle, de traitement spécifique de la maladie. Le rôle bénéfique de la Ciclosporine sur l'évolution de la maladie rénale avait été proposé après une étude portant sur un petit groupe de malades. Cet effet n'a pas été confirmé par d'autres équipes pour l'instant.

LES ÉCHOS DE LA RECHERCHE

SYNDROME D'ALPORT



Où en est la recherche ?

Plusieurs équipes dans le monde travaillent sur le syndrome d'Alport et le collagène de type IV. Outre l'amélioration des techniques de recherche de mutations, ces travaux ont pour objectifs principaux de comprendre :

- 1° pourquoi et comment la membrane basale comportant une chaîne de collagène défectueuse ou manquante s'abîme progressivement et quels sont les facteurs de progression de la maladie sur lesquels on pourrait intervenir avec des médicaments.
- 2° s'il sera possible d'introduire le gène normal dans les cellules rénales des patients et si cela corrigera la maladie (thérapie génique).

Les avancées récentes ont principalement été réalisées grâce aux travaux sur des modèles animaux de syndrome d'Alport. Les deux principaux sont un modèle de chiens (une famille de chiens de traîneaux) spontanément atteints de syndrome d'Alport lié au chromosome X et un modèle de souris génétiquement modifiées atteintes de syndrome d'Alport autosomique récessif.

L'étude des souris Alport par deux équipes américaines a permis de montrer qu'un certain nombre de

molécules, qui ne sont normalement pas présentes dans la membrane basale du glomérule, apparaissent progressivement dans les membranes basales glomérulaires des souris malades. Leur rôle dans la progression de la maladie reste à définir. Ces souris ont également permis de mettre en évidence le rôle de facteurs (facteurs de croissance comme le transforming growth factor beta ou de récepteurs de protéine de la matrice extra-cellulaire comme l'I-intégrine) dans la progression de la maladie. Lorsque l'on inactive ces molécules chez ces souris, on ralentit la progression de la maladie. Ce type d'inactivation moléculaire est très "large" (tous les tissus de l'organisme) et ne pourra être envisagé chez l'homme que lorsque l'on pourra cibler l'inactivation de ces molécules spécifiquement dans le rein.

En matière de thérapie génique, des **travaux récents chez le cochon normal** ont montré qu'en perfusant un rein (normal) avec une solution contenant le gène COL4A5 humain "emballé" dans un vecteur viral (un adénovirus "recombinant" obtenu par génie génétique), la chaîne de collagène codée par ce gène humain était exprimée dans la membrane basale glomérulaire des cochons. Notre équipe a pu montrer récem-

ment que l'expression d'un gène COL4A3 humain, intégré dans le génome de souris Alport, permettait une réorganisation normale du réseau de collagène dans les membranes basales des glomérules de ces souris et une guérison de la maladie.

L'étude de ces souris, sur le long terme, est en cours.

Des essais ont ensuite été réalisés par une équipe suédoise chez les chiens atteints de syndrome d'Alport, toujours par perfusion dans les vaisseaux du rein, d'une solution contenant le gène COL4A5 humain "recombinant". Ceci a permis de corriger les anomalies du réseau de collagène dans les membranes basales des glomérules de ces chiens. Le problème auquel les chercheurs sont actuellement confrontés est lié à "l'emballage" du gène, qui est nécessaire pour son transport et son expression. Les chiens traités développent des anticorps contre cet emballage, reconnu comme étranger, et le détruisent.

Il faut maintenant tester d'autres vecteurs pour exprimer les gènes de collagène.

Ces résultats représentent des avancées importantes, mais il reste encore beaucoup de travail et d'obstacles à surmonter.

**Retenez maintenant
les dates du samedi 21 et dimanche 22 juin 2003
pour participer aux journées annuelles
de l'AIRG à Toulouse.
Voir les modalités d'inscriptions en page 5.**