

RÔLE DES FACTEURS GÉNÉTIQUES DANS LA PROGRESSION DE L'IRC

DOMINIQUE JOLY

Service de Néphrologie,
Hôpital Necker

Dans une vaste étude de population Nord Américaine, environ 20% des dialysés avaient un apparenté du premier ou du second degré atteint d'insuffisance rénale terminale. Cette forte agrégation des cas familiaux d'IRCT dépassait largement le cadre des maladies monogéniques clairement identifiées comme héréditaires ; elle était plus marquée chez les patients les plus jeunes ; enfin, elle persistait indépendamment des cas de diabète ou d'hypertension artérielle ⁽¹⁾. Ces données, confirmées par d'autres équipes, suggèrent que des facteurs familiaux encore inconnus favorisent les maladies rénales chroniques et/ou leur évolution vers le stade terminal ^{(2) (3)}. Il faut toutefois noter que ces observations ne permettent pas de déterminer les contributions relatives des facteurs génétiques et des facteurs environnementaux.

Le rôle des facteurs génétiques dans la progression de l'IRC peut en théorie être appréhendée de deux façons : transcriptomique et brièvement évoquée ci-dessous) ou génomique et à laquelle nous consacrerons l'essentiel de cette revue.

TRANSCRIPTOMIQUE DE LA MRC

Les stratégies comparant les profils d'expression génique (mRNA, protéines) de reins pathologiques et de reins normaux permettent d'identifier un profil transcriptomique associé aux maladies rénales chroniques (MRC) et à leur progression ⁽⁴⁾. Ce type d'analyse a récemment permis à une équipe d'établir pour un modèle murin de MRC un profil transcriptomique bien corrélé à la sévérité de la progression de l'insuffisance rénale ; dans un second temps, le profil prédictif d'une MRC progressive a été transposé avec succès chez l'homme, grâce à une analyse des transcrits de gènes orthologues humains effectuée sur biopsie rénale ⁽⁵⁾. Ces études de transcriptome tissulaire sont déjà utilisées dans certains cas en oncologie et permettent de préciser le pronostic et de guider la thérapeutique. Leur utilisation en néphrologie est plus incertaine car la composition du tissu rénal est potentiellement hétérogène (zones fibreuses, zones inflammatoires), aboutissant à des erreurs d'échantillonnage ; de plus la majorité des patients atteints d'IRC ne bénéficient pas d'une biopsie rénale, ce qui invite à considérer plus avant dans les années à venir la transcriptomique urinaire.

GÉNOMIQUE DE LA MRC

L'avantage des facteurs génétiques est leur stabilité : hérités à la conception de l'individu, ils ne sont pas modifiés ultérieurement. La contribution de la génomique d'un individu à la progression des maladies rénales chroniques est bien entendu variable. Les maladies rénales peuvent être classifiées dans trois catégories selon l'implication ou non de facteurs génétiques ; schématiquement, les maladies monogéniques sont causées par la mutation d'un gène (mutation du gène PKD1 ou du gène PKD2 dans la polykystose rénale par exemple). Par opposition, les maladies non génétiques sont le fait exclusif de facteurs environnementaux et surviennent de façon accidentelle (par exemple intoxication, traumatisme). Enfin, la grande majorité des maladies rénales peut être considérée comme multifactorielle ; leur apparition et leur progression sont liées à l'interaction de multiples facteurs génétiques et de facteurs environnementaux.

POLYMORPHISMES GÉNÉTIQUES

Les facteurs génétiques que nous évoquons ici ne sont habituellement pas des mutations d'un seul gène, mais le plus souvent des polymorphismes de multiples gènes. Les polymorphismes sont habituellement définis comme présents dans > 1% de la population, c'est à dire relativement fréquents. Ils peuvent se trouver dans les régions codantes ou non codantes du gène. Le type de polymorphisme le plus fréquent est le changement d'un seul nucléotide (paire de bases) dans la séquence d'ADN, appelé SNP (single nucléotide polymorphism). Les projets HapMap et le séquençage du génome ont permis d'identifier de très nombreux SNP et d'estimer leur nombre total dans le génome humain à plus de 11 millions ⁽⁶⁾. D'autres polymorphismes existent : insertions ou délétions de nucléotides, répétitions de séquences nucléotidiques (doublets, triplets), larges délétions d'ADN.... Certains polymorphismes affectent la quantité et/ou la fonction de la protéine native du gène et sont appelés « polymorphismes fonctionnels ». Chacun des polymorphismes a isolément un effet limité sur le phénotype ; le gène incriminé dont il dérive est appelé « gène de susceptibilité ».

DÉTECTION DES GÈNES IMPLIQUÉS DANS LA PROGRESSION DES MRC

Pour identifier les gènes de susceptibilité impliqués dans les MRC, plusieurs choix doivent être faits : phénotype, population, approche génétique.

- A quel phénotype confronter le profil génomique d'un individu ? Les traits phénotypiques dans les MRC sont soit dichotomiques (individu atteint versus individu non atteint), soit continus (évolution du DFG ou degré d'albuminurie).

- Quelle population étudier ? Les facteurs qui initient la MRC ne sont pas nécessairement les mêmes que ceux qui favorisent sa progression. Les facteurs initiateurs sont difficiles à identifier, car il faut en théorie faire l'étude avant l'apparition de la pathologie. Les facteurs de progression sont plus aisés à étudier car la maladie a été identifiée et on peut rapporter les éléments génétiques à divers paramètres (PA, protéinurie, déclin du DFG).
- Quels gènes rechercher ? L'approche « gène candidat » détermine l'association entre un marqueur polymorphe contenu dans ou proche d'un gène d'intérêt (marqueur intra- ou juxta-génique) et le phénotype étudié. L'approche pangénomique (« genome wide ») a le potentiel de localiser des gènes préalablement inconnus et/ou insoupçonnés : plusieurs centaines voire milliers de SNP, véritables marqueurs microsatellites hautement polymorphes couvrent l'ensemble du génome et sont confrontés au phénotype étudié.

VALIDITÉ DES RÉSULTATS

L'interprétation des résultats d'association entre un gène et une maladie doit être prudente. Il existe en effet un risque d'erreur de type 1 si de très nombreux tests statistiques ont été effectués, amenant à détecter « par chance » une association qui n'existe pas (par exemple sur 1000 SNP testés au seuil de $p < 0.05$, on peut s'attendre à ce qu'environ 50 SNP soient positivement associés à la maladie de façon erronée). L'erreur de type 2 consiste à méconnaître une association existante du fait d'un échantillon de taille trop limitée ; ce phénomène est d'autant plus net que, dans le cas des maladies polygéniques, la contribution d'un seul gène au phénotype est limitée, avec des odds ratio habituellement compris entre 1.2 et 1.6 ⁽⁷⁾. Pour éviter les erreurs de types 1 et 2 dans ces études d'association, la participation de plusieurs milliers de patients et contrôles et un seuil de significativité de l'ordre de $p < 10^{-6}$ sont considérés actuellement comme indispensables ⁽⁸⁾.

D'autres facteurs confondants et biais sont fréquents. Si un variant génétique est plus fréquemment retrouvé en association avec le phénotype, une association causale est possible, mais pas absolument certaine : en effet un déséquilibre de liaison avec un autre gène très proche et lui-même réellement causal est possible ; dans ce cas, la proximité entre le marqueur et le fautif est un facteur confondant. D'autre part, il faut idéalement valider le résultat obtenu au sein de la population d'étude à l'aide d'une seconde population indépendante ayant les mêmes caractéristiques phénotypiques : cette étape de « cross-validation » manque hélas dans la majorité des études de corrélation génotype-phénotype ⁽⁹⁾.

QUELQUES EXEMPLES ISSUS DES STRATÉGIES « GÈNE-CANDIDAT »

On dit volontiers qu'un faible nombre de patients atteints de MRC progressent vers le stade terminal, et que les causes de MRC ont un impact moins grand sur la progression que la protéinurie ou le niveau de pression artérielle. Ces assertions laissent penser qu'une « voie effectrice commune » pourrait être le déterminant majeur de la progression des MRC. Comme on le voit dans le tableau 1, les acteurs du SRAA (système rénine-angiotensine-aldostérone), les cytokines et les médiateurs vasoactifs ont fait l'objet de la majorité des publications dans le domaine :

- Le polymorphisme insertion/délétion (I/D) de l'ACE (enzyme de conversion de l'angiotensine) détermine la concentration d'ACE dans le sérum et les tissus. Le génotype DD est associé à des concentrations plus élevées d'ACE et a été associé dans différentes études à (i) un risque accru d'apparition d'une néphropathie diabétique ^{(10) (11)}, (ii) une progression plus rapide de l'IRC liée à une néphropathie diabétique ou non diabétique ^{(12, 13) (14)}.
- Le polymorphisme de AGT-6 A/A, situé dans la région promotrice de l'angiotensinogène, a pour sa part été associé à un risque accru de progression de la MRC dans une vaste population Afro-américaine ⁽¹⁵⁾.
- Les polymorphismes du récepteur à l'angiotensine AT1R C/C et A/C ont été associés à un risque accru de progression vers l'IRCT dans une vaste population d'adultes européens ⁽¹⁶⁾.
- L'équilibre entre cytokines pro- inflammatoires (IL-1) et anti-inflammatoires (IL1-ra) est probablement important dans le déterminisme de la sévérité des lésions rénales prolifératives et fibreuses. Le polymorphisme IL-1RN2 est associé à une production réduite d'IL1-ra et à une progression plus rapide des glomérulonéphrites et des néphropathies diabétiques ainsi qu'à un risque accru d'IRCT ⁽¹⁷⁾.
- La cytokine TGF- β a un rôle clé dans le développement des anomalies structurales rénales telles que l'hypertrophie et l'accumulation de matrice extracellulaire dans le diabète. Deux polymorphismes distincts ont été associés à un phénotype sévère de néphropathie à IgA (protéinurie, prolifération mésangiale) ⁽¹⁸⁾ et à une morbidité cardiovasculaire accrue chez les dialysés ⁽¹⁹⁾. L'association de ces polymorphismes au phénotype de progression n'est toutefois pas précisément déterminée. On sait cependant de longue date qu'une expression rénale accrue de TGF- β est corrélée à une dégradation plus rapide de la fonction rénale ⁽²⁰⁾.
- Les allèles epsilon-2 et epsilon-4 de l'apolipoprotéine E sont associés à des profils respectivement néfastes et bénéfiques de cholestérol et de triglycérides. Dans une analyse secondaire de la cohorte ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities Study, 14 500 patients suivis 14 ans en médiane), l'allèle epsilon-4 (fréquence 0.3) est associé à une réduction du risque de progression des MRC de 15% ⁽²¹⁾.

EXEMPLES ISSUS D'UNE STRATÉGIE PANGÉNOMIQUE

Le consortium CHARGE (Cohorts for Heart and Aging Research in Genetic Epidemiology) a récemment rapporté une étude pangénomique associant des marqueurs polymorphes nucléotidiques (SNP) à l'existence, à la sévérité ou à l'apparition d'une maladie rénale chronique. La population étudiée comprenait 19 877 sujets issus de 4 cohortes prospectives, et comprenait 2 000 cas de maladie rénale chronique, dont certaines « incidentes », c'est-à-dire survenues durant le suivi prospectif. Les résultats du consortium CHARGE sont d'autant plus robustes que les associations identifiées ont été validées dans un échantillon de population indépendant ⁽²²⁾.

Un des résultats les plus intéressants du consortium CHARGE concerne le gène UMOD. Jusqu'à présent, UMOD était connu pour coder pour l'uromoduline (ou protéine de Thamm-Horsfall) et on savait que les mutations de cette protéine tubulaire expliquent les rares cas de néphropathies tubulo-interstitielles chroniques familiales autosomiques dominantes (néphropathie hyperuricémique familiale, maladie kystique de la médullaire de type 2). Le consortium CHARGE a montré qu'un variant génétique au sein du gène UMOD (rs4293393, allèle mineur de fréquence 0.18) est associé au phénotype « maladie rénale chronique » et à une partie de la variance du DFG (moins de 1%) dans cette vaste population ⁽²²⁾. Les auteurs ont ultérieurement montré que l'allèle rs4293393 d'UMOD modulait la concentration urinaire d'uromoduline, et que des taux élevés d'uromoduline urinaire précédaient la survenue d'une maladie rénale chronique (définie par un DFG estimé devenant $< 60 \text{ ml/mn}/1.73\text{m}^2$), grâce à un suivi prospectif prolongé des cohortes Framingham et ARIC ⁽²³⁾.

D'autres gènes aux fonctions encore inconnues (SHROOM3, STC1, SPATA5L1) ont été dans la même étude associés à la fonction rénale et mériteront des études additionnelles ⁽²²⁾.

PERSPECTIVES

La MRC est un modèle particulièrement complexe de maladie multifactorielle. Certains gènes de susceptibilité déjà connus influencent les réponses immunitaire et inflammatoire, l'apparition de la fibrose et le développement de lésions vasculaires ou ischémiques. D'autres gènes inattendus ou encore inconnus permettront peut-être de mieux comprendre les mécanismes d'initiation et de progression des MRC. Cependant, malgré une somme assez conséquente de résultats, aucun polymorphisme génétique n'est actuellement utilisé en pratique courante en tant qu'outil diagnostique ou thérapeutique ⁽²⁴⁾.

Le premier défi est de pouvoir, à partir de multiples polymorphismes dont l'effet est individuellement modeste, parvenir à établir un « profil génétique » suffisamment précis pour être utilisable à l'échelon d'un individu atteint de MRC. Ce profil pourrait signaler un risque particulier et/ou motiver une stratégie thérapeutique mieux adaptée. Le second défi est de comprendre comment les facteurs environnementaux modulent les effets des prédispositions génétiques aux maladies rénales chroniques.

Relever ces défis suppose de larges effectifs de patients, un vaste effort collaboratif multidisciplinaire et une analyse informatique puissante.

Tableau 1.

Principaux gènes ayant un ou plusieurs polymorphismes associés à un phénotype rénal (apparition d'une néphropathie, sévérité, progression, mortalité)

Système rénine-angiotensine :

- ACE (enzyme de conversion de l'angiotensine)
- AGT (angiotensinogène)
- ATR1 (récepteur de l'angiotensine de type 1)

Facteurs de croissance et cytokines :

- TGF- β (transforming growth factor β)
- TNF- α (tumor necrosis factor α)
- VEGF (vascular endothelial growth factor)
- IL-1, IL2, IL4, IL6, IL10 (interleukines)
- IL-1ra (interleukine-1 récepteur antagonise)
- RANTES (Regulated on Activation Normal T Expressed and Secreted, également appelé CCL5).
- PPAR gamma et PPAR gamma 2 (peroxysome proliferator activated receptor)
- CCR2 et CCR5 (chemokine receptor 2 et 5)

Médiateurs vasoactifs :

- NOS (oxyde nitrique synthétase)
- EDN (endothéline)
- MTHFR (méthylène-tetra-hydro-folate réductase)
- Apolipoprotéine E

Divers :

- MYH9 (chaîne lourde de type A de la myosine non-musculaire)
- UMOD (uromoduline)
- Hémoglobine

Bibliographie

1. *Lei, HH, Perneger, TV, Klag, MJ, Whelton, PK, Coresh, J: Familial aggregation of renal disease in a population-based case-control study. J Am Soc Nephrol 1998, 9:1270-1276*
2. *Satko, SG, Sedor, JR, Iyengar, SK, Freedman, BI: Familial clustering of chronic kidney disease. Semin Dial 2007, 20:229-236*
3. *Freedman, BI, Volkova, NV, Satko, SG, Krisher, J, Jurkovitz, C, Soucie, JM, McClellan, WM: Population-based screening for family history of end-stage renal disease among incident dialysis patients. Am J Nephrol 2005, 25:529-535*
4. *Henger, A, Kretzler, M, Doran, P, Bonrouhi, M, Schmid, H, Kiss, E, Cohen, CD, Madden, S, Porubsky, S, Grone, EF, Schlondorff, D, Nelson, PJ, Grone, HJ: Gene expression fingerprints in human tubulointerstitial inflammation and fibrosis as prognostic markers of disease progression. Kidney Int 2004, 65:904-917*
5. *Ju, W, Eichinger, F, Bitzer, M, Oh, J, McWeeney, S, Berthier, CC, Shedden, K, Cohen, CD, Henger, A, Krick, S, Kopp, JB, Stoeckert, CJJ, Dikman, S, Schroppel, B, Thomas, DB, Schlondorff, D, Kretzler, M, Bottinger, EP: Renal gene and protein expression signatures for prediction of kidney disease progression. Am J Pathol 2009, 174:2073-2085*
6. *A haplotype map of the human genome. Nature 2005, 437:1299-1320*
7. *Ioannidis, JP, Trikalinos, TA, Khoury, MJ: Implications of small effect sizes of individual genetic variants on the design and interpretation of genetic association studies of complex diseases. Am J Epidemiol 2006, 164:609-614*
8. *Wang, WY, Barratt, BJ, Clayton, DG, Todd, JA: Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. Nat Rev Genet 2005, 6:109-118*
9. *Chenock, SJ, Manolio, T, Boehnke, M, Boerwinkle, E, Hunter, DJ, Thomas, G, Hirschhorn, JN, Abecasis, G, Altshuler, D, Bailey-Wilson, JE, Brooks, LD, Cardon, LR, Daly, M, Donnelly, P, Fraumeni, JFJ, Freimer, NB, Gerhard, DS, Gunter, C, Guttmacher, AE, Guyer, MS, Harris, EL, Hoh, J, Hoover, R, Kong, CA, Merikangas, KR, Morton, CC, Palmer, LJ, Phimister, EG, Rice, JP, Roberts, J, Rotimi, C, Tucker, MA, Vogan, KJ, Wacholder, S, Wijsman, EM, Winn, DM, Collins, FS: Replicating genotype-phenotype associations. Nature 2007, 447:655-660*

10. Hadjadj, S, Tarnow, L, Forsblom, C, Kazeem, G, Marre, M, Groop, PH, Parving, HH, Cambien, F, Tregouet, DA, Gut, IG, Theva, A, Gauguier, D, Farrall, M, Cox, R, Matsuda, F, Lathrop, M, Hager-Vionnet, N: Association between angiotensin-converting enzyme gene polymorphisms and diabetic nephropathy: case-control, haplotype, and family-based study in three European populations. *J Am Soc Nephrol* 2007, 18:1284-1291
11. Boright, AP, Paterson, AD, Mirea, L, Bull, SB, Mowjoodi, A, Scherer, SW, Zinman, B: Genetic variation at the ACE gene is associated with persistent microalbuminuria and severe nephropathy in type 1 diabetes: the DCCT/EDIC Genetics Study. *Diabetes* 2005, 54:1238-1244
12. McLaughlin, KJ, Harden, PN, Ueda, S, Boulton-Jones, JM, Connell, JM, Jardine, AG: The role of genetic polymorphisms of angiotensin-converting enzyme in the progression of renal diseases. *Hypertension* 1996, 28:912-915
13. Samuelsson, O, Attman, PO, Larsson, R, Mulec, H, Rymo, L, Weiss, L, Ricksten, A: Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism in non-diabetic renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2000, 15:481-486
14. Vleming, LJ, van der Pijl, JW, Lemkes, HH, Westendorp, RG, Maassen, JA, Daha, MR, van Es, LA, van Kooten, C: The DD genotype of the ACE gene polymorphism is associated with progression of diabetic nephropathy to end stage renal failure in IDDM. *Clin Nephrol* 1999, 51:133-140
15. Hsu, CC, Bray, MS, Kao, WH, Pankow, JS, Boerwinkle, E, Coresh, J: Genetic variation of the renin-angiotensin system and chronic kidney disease progression in black individuals in the atherosclerosis risk in communities study. *J Am Soc Nephrol* 2006, 17:504-512
16. Buraczynska, M, Ksiazek, P, Drop, A, Zaluska, W, Spasiewicz, D, Ksiazek, A: Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2006, 21:979-983
17. Buraczynska, M, Ksiazek, P, Kubit, P, Zaluska, W: Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism affects the progression of chronic renal failure. *Cytokine* 2006, 36:167-172
18. Sato, F, Narita, I, Goto, S, Kondo, D, Saito, N, Ajiro, J, Saga, D, Ogawa, A, Kadomura, M, Akiyama, F, Kaneko, Y, Ueno, M, Sakatsume, M, Gejyo, F: Transforming growth factor-beta1 gene polymorphism modifies the histological and clinical manifestations in Japanese patients with IgA nephropathy. *Tissue Antigens* 2004, 64:35-42

19. Rao, M, Guo, D, Jaber, BL, Tighiouart, H, Pereira, BJ, Balakrishnan, VS: Transforming growth factor-beta 1 gene polymorphisms and cardiovascular disease in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2004, 66:419-427
20. August, P, Suthanthiran, M: Transforming growth factor beta and progression of renal disease. *Kidney Int Suppl* 2003, S99-104
21. Hsu, CC, Kao, WH, Coresh, J, Pankow, JS, Marsh-Manzi, J, Boerwinkle, E, Bray, MS: Apolipoprotein E and progression of chronic kidney disease. *JAMA* 2005, 293:2892-2899
22. Kottgen, A, Glazer, NL, Dehghan, A, Hwang, SJ, Katz, R, Li, M, Yang, Q, Gudnason, V, Launer, LJ, Harris, TB, Smith, AV, Arking, DE, Astor, BC, Boerwinkle, E, Ehret, GB, Ruczinski, I, Scharpf, RB, Ida Chen, YD, de Boer, IH, Haritunians, T, Lumley, T, Sarnak, M, Siscovick, D, Benjamin, EJ, Levy, D, Upadhyay, A, Aulchenko, YS, Hofman, A, Rivadeneira, F, Uitterlinden, AG, van Duijn, CM, Chasman, DI, Pare, G, Ridker, PM, Kao, WH, Witteman, JC, Coresh, J, Shlipak, MG, Fox, CS: Multiple loci associated with indices of renal function and chronic kidney disease. *Nat Genet* 2009,
23. Kottgen, A, Hwang, SJ, Larson, MG, Van Eyk, JE, Fu, Q, Benjamin, EJ, Dehghan, A, Glazer, NL, Kao, WH, Harris, TB, Gudnason, V, Shlipak, MG, Yang, Q, Coresh, J, Levy, D, Fox, CS: Uromodulin levels associate with a common UMOD variant and risk for incident CKD. *J Am Soc Nephrol* 2010, 21:337-344
24. Kronenberg, F: Emerging risk factors and markers of chronic kidney disease progression. *Nat Rev Nephrol* 2009, 5:677-689