



Hugo Garcia

→ LA NÉPHRONOPHTISE

une pathologie rénale génétique rare de l'enfant et de l'adolescent

PAR HUGO GARCIA, SOPHIE SAUNIER - LABORATOIRE DES MALADIES RÉNALES HÉRÉDITAIRES
EQUIPE NÉPHRONOPHTISE - UMR1163 IHU IMAGINE INSTITUT DES MALADIES GÉNÉTIQUES
UNIVERSITÉ PARIS 5-RENÉ DESCARTES

La néphronophthise est une pathologie rénale génétique rare de l'enfant et de l'adolescent, touchant entre 1/50000 et 1/100000 naissances et conduisant à l'insuffisance rénale terminale (IRT), nécessitant un traitement par dialyse ou transplantation rénale. L'âge d'apparition de l'IRT est en moyenne à 12 ans dans sa forme la plus fréquente dite juvénile.

Il existe également des formes à révélation tardive (fin d'adolescence, jeune adulte) ainsi que des formes infantiles se révélant dans les premiers mois de vie, responsables d'une insuffisance rénale terminale avant l'âge de 3 ans (1).

C'est la première cause génétique d'insuffisance rénale terminale chez l'enfant, représentant environ 8% des cas en France. C'est une maladie à transmission autosomique récessive, c'est à dire que les 2 parents, non malades, vont transmettre chacun une mutation à leur enfant qui va développer la maladie (risque de 25%).

La maladie peut se révéler vers l'âge de 5-6 ans par une augmentation du volume d'urines et une soif augmentée. L'apparition d'une énurésie nocturne est fréquente. Souvent ce sont les conséquences de l'insuffisance rénale qui révèlent la maladie tel un retard de croissance, une anémie, une asthénie. L'insuffisance rénale est parfois découverte de manière fortuite sur une analyse de sang révélant l'augmentation de la créatinine, témoin d'un défaut de filtration des reins.

La néphronophthise peut être associée à des anomalies extra-rénales: oculaires (dégénérescence rétinienne), cérébrales (troubles des mouvements oculaires, retard psychomoteur), osseuses (étroitesse du thorax, anomalies des extrémités) ou hépatiques (fibrose, dilatations des canaux biliaires). Dans certains cas, le diagnostic peut être réalisé précocement alors que les reins ne sont pas encore atteints. En cas de manifestations rénales apparemment isolées, ces atteintes extra-rénales doivent être systématiquement recherchées.

L'analyse des reins par échographie met en évidence des petits reins hyperéchogènes et peut permettre dans certains cas de visualiser des kystes, le plus souvent de petite taille, à la jonction cortico-médullaire rénale.

Exceptionnellement, il pourra être proposé de réaliser une biopsie rénale (prélèvement de tissu à l'aide d'une aiguille à travers la peau) afin de préciser le diagnostic, avec la mise en évidence d'une fibrose de l'interstitium rénal et des lésions tubulaires.

La confirmation du diagnostic sera apportée par l'identification de deux mutations dans un des 20 gènes responsables identifiés à ce jour. Dans un quart des cas, on retrouve une délétion du gène NPHP1, le premier identifié en 1997 (2). En absence de cette délétion, des mutations d'autres gènes responsables sont recherchées, par exemple NPHP4, responsable de 10% des cas environ, NPHP2 responsable de formes infantiles (3), NPHP5 associé à des formes tardives avec atteinte oculaire systématique (4), ou encore les gènes du groupe IFT-A dans les formes associées à une atteinte osseuse.

Dans 40% des cas, aucune mutation pour les différents gènes répertoriés n'est retrouvée.

De nouvelles techniques de séquençage haut débit ont été développées et permettent désormais la recherche ciblée et simultanée de mutations sur plusieurs centaines de gènes incluant les 20 gènes de néphronophthise (puce ciliome) ou sur la totalité des gènes (exome) ce qui permet d'identifier de nouveaux gènes candidats.

A l'heure actuelle, il n'existe aucun traitement spécifique permettant de stopper ou ralentir l'évolution de la maladie vers l'insuffisance rénale terminale. Les traitements développés dans le cadre d'autres pathologies rénales telles les glomérulopathies sont le plus souvent inefficaces du fait de certaines particularités propres à la néphronophtise (absence d'hypertension et d'albuminurie chez la grande majorité des patients).

Les recherches menées sur le sujet depuis plus de 20 ans ont montré que cette maladie est une ciliopathie : la plupart des gènes mutés dans la néphronophtise codent pour des protéines qui vont se localiser ou participer au fonctionnement du cil primaire. Le cil est une antenne située à la surface de la quasi-totalité des cellules, qui capte les signaux présents dans le milieu extérieur. Dans le rein le cil joue un rôle clé au cours du développement mais aussi dans le fonctionnement et le maintien de l'intégrité du rein (voies de signalisation, polarité cellulaire). Le rôle du cil dans d'autres organes, tel que la rétine, par exemple explique les anomalies cliniques observées chez certains patients (5).

Il a également été démontré que plusieurs protéines impliquées dans la néphronophtise, les néphrocystines NPHP1 et NPHP4 en particulier, jouaient, en plus de leurs fonctions ciliaires, un rôle majeur dans l'architecture interne de la cellule (cytosquelette d'actine et réseau de microtubules) et dans les jonctions intercellulaires (rôle dans l'architecture globale du tubule rénal et dans ses fonctions de réabsorption) (6).

D'autre part, certaines formes de néphronophtise ont été associées à des anomalies de réparation des lésions de l'ADN, conduisant à une mort cellulaire précoce par apoptose des cellules tubulaires rénales (7).

Un des premiers axes de recherche dans le domaine est la poursuite de l'identification de nouveaux gènes de néphronophtise, puisque pour la moitié des patients, les causes génétiques ne sont pas connues : un gène candidat sera suspecté devant la présence de deux mutations dans ce gène chez un ou plusieurs patients.

On pourra alors confirmer l'implication de ce gène par l'existence d'anomalies au niveau cellulaire dans les modèles disponibles pour travailler sur cette maladie :

- modèles *in vitro* utilisant des cellules directement issues de patients (fibroblastes collectés par biopsie cutanée, cellules tubulaires rénales issues d'un recueil urinaire) ou des lignées cellulaires (animales ou humaines) spécifiquement inactivées pour les gènes de néphronophtise par utilisation de petits ARN interférants bloquant l'expression du gène ciblé ou plus récemment par la génération de lignées cellulaires mutantes par la technologie CRISPR-Cas9. L'étude de ces cellules en culture permet d'analyser l'influence de mutations sur la formation et la fonction du cil primaire (pourcentage de cellules ciliées, morphologie du cil), ainsi que des mécanismes plus complexes de formation d'épithélium ou de tubules rénaux en culture tridimensionnelle.
- modèles *in vivo* utilisant par exemple des larves transparentes de petits poissons (zebrafish) qui présentent des anomalies de croissance, des kystes au niveau des reins primitifs ou encore des anomalies oculaires et neurologiques en cas d'inactivation ou de mutation d'un gène de néphronophtise. Des modèles de souris KO invalidées pour les gènes de néphronophtise existent également. Ces souris développent des anomalies oculaires et rénales similaires à celles observées chez l'homme, par exemple la souris *jck* (orthologue de NPHP9), modèle de néphronophtise infantile.

Un autre axe de recherche est l'identification des mécanismes qui permettent d'expliquer le développement de lésions rénales (fibrose rénale, dilatations tubulaires) et d'autres organes en cas d'anomalies du cil primaire ou des jonctions cellulaires causées par les mutations des néphrocystines.

Ceci passe par l'étude des partenaires protéiques avec lesquels interagissent les protéines codées par les gènes impliqués, mais également par l'étude des altérations de signalisation cellulaire en aval du cil induites par leur inactivation (analyses transcriptomiques et protéomiques).

Enfin le développement des différents modèles cellulaires et animaux, l'identification des gènes et la compréhension des mécanismes impliqués permettent d'envisager le développement d'une thérapie efficace sur les cibles thérapeutiques identifiées.

Ainsi, plusieurs résultats encourageants ont été obtenus sur des modèles de néphronophtise infantile (mutations des orthologues de NPHP3 et NPHP9) chez la souris, avec une réduction de la formation de kystes rénaux par des traitements inhibiteurs de kinase cycline dépendante ou

calcimimétiques ciblant le développement kystique (prolifération cellulaire en particulier) (8).

Des travaux sont également en cours pour identifier des thérapeutiques spécifiques à la néphronophtise juvénile, qui se caractérise par l'importance de la fibrose rénale et la rareté des kystes.

Dans ce cadre, une stratégie de criblage de molécules déjà disponibles cliniquement a été mise en place au laboratoire, en utilisant différents modèles cellulaires *in vitro* (ciliogénèse, culture 3D) de cellules tubulaires rénales de patient isolées à partir de leurs urines et un modèle *in vivo* de poisson-zèbre invalidé pour NPHP4. ■



Références

1. Salomon R, et al. Nephronophthisis. *Pediatr Nephrol.* 2009 Dec;24(12):2333-44.
2. Saunier S, et al. A novel gene that encodes a protein with a putative src homology 3 domain is a candidate gene for familial juvenile nephronophthisis. *Hum Mol Genet.* 1997 Dec;6(13):2317-23.
3. Otto EA, et al. Mutations in INVS encoding inversin cause nephronophthisis type 2, linking renal cystic disease to the function of primary cilia and left-right axis determination. *Nat Genet.* 2003 Aug;34(4):413-20.
4. Otto EA, et al. Nephrocystin-5, a ciliary IQ domain protein, is mutated in Senior-Loken syndrome and interacts with RPGR and calmodulin. *Nat Genet.* 2005 Mar;37(3):282-8.
5. Hildebrandt F, et al. Ciliopathies. *N Engl J Med.* 2011 Apr 21;364(16):1533-43.
6. Mollet G, et al. Characterization of the nephrocystin/nephrocystin-4 complex and subcellular localization of nephrocystin-4 to primary cilia and centrosomes. *Hum Mol Genet.* 2005 Mar 1;14(5):645-56.
7. Grampa V, et al. Novel NEK8 Mutations Cause Severe Syndromic Renal Cystic Dysplasia through YAP Dysregulation. *PLoS Genet.* 2016 Mar 11;12(3):e1005894
8. Bukanov NO, et al. Long-lasting arrest of murine polycystic kidney disease with CDK inhibitor roscovitine. *Nature.* 2006 Dec 14;444(7121):949-52.