

**Physiologie  
et maladies  
rénales**

**Vers l'identification du gène  
de la néphronoptise**

La néphronoptise est une néphropathie héréditaire de transmission principalement autosomique récessive, responsable d'environ 6 % à 10 % des insuffisances rénales terminales de l'enfant, ce qui correspond environ à 12 à 15 nouveaux cas en France chaque année [1]. C'est une néphropathie tubulo-interstitielle évoluant vers l'insuffisance rénale terminale avant l'âge de 20 ans. La présence de kystes de la médullaire explique la dénomination anglo-saxonne *medullary cystic kidney disease*, mais ces kystes sont inconstants, non spécifiques, et surtout surviennent très tardivement au cours de l'évolution de la maladie. En fait, les altérations principales sont une fibrose interstitielle massive, rapidement diffuse, qui participe de façon importante à l'altération progressive du parenchyme rénal, et des lésions tout à fait particulières des membranes basales tubulaires qui sont très irrégulièrement épaissies et feuilletées (figure 1). Un certain nombre d'affections ont été décrites associées à la néphronoptise, apparemment de même transmission autosomique récessive [1]. La plus fréquente (15 % à 20 % des patients) est une dégénérescence tapéto-rétinienne avec rétinite pigmentaire, le plus souvent dans la forme congénitale d'amaurose de Leber (syndrome de Senior-Løken, SLS). D'autres anomalies ont été décrites, presque toujours associées non seulement à la néphropathie, mais également à l'atteinte oculaire, telles des anomalies osseuses, hépatiques et une ataxie cérébelleuse. La pathogénie de la néphronoptise n'est pas connue. Toutefois, la précocité d'apparition des altérations des

membranes basales tubulaires, leur caractère très focal chez les enfants les plus jeunes, ainsi que l'absence dans les membranes basales tubulaires de certains patients atteints de néphronoptise d'un antigène de différenciation des membranes basales tubulaires normales, suggèrent qu'une anomalie structurale de la membrane basale tubulaire est à l'origine de la maladie, mais aucune protéine spécifique n'a pu être isolée [2].

**Un gène impliqué dans la néphronoptise est localisé sur le chromosome 2**

Par des études de liaison génétique dans 18 familles avec au moins deux enfants atteints, un gène (*NPH1*) impliqué dans la néphronoptise a été localisé sur le chromosome 2, dans la région 2q13 [3]. Ces résultats ont été ensuite confirmés dans 10 familles allemandes [4]. En revanche, une hétérogénéité gé-

nétypique a été mise en évidence, à la fois entre les formes sans symptômes extrarénaux et les formes avec atteinte oculaire précoce, et à l'intérieur même du groupe apparemment cliniquement homogène de familles avec atteinte rénale isolée [5].

De plus, sous les mêmes noms que la maladie récessive, ont été décrites des formes évoquant une transmission dominante autosomique, en particulier, une forme avec hyperuricémie et goutte, dans laquelle ont été rapportées des lésions histologiques tout à fait superposables à celles rencontrées dans la néphronoptise. Les études de liaison avec les marqueurs de la région 2q13 dans trois de ces familles ont permis d'exclure complètement le rôle éventuel du gène *NPH1* (C. Antignac, résultats non publiés). En fait, il s'agit probablement d'une entité totalement différente, dont le défaut primitif serait une diminution de la fraction excrétée d'acide urique [6], conduisant au

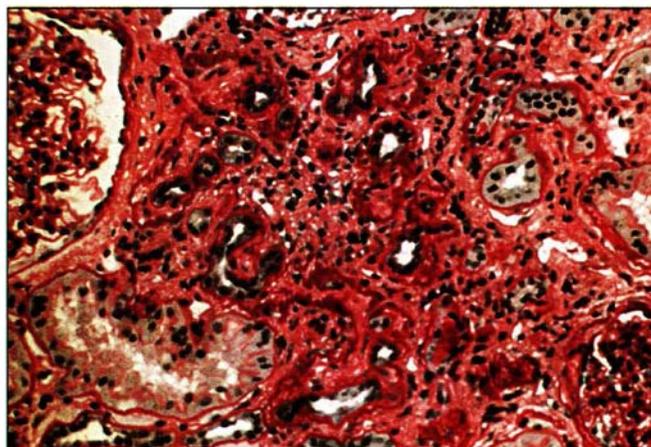


Figure 1. **Préparation histologique de néphronoptise.** Aspect de néphropathie tubulo-interstitielle, avec travées de tubes à membranes basales très épaissies, fibrose interstitielle et sclérose péritubulaire. Microscopie optique (x 210).

développement d'une néphropathie tubulo-interstitielle chronique, avec parfois kystes de la médullaire.

### La région *NPH1* appartient à une région dupliquée sur le bras court du chromosome 2

De façon à mieux délimiter la région où se situe le gène *NPH1*, une carte physique de la région a été construite, ce qui consiste à identifier différents segments d'ADN de grande taille (clonés dans des vecteurs de levure, d'où leur nom de YAC, pour *yeast artificial chromosome*) recouvrant la région, à mettre en évidence leurs régions de chevauchement, et à localiser précisément les différents marqueurs ou gènes connus.

Ainsi, a été construit un *contig* de 63 YAC couvrant la région *NPH1* s'étendant sur 11,3 Mb et contenant 45 marqueurs (soit des marqueurs microsatellites polymorphes, soit des séquences uniques anonymes correspondant principalement à des séquences des extrémités des clones YAC) [7]. Le fait important a été la mise en évidence de régions répétées au sein même de ce *contig* et surtout de part et d'autre du centromère, entre les régions 2q13 et 2p12. Le fait que le chromosome 2 humain dérive de la fusion télomère à télomère, précisément dans la région 2q13 de deux chromosomes ancestraux de singe [8], pourrait contribuer à expliquer la complexité de la région et la fréquence des séquences répétées.

### *PAX8* et *GLVR* gènes candidats pour *NPH1*?

Six gènes ont été localisés sur ce *contig* (*GLVR1*, *IL1A*, *IL1B*, *IL1RN*, *IGO*, *PAX8*). Deux de ces gènes (*PAX8* et *GLVR1*), du fait de leur expression dans le rein (en particulier au cours du développement rénal pour le gène *PAX8*) et de la détection de mutations du gène *PAX2* (codant pour une autre protéine PAX, groupe de facteurs de transcription impliqués dans l'embryogenèse [9]) dans une famille présentant des anomalies rénales et oculaires, pouvaient être considérés comme des gènes candidats pour

*NPH1*. Toutefois, comme ces deux gènes ont été localisés en dehors de l'intervalle où se situe *NPH1*, ils ne peuvent être responsables de la néphronoptise.

### Mise en évidence de délétions chez les patients atteints de néphronoptise

La découverte de régions dupliquées multiples à l'intérieur même du *contig* a conduit à rechercher systématiquement des délétions par PCR, comme il en avait été détecté dans l'amyotrophie spinale (*m/s n° 1*, vol. 11, p. 149) [10]. Effectivement, des délétions homozygotes emportant au moins deux marqueurs voisins (*765F2L* et *804/6*) ont été détectées chez les enfants atteints dans 11 des 13 familles consanguines analysées, puis dans 10 des 13 familles *NPH1* avec au moins 2 enfants atteints (*figure 2*) et dans 17 des 25 familles avec un seul enfant atteint. D'autre part, aucune délétion n'a été détectée chez tous les parents ( $n=61$ ), tous les frères et sœurs sains ( $n=41$ ), tous les individus appartenant à 7 familles avec atteinte oculaire précoce associée à la néphronoptise et à 4 familles de néphronoptise non liées au chromosome 2, et parmi de nombreux contrôles ( $n=203$ ). Ces résultats, confirmés par l'étude en *Southern blot*, prouvent qu'il existe des délétions homozygotes chez 70 % des

patients présentant une néphronoptise [11].

L'analyse par électrophorèse en champ pulsé, qui permet d'analyser de grands fragments d'ADN, a montré que ces délétions homozygotes, dans tous les cas où cela a pu être vérifié, mesurent toutes environ 250 kb. Par ailleurs, une délétion hétérozygote, ne touchant qu'un seul allèle des malades, a été détectée par cette technique dans environ 15 % des cas.

La carte de restriction en champ pulsé (*figure 3*) a montré que la région contenant les deux marqueurs fréquemment délétés chez les patients présentant une néphronoptise était encadrée par deux séquences dupliquées d'environ 100 kb, la copie dupliquée centromérique étant inversée par rapport à la copie télomérique. Une partie de la région dupliquée télomérique est emportée par la délétion [11].

### En conclusion

Il existe des délétions homozygotes de la région *NPH1* en 2q13 chez 70 % des malades et des délétions hétérozygotes chez environ 15 % des malades présentant une néphronoptise. Il semble que, dans la majorité des cas, les délétions mesurent environ 250 kb, emportant les marqueurs *765F2L*, *804/6* et une partie de la région dupliquée télomérique,



Figure 2. Détection des délétions par PCR dans deux familles atteintes de néphronoptise. Aucun produit d'amplification n'a été obtenu chez les quatre patients avec le marqueur 804/6, alors qu'un fragment de taille normale est obtenu avec le marqueur D2S1894 (localisé en dehors de la région délétée et utilisé comme contrôle positif de PCR).

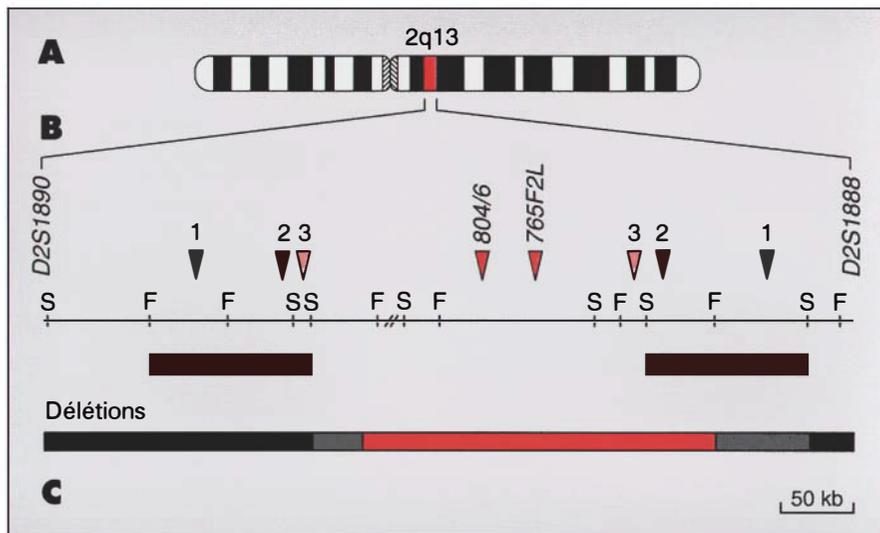


Figure 3. **Représentation schématique de la région 2q13.** **A.** Schéma du chromosome 2 et de la région 2q13 impliquée dans la néphronophtise. **B.** Carte de restriction simplifiée (seuls sont indiqués les sites de restriction *Sall* (S) et *SfiI* (F)). Sont indiqués par des flèches les deux marqueurs délétés (flèches rouges) (804/6 et 765F2L), ainsi que les trois marqueurs dupliqués. Les zones dupliquées sont signalées par les quadrilatères bistres. **C.** Localisation approximative des délétions (en rouge: taille de la délétion; en noir: régions non délétées; en gris: localisation des points de cassure).

ce qui suggère que dans ces cas, le même mécanisme pourrait être à l'origine des remaniements. En effet, la présence d'éléments répétés encadrant ces marqueurs pourrait provoquer des *crossing over* méiotiques inégaux et être à l'origine des délétions observées chez les malades [12]. La mise en évidence de ces délétions a permis de réduire considérablement la région où se situe le gène *NPH1*, et permet d'espérer son identification prochaine, bien que la complexité de la région rende cette tâche particulièrement ardue. Le fait de pouvoir déceler aisément par PCR des délétions du gène *NPH1* est d'une importance fondamentale pour le diagnostic, puisqu'il permet, d'une part, d'affirmer l'atteinte du gène *NPH1* dans la majorité des formes sporadiques et, d'autre part, offre la possibilité de réaliser, dans nombre de cas, un diagnostic de certitude sans avoir recours à la biopsie rénale, et un diagnostic prénatal jusqu'alors impossible dans les familles avec un seul enfant atteint ■

#### TIRÉS À PART

C. Antignac.

**Sophie Saunier  
Flora Silbermann  
France Benessy  
Corinne Antignac**

*Inserm U. 423, université Paris 5, hôpital Necker, Tour Lavoisier, 6<sup>e</sup> étage, 149, rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15, France.*

#### RÉFÉRENCES

1. Kleinknecht C, Habib R. Nephronophtisis. In: Cameron S, Davison AM, Grünfeld JP, Kerr D, Ritz E, eds. *Oxford textbook of clinical nephrology*. Oxford: Oxford University Press, 1992: 2188-97.
2. Cohen AH, Hoyer JR. Nephronophtisis: a primary tubular basement membrane defect. *Lab Invest* 1986; 55: 564-72.
3. Antignac C, Arduy CH, Beckmann JS, Benessy F, Gros F, Medhioub M, Hildebrandt F, Dufier JL, Kleinknecht C, Broyer M, Weissenbach J, Habib R, Cohen D. A gene for familial juvenile nephronophtisis (recessive medullary cystic kidney disease) maps to chromosome 2p. *Nature Genet* 1993; 3: 342-5.
4. Hildebrandt F, Singh-Sawhney I, Schnieiders B, Centofante L, Omran H, Pohlmann A, Schmaltz C, Wedekind H, Schubotz C, Antignac C, Weber JL, Brandis M, and members of the APN group. Mapping of a

gene for familial juvenile nephronophtisis: confirmation of linkage to chromosome 2 and definition of flanking markers. *Am J Hum Genet* 1993; 53: 1256-61.

5. Medhioub M, Cherif D, Benessy F, Silbermann F, Gubler MC, Le Paslier D, Cohen D, Weissenbach J, Beckmann J, Antignac C. Refined mapping of a gene causing familial juvenile nephronophtisis and evidence for genetic heterogeneity. *Genomics* 1994; 22: 296-301.

6. Moro F, Ogg CS, Simmonds HA, Cammeron JS, Chantler C, McBride MB, Duley JA, Davies PM. Familial juvenile gouty nephropathy with renal urate hypoexcretion preceding renal disease. *Clin Nephrol* 1991; 35: 263-9.

7. Konrad M, Saunier S, Silbermann F, Benessy F, Lepaslier D, Weissenbach J, Broyer M, Gubler MC, Antignac C. A 11 Mb YAC based contig spanning the familial juvenile nephronophtisis region (NPH1) on chromosome 2q. *Genomics* 1995; 30: 514-20.

8. Ijdo JW, Baldini A, Ward DC, Reenders ST, Wells RA. Origin of human chromosome 2: an ancestral telomere-telomere fusion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 9051-5.

9. Babinet C. Une famille de gènes du développement: les gènes Pax. *Med Sci* 1993; 9: 87-91.

10. Lefebvre S, Burglen L, Reboullet S, Clermont Olivier, Burllet P, Viollet L, Benichou B, Cruaud C, Millasseau P, Zeviani M, Le Paslier D, Frezal J, Cohen D, Weissenbach J, Munnich A, Melki J. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell* 1995; 80: 155-65.

11. Konrad M, Saunier S, Heidet L, Silbermann F, Benessy F, Calado J, Le Paslier D, Broyer M, Gubler MC, Antignac C. Large homozygous deletions of the 2q13 region are a major cause of juvenile nephronophtisis. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 367-71.

12. Yen PH, Li XM, Tsai SP, Johnson C, Mohandas T, Shapiro LG. Frequent deletions of the human X chromosome distal short arm result from recombination between low copy repetitive elements. *Cell* 1990; 60: 603-10.

**m/s ANNIVERSAIRE EN VIDÉO-CASSETTES**

**Les conférences de la journée du 10<sup>e</sup> anniversaire de médecine/sciences du 16 mars 1995 sont disponibles sur vidéo-cassettes auprès de :**

**ASSOCIATION DIFFUSION DES CONNAISSANCES**  
2, avenue Léon-Bernard,  
35043 Rennes Cedex, France.