

La phosphatonine : un lien entre hypophosphatémies familiales et ostéomalacies tumorales ?

Le phosphate joue un rôle majeur dans le métabolisme cellulaire et est indispensable à la minéralisation de l'os où on le trouve sous forme de cristaux d'hydroxyapatite et de phosphate de calcium. La concentration plasmatique en phosphate dépend de ses entrées digestives dans l'organisme, des échanges de phosphate entre les différents secteurs dont l'os, et surtout de son excrétion rénale. De nombreux facteurs hormonaux, en tout premier lieu la parathormone (PTH) et la 1-25(OH)₂ vitamine D₃, mais aussi paracrines et autocrines, sont impliqués dans l'homéostasie du phosphate. L'identification des co-transporteurs sodium-phosphate du rein, responsables de la réabsorption rénale du phosphate, a permis des avancées majeures dans la compréhension des mécanismes contrôlant l'excrétion rénale du phosphate [1]. Cependant, de nombreux points restent encore non résolus. En particulier, l'étude de certaines formes d'hypophosphatémies familiales isolées (rachistismes vitamino-résistants héréditaires) et des modèles murins d'hypophosphatémie (souris *hyp*), ainsi que l'existence d'ostéomalacie associée à certaines tumeurs, avaient permis d'envisager l'existence d'un facteur phosphaturique circulant. Ce facteur, qui fut nommé phosphatonine, serait distinct de la PTH mais reste encore à ce jour inconnu.

Les hypophosphatémies familiales isolées, liées à l'X ou de transmission autosomique dominante ou récessive, sont dues à une perte rénale de phosphate qui est responsable de caractéristiques cliniques, petite taille et déformations osseuses, semblables à celles que l'on observe dans les carences en vitamine D [2]. Elles sont associées à des taux de 1-25

(OH)₂ vitamine D₃ diminués ou normaux. Jusqu'à présent aucune liaison de ces maladies avec le locus du gène codant pour le co-transporteur sodium-phosphate n'a été observée.

Le gène responsable de l'hypophosphatémie familiale liée à l'X (XLH) a été découvert en 1995 grâce au travail collaboratif de nombreuses équipes (*The HYP consortium*) [3]. Localisé en Xp22, ce gène fut nommé *PEX*, puis *PHEX* afin d'éviter toute confusion avec les protéines péroxisomales. Il code pour une endopeptidase membranaire possédant un domaine cytoplasmique amino-terminal très court, un domaine transmembranaire et un long domaine extracellulaire. La protéine contient un domaine très conservé de liaison pour le zinc, la classant ainsi parmi les métalloprotéases à zinc. Elle est fortement exprimée dans l'os (notamment par les ostéoblastes) et les dents, mais on la retrouve aussi dans le poumon, le cerveau, les muscles, et les gonades. Les mutations observées sont très variables d'une famille à l'autre et sont probablement responsables d'une perte de fonction de la protéine. La question se posait donc de comprendre comment les mutations du gène *PHEX* pouvaient conduire à ce phénotype de perte rénale de phosphate et donc au rachistisme. L'étude des souris *Hyp*, l'homologue murin de la maladie humaine dont le gène *Phex* a une large délétion de sa région 3', permit d'avancer quelques hypothèses [4]. En effet, si ces souris ont bien un déficit du transporteur de phosphate dépendant du sodium dans le rein, ce défaut ne semble pas intrinsèque mais induit par un facteur circulant phosphaturique. Les expériences de parabiose entre une souris *hyp* et une souris normale révélèrent en effet que la souris normale devient

phosphaturique [5]. Il en est de même quand un rein normal est transplanté à une souris *Hyp*, l'excrétion rénale de phosphate dans le rein transplanté augmentant de façon considérable [6]. Enfin, les ostéoblastes de ces souris sécrètent un facteur inhibant le co-transport Na-Phosphate [7]. L'hypothèse alors formulée était celle d'un rôle normal de *PHEX* dans la dégradation d'un facteur inhibiteur du transport de phosphate. Ainsi les mutations du gène *PHEX* conduiraient à une augmentation de ce facteur circulant, accroissant ainsi l'excrétion rénale des phosphates (*figure 1*).

Il existe un autre argument pour l'existence d'un facteur circulant inhibant le transport du phosphate : la description d'ostéomalacies hypophosphatémiques acquises, associées à certaines tumeurs [4]. On observe chez ces patients une hypophosphatémie, une diminution de la réabsorption rénale des phosphates et un taux de 1-25(OH)₂vitamine D diminué ou normal, anomalies bien similaires à celles qui sont observées dans les hypophosphatémies familiales isolées. La différence essentielle est la disparition des anomalies cliniques, biologiques et radiologiques, avec l'ablation complète de la tumeur. Or, un milieu de culture conditionné par ces tumeurs inhibe le transport de phosphate dans une lignée cellulaire rénale. Il semblait donc que les tumeurs responsables de ce syndrome d'ostéomalacie sécrètent ce facteur, la phosphatonine. Les études ultérieures permirent de dégager un consensus sur les critères permettant de définir la phosphatonine : cette protéine a un poids moléculaire inférieur à 25 kDa, est thermolabile, inhibe le transport rénal des phosphates et la production de 1-25(OH)₂D₃ aussi bien *in vitro*

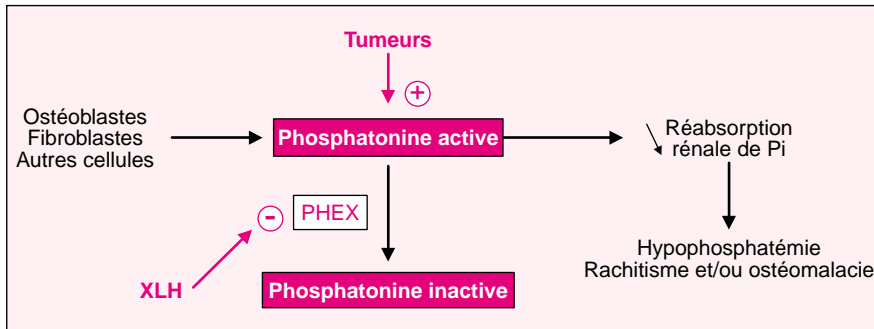


Figure 1. Rôle présumé de la phosphatonine dans l'homéostasie du phosphate. La phosphatonine serait un facteur circulant, synthétisé et sécrété notamment par les ostéoblastes, qui agirait au niveau du rein pour inhiber la réabsorption rénale du phosphate. Elle serait clivée et inactivée par PHEX, une endopeptidase membranaire. L'augmentation des taux de phosphatonine serait responsable d'hypophosphatémie : celle-ci pourrait être due à des mutations inactivatrices de PHEX dans les hypophosphatémies familiales liées à l'X (XLH) ou à une augmentation de la synthèse de phosphatonine (ostéomalacies tumorales).

qu'*in vivo*, est exprimée dans les tumeurs responsables du syndrome d'ostéomalacie et circule à des concentrations élevées dans le sérum des patients atteints.

Plusieurs candidats phosphatonine ont été identifiés, mais aucun, jusqu'à présent, n'a encore pleinement satisfait tous les critères énoncés. Un de ces candidats a été découvert par le consortium ADHR (hypophosphatémie familiale de transmission autosomique dominante) en étudiant quatre familles de patients atteints [8]. Après avoir localisé l'intervalle génétique en 12p13, les auteurs ont bénéficié comme c'est maintenant de plus en plus fréquemment le cas, des données du séquençage public pour identifier le gène en cause. Ce nouveau gène, qui appartient à la famille des *fibroblast growth factor* (FGF), a été nommé *FGF23*. Il n'est exprimé que très faiblement dans le cœur, le foie, la thyroïde et les parathyroïdes. La protéine de 251 acides aminés, dont un peptide signal présumé, possède 25 à 35 % d'homologie avec les autres membres de la famille des FGF, et a un poids moléculaire présumé de 25 kDa. De façon remarquable, seules trois mutations ont été observées dans ces quatre familles non apparentées : il s'agit de mutations faux sens touchant deux arginines qui sont localisées à une distance de trois acides aminés et sont conservées chez la souris. Les auteurs suggèrent que ces mutations pour-

raient bien être responsables d'un gain de fonction de la protéine, et il était dès lors bien tentant de regarder si le *FGF23* était exprimé dans des tumeurs responsables d'ostéomalacie. C'est effectivement le cas. Le *FGF23* est non seulement exprimé très abondamment dans les six tumeurs analysées, mais, après transfection transitoire de l'ADNc dans différents types cellulaires, la protéine est aussi sécrétée dans le milieu de culture [9]. Si ces résultats sont certes prometteurs, la boucle n'est pas pour autant bouclée. Pour prouver que *FGF23* et phosphatonine sont vraiment une seule et même protéine, plusieurs points essentiels restent à montrer : (1) l'inhibition du transport rénal des phosphates par le *FGF23*; (2) le clivage et l'inactivation de la protéine par PHEX; (3) le gain de fonction des mutations du gène *FGF23* dans l'ADHR; (4) l'association des XLH à une augmentation du *FGF23* circulant.

Il n'y a donc pas actuellement de certitude sur l'identité de la phosphatonine, d'autant plus qu'il existe d'autres candidats. Ainsi, le gène *MEPE* (pour *matrix extracellular phosphoglycoprotein*) a été récemment identifié par Rowe *et al.* à partir de tumeurs responsables d'ostéomalacie. Il code pour une protéine qui présente des similitudes avec les glycoprotéines de la matrice osseuse, possède un peptide signal, est exprimée dans la moelle osseuse, et bien évidemment très for-

tement exprimée dans les tumeurs analysées [10]. La stanniocalcine 2, qui fut initialement identifiée chez le poisson et semble impliquée dans l'homéostasie du phosphate, est aussi une phosphoprotéine sécrétée par les cellules de fibrosarcomes humains [11]. On ne peut donc pas exclure l'existence de plusieurs facteurs qui agiraient, de façon intégrée ou non, dans l'homéostasie du phosphate. La caractérisation précise de leurs fonctions biologiques, ainsi que l'identification des substrats de PHEX, permettront probablement d'éclaircir la physiopathologie de ces différents syndromes de perte rénale de phosphate et de vérifier si l'hypothèse uniciste de la phosphatonine s'avère exacte.

1. Murer H, Hernando N, Forster I, Biber J. Proximal tubular phosphate reabsorption: molecular mechanisms. *Physiol Rev* 2000; 80: 1373-409.
2. Evans MJ. New insight into the pathogenesis of inherited phosphate wasting disorders. *Bone* 1999; 25: 131-5.
3. The HYP Consortium. A gene (PEX) with homologies to endopeptidases is mutated in patients with X-linked hypophosphatemic rickets. *Nat Genet*. 1995; 11: 130-6.
4. Kumar R Tumor-induced osteomalacia and the regulation of phosphate homeostasis. *Bone* 2000; 27: 333-8.
5. Meyer RA, Tenenhouse HS, Meyer MH, Klugerman AH. The renal phosphate transport defect in normal mice parabiosed to X-linked hypophosphatemic mice persists after parathyroidectomy. *J Bone Miner Res* 1989; 4: 523-32.
6. Nesbitt T, Coffman TM, Griffiths R, Drezner MK. Crosstransplantation of kidneys in normal and Hyp mice. Evidence that the Hyp mouse phenotype is unrelated to an intrinsic renal defect. *J Clin Invest* 1992; 89: 1453-9.
7. Lajeunesse D, Meyer RA, Hamel L. Direct demonstration of a humorally-mediated inhibition of renal phosphate transport in the Hyp mouse. *Kidney Int* 1996; 50: 1531-8.
8. Autosomal dominant hypophosphatemic rickets is associated with mutations in *FGF23*. The ADHR Consortium. *Nat Genet* 2000; 26: 345-8.
9. White KE, Jonsson KB, Carn G, *et al.* 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.
10. Rowe PS, de Zoysa PA, Dong R, *et al.* MEPE, a new gene expressed in bone marrow and tumors causing osteomalacia. *Genomics* 2000; 67: 54-68.
11. Jellinek DA, Chang AC, Larsen MR, Wang X, Robinson PJ, Reddel RR. Stanniocalcin 1 and 2 are secreted as phosphoproteins from human fibrosarcoma cells. *Biochem J* 2000; 350: 453-61.

Pascal Borensztein

Inserm U. 474, Maternité Port-Royal, 123, boulevard de Port-Royal, 75014 Paris, France.