

LES FORMES FAMILIALES DE NÉPHROPATHIE À IgA ÉTUDES CLINIQUE ET GÉNÉTIQUE

par

A.G. GHARAVI*, **, F. SCOLARI***, R.P. LIFTON*

En 1968, Berger et Hinglais ont les premiers décrit les signes cliniques de la néphropathie à IgA (NIgA) [1], une maladie qui a été rapidement reconnue comme étant la glomérulonéphrite la plus fréquente dans le monde [2]. Depuis cette première description, de nombreux auteurs se sont attachés à proposer et à tester des mécanismes biologiques supposés être responsables de la maladie. Les hypothèses formulées durant les 30 dernières années peuvent être classées en 3 grandes catégories : 1) une anomalie immunologique primitive responsable de l'augmentation de la production des IgA ou de réponses auto-immunes ; 2) une anomalie de structure de l'IgA1 responsable d'une clairance diminuée et d'une agrégabilité accrue conduisant aux dépôts tissulaires ; 3) la dérégulation d'un ou plusieurs facteurs circulants entraînant la formation et le dépôt de complexes immuns à IgA. Parmi les observations récentes, la plus intéressante est la mise en évidence d'une glycosylation anormale de la région charnière de l'IgA1 chez les patients atteints de NIgA ou de purpura rhumatoïde avec atteinte rénale. Ces molécules d'IgA1 anormalement glycosylées se sont révélées capables de s'auto-agrégérer de façon excessive et d'activer les cellules mésangiales [3-6]. La mise en évidence de la capacité de l'utéroglobine circulante à inhiber dans le sang l'agrégation IgA-fibronectine est une autre observation intéressante ; l'invalidation du gène de l'utéroglobine chez la souris conduit à une glomérulonéphrite avec dépôts de complexes IgA-fibronectine [7]. Toutefois, on ne sait si ces données récentes ont permis de découvrir les facteurs étiologiques primaires ou des manifestations secondaires. Cette méconnaissance des mécanismes fondamentaux responsables de la NIgA a restreint les possibilités du développement de thérapeutiques efficaces, notamment

* Howard Hughes Medical Institute, Departments of Genetics, Yale University School of Medicine New Haven, États-Unis.

** Department of Medicine, Mount Sinai School of Medicine, New York, États-Unis.

*** Division and Chair of Nephrology, Spedali Civili, University of Brescia, 25125 Brescia, Italie.

pour les 30 p. 100 de patients qui développent une insuffisance rénale terminale [8, 9].

Durant les 10 dernières années, les études génétiques ont permis de découvrir l'élément étiologique primaire d'un grand nombre de maladies génétiquement transmises. Bien que la NIgA ne soit pas habituellement considérée comme une maladie héréditaire, un grand nombre d'éléments dans la littérature suggèrent que sa pathogénie est en partie liée à des facteurs génétiques. Ces éléments sont la variation ethnique et géographique de la prévalence de la NIgA, la plus grande fréquence de la maladie dans des populations isolées ayant un nombre limité de fondateurs, l'agrégation familiale, et plus récemment la démonstration d'une liaison génétique à une région chromosomique spécifique [10-15]. Dans cette revue, nous allons revoir les données de la littérature concernant les formes familiales de NIgA et résumer les études de liaison sur tout le génome qui ont conduit à l'identification du premier locus impliqué dans la NIgA et situé sur le chromosome 6.

NÉPHROPATHIE À IgA DANS LES FAMILLES MULTIPLEXES ET LES GÉNÉALOGIES ÉTENDUES

Les premières publications avaient déjà rapporté une prévalence accrue d'anomalies urinaires parmi les apparentés des patients atteints de NIgA. En 1973, dans une série de 96 patients atteints de NIgA, De Werra et al. décrivaient un patient dont la grand-mère maternelle, la mère, 2 sœurs et un neveu présentaient une protéinurie et une hématurie [16]. Dans une deuxième famille, le frère d'un patient avait une hématurie. Six autres patients dans cette série avaient au moins un apparenté atteint de maladie rénale. En 1975, Sissons et al. observaient que 5 parmi 20 patients atteints de NIgA avaient un apparenté de premier degré ayant des anomalies urinaires [17]. En 1984, Johnson et al. rapportaient que 3,8 p. 100 des 290 patients atteints de NIgA, répertoriés dans le registre des glomérulonéphrites de Grande-Bretagne, avaient une histoire familiale de maladie rénale [18]. En 1989, Rambausek et al. observaient que 9,6 p. 100 des patients atteints de NIgA suivis à Heidelberg avaient un ou plusieurs germains atteints de glomérulonéphrite [19]. En 1995, Schena montrait que 61 des 269 apparentés asymptomatiques de premier degré, appartenant à 48 familles de NIgA, avaient des anomalies urinaires [12].

L'existence de NIgA familiale démontrée par une biopsie rénale a été rapportée indépendamment par deux auteurs en 1978 dans 2 familles, chez des frères atteints HLA identique [20, 21]. Depuis cette date, de plus en plus de NIgA familiales ont été décrites. De 1978 à 1992, 35 familles ayant au moins 2 membres atteints de NIgA prouvée par une biopsie rénale ont été rapportées en Europe, aux États-Unis et en Asie (*voir* la revue de Levy en 1994 [22]). Levy a également publié les résultats d'une étude française coopérative qui a permis de découvrir 40 familles dont 2 ou 3 membres étaient atteints de NIgA confirmée par une biopsie rénale [22]. La majorité des familles était d'origine européenne. Quelques familles étaient originaires d'Afrique ou des Antilles. Le lien de parenté entre patients variait, puisque l'on notait des paires parents/enfants, des paires de germains, et également des apparentés plus distants. De façon intéressante, dans 5 de ces 40 familles, un ou plusieurs apparentés avaient un purpura rhumatoïde, donnée qui fait suggérer

l'existence d'un lien biologique entre les 2 maladies. Dans une centaine d'autres familles, les apparentés des patients ayant une NIgA avaient une maladie glomérulaire non déterminée. De façon analogue, les familles nucléaires avec cas multiples de NIgA ont été détectées en Chine, Yougoslavie, Japon et Turquie [23-25]. Dans une étude systématique des biopsies rénales faite à Brescia, une ville du nord de l'Italie, la NIgA a été diagnostiquée chez 185 patients entre 1972 et 1997. Vingt-six de ces patients (14 p. 100) appartenaient à 10 grandes généalogies ; d'autres apparentés avaient des signes cliniques de glomérulonéphrite [26]. Depuis cette date, 9 autres familles ayant 2 cas ou plus de NIgA ont été identifiées dans le district de Brescia (Scolari, résultats non publiés).

En 1985, Julian et al. décrivaient dans le Kentucky une grande généalogie comprenant 6 patients atteints de NIgA descendant d'un ancêtre commun. Huit autres patients atteints de NIgA appartenaient à des généalogies possiblement apparentées les unes aux autres [27]. Dix sept autres sujets avaient des signes cliniques de glomérulonéphrite et chez 6 autres le diagnostic de néphrite chronique était noté sur le certificat de décès. Ces auteurs notaient l'existence de transmission père/fils et un nombre identique d'hommes et de femmes atteints, ce qui était compatible avec un modèle simple autosomique dominant. Les études des haplotypes HLA n'ont rien apporté : l'augmentation de la fréquence de certains antigènes à la fois chez les membres atteints et non atteints d'une même famille comparés à des sujets contrôles pouvait être interprétée comme due à l'apparentement. Les études épidémiologiques n'ont pas révélé de facteur d'environnement commun. Une étude généalogique détaillée complétant ces observations a permis de montrer que 96 patients avaient un ancêtre commun dans l'est ou le centre du Kentucky et que 53 (55 p. 100) avaient au moins un apparenté atteint de NIgA [14]. Les lieux de naissance de 37 patients étaient géographiquement groupés dans la partie extrême orientale du Kentucky. Une mutation fondatrice pourrait expliquer cette concentration familiale et géographique : les populations de l'est du Kentucky sont restées relativement isolées après l'arrivée des premiers colons à la fin du XVIII^e siècle. Ces données suggèrent que les patients atteints de NIgA ont un allèle de susceptibilité commun, transmis par un ou plusieurs ancêtre(s) commun(s).

En 1992, 3 arbres généalogiques étendus provenant de la vallée du Valsaviore dans le district de Brescia (Italie septentrionale) ont été rapportés [26, 28]. La population de la vallée de Valsaviore présente certaines des caractéristiques démographiques d'un isolat génétique, notamment un isolement géographique partiel, un taux bas d'immigration et un haut degré de consanguinité. Les patients dans ces familles sont atteints d'une grande variété de maladies glomérulaires primitives, la NIgA étant la plus fréquente. La première famille est composée de 2 grandes branches ayant un ancêtre commun. Dans une des branches, une tante et 2 neveux appartenant à des fratries différentes, ont une néphropathie à IgA et 2 autres apparentés ont une glomérulonéphrite clinique. Dans la seconde branche, 12 frères et 2 cousins éloignés ont une NIgA et 3 autres membres ont une glomérulonéphrite clinique. Dans une deuxième famille, 3 cousins éloignés ont une glomérulonéphrite clinique. Dans une troisième famille, 3 cousins éloignés ont une NIgA et 2 autres apparentés ont une glomérulonéphrite clinique. Depuis la description initiale rapportant 12 patients atteints de NIgA appartenant à 3 arbres généalogiques, 2 autres apparentés atteints de NIgA ont été découverts [26, 28]. De plus, chez un grand nombre d'apparentés ayant une maladie glomérulaire clinique, la biopsie rénale a montré différents types de glomérulonéphrites, notamment des néphropa-

thies à dépôts d'IgM, des glomérulonéphrites mésangiales à dépôts de C3 isolé, des glomérulonéphrites membrano-prolifératives et des hyalinoses segmentaires et focales. La prédominance masculine de sujets atteints dans ces familles est compatible avec le sex-ratio connu dans les cas isolés. Aucun facteur d'environnement évident n'a pu être mis en cause et, de plus, 5 des apparentés sont nés en dehors de la vallée de Valsaviore. Des arbres généalogiques de ces patients montraient qu'il existait un nombre limité d'ancêtres ; de plus, les lieux de naissance des patients et de leurs ancêtres sont concentrés dans la région de Valsaviore.

L'étude des taux sériques d'IgA dans la première famille a révélé des taux élevés à la fois chez les atteints et chez non atteints comparés avec ceux de sujets contrôles de la même région. De plus, les taux étaient plus étroitement corrélés chez les membres d'une fratrie que chez des individus non apparentés, habitant la même maison [10]. Bien qu'il existe une agrégation familiale de taux élevés d'IgA dans ces familles multiplexes (ce qui suggère un contrôle génétique de la concentration sérique en IgA), cet élément ne permet pas d'éclaircir les mécanismes pathogéniques de la NIgA.

Deux autres généalogies étendues appartenant à des groupes ethniques isolés ont été rapportées. O'Connell et al., ayant étudié une famille aborigène australienne, ont montré une fréquence élevée de maladie rénale dans 4 générations [29]. Ils ont découvert des anomalies urinaires chez 28 de 114 membres de cette famille. Une NIgA a été trouvée chez 5 des 8 patients ayant eu une biopsie rénale : 3 frères, le père et une cousine apparentée au quatrième degré. Le mode de transmission n'était pas compatible avec un modèle mendélien, et l'atteinte rénale n'était pas associée à un diabète. Hoy et al. ont également observé une fréquence élevée de glomérulonéphrite mésangio-proliférative chez les indiens Zuni qui appartiennent à une communauté isolée de l'Ouest de l'État du New Mexico aux États-Unis [30, 32] et qui sont les descendants d'une petite population fondatrice. Les aspects en microscopie optique variaient de l'expansion mésangiale modérée, à la sclérose glomérulaire segmentaire ou globale, aux croissants, ou à la glomérulonéphrite membrano-proliférative. Les dépôts mésangiaux d'IgA étaient présents dans la plupart, mais non toutes les biopsies. Trois familles ont été identifiées comme ayant plusieurs membres atteints de NIgA. Dans une famille, les dépôts mésangiaux d'IgA étaient observés chez le père et son fils ; dans une deuxième famille, un frère, une sœur et une cousine éloignée étaient atteints ; dans une troisième grande famille, la mère, un fils et une tante maternelle avaient des dépôts d'IgA et dans une autre branche de cette famille, une tante et un neveu étaient atteints. Comme pour les familles de la vallée de Valsaviore, les aspects en immunofluorescence différaient chez des apparentés proches, certains ayant des dépôts d'IgM, d'autres n'ayant pas de dépôts d'immunoglobuline.

En résumé, ces observations indiquent qu'il existe un sous-groupe de patients pour lesquels la NIgA a une forte composante génétique. De plus, les études généalogiques de 4 populations isolées, mais distinctes sur le plan ethnique, ont révélé que l'augmentation de fréquence des cas isolés dans certaines régions et dans certaines ethnies pourrait être due à un effet fondateur. Cependant, ces études ne peuvent pas démontrer formellement l'existence d'une composante génétique dans la mesure où le degré de parenté des patients pourrait aussi être expliqué par la structure particulière de ces populations isolées, la plupart des individus étant apparentés indépendamment du phénotype.

CARACTÉRISTIQUES PHÉNOTYPIQUES DE LA NIgA FAMILIALE

Les caractéristiques cliniques ne permettent pas de différencier les formes familiales des formes non familiales. L'âge moyen au début de la maladie, l'âge à la date de la biopsie rénale, l'importance de l'hématurie microscopique, l'existence d'antécédents d'hématurie macroscopique, l'importance de la protéinurie et le pronostic rénal sont comparables. De plus, les lésions histologiques et la nature des dépôts mésangiaux (isotype d'immunoglobuline et C3) ne sont pas différents [33].

La plupart des grandes séries décrivent des familles dans lesquelles la NIgA est associée à d'autres maladies glomérulaires, notamment à des glomérulonéphrites prolifératives mésangiales ou à des purpuras rhumatoïdes [22, 34]. On peut penser que ces familles correspondent à un sous-type de maladie ayant son propre mécanisme pathogénique. À l'inverse, on peut également faire l'hypothèse que les NIgA, la néphrite du purpura rhumatoïde et les glomérulonéphrites prolifératives mésangiales partagent des facteurs communs de susceptibilité. Dans ces cas, les dépôts d'IgA associés à une prolifération mésangiale pourraient se surajouter à une « dysfonction mésangiale » primitive, comme cela a été suggéré initialement par Doherty et al. [35]. Avec un tel scénario, on pourrait attribuer la variabilité des présentations cliniques et des aspects en immunofluorescence à des variations du fond génétique ou de l'environnement. Par exemple, l'apparition d'un purpura rhumatoïde après vaccination chez les enfants fait suggérer qu'une exposition à un facteur spécifique de l'environnement tôt dans la vie peut déclencher la maladie. Néanmoins, la co-agrégation d'autres phénotypes glomérulaires constitue un argument indiscutable en faveur de mécanismes pathogènes communs et fait penser que l'identification de gène (s) impliqué (s) dans la NIgA pourra donner des informations sur les mécanismes biologiques responsables des autres maladies glomérulaires.

Un facteur déclenchant évident, comme une épidémie d'infection virale, n'a pas été mis en évidence dans les formes familiales de NIgA. L'absorption d'alcool ou l'existence d'une maladie hépatique ont été suspectées d'être des facteurs prédisposants. Cependant ces facteurs ne peuvent pas être impliqués lorsque la glomérulonéphrite mésangiale apparaît chez des nourrissons, des enfants ou des sujets qui n'absorbent pas d'alcool [30, 32, 37]. Les délais entre les débuts de la maladie dans une même famille varient d'une famille à l'autre, rendant improbable un unique facteur de l'environnement comme facteur déclenchant. Cependant, on ne peut pas exclure que des facteurs environnementaux non identifiés puissent être responsables des grandes variations géographiques observées dans la prévalence de la NIgA. L'identification de facteurs génétiques spécifiques devrait permettre de clarifier la contribution des facteurs d'environnement dans la concentration régionale ou familiale de la néphropathie.

Si l'hématurie est considérée comme un élément diagnostique chez les apparentés de patients ayant une NIgA prouvée par la biopsie, la NIgA familiale pourrait alors concerner 15 à 20 p. 100 des cas [10, 12]. Cependant, la prévalence et le mode de transmission des NIgA familiales ne peuvent pas être déterminés avec précision puisque le diagnostic nécessite une biopsie rénale. La

présence d'une hématurie microscopique chez les apparentés suggère que, dans un grand nombre de cas, l'atteinte rénale pourrait être infraclinique. Les néphrologues ne reconstituent habituellement pas en détail les histoires familiales. Ils ne demandent pas non plus d'examen urinaire chez les apparentés bien portants. Même si les apparentés étaient étudiés, l'hématurie pouvant être intermittente, les examens doivent être répétés afin de détecter les sujets atteints. Enfin, la biopsie rénale n'est pas justifiée chez des sujets ayant des anomalies urinaires minimales ou une insuffisance rénale avancée. Dans notre expérience, les NIgA familiales sont plus fréquemment identifiées par les néphrologues qui pensent que la NIgA peut être une maladie héréditaire. Une plus grande attention à ces facteurs génétiques conduira à la découverte d'un nombre croissant de cas familiaux dans le monde.

En conclusion, ces études montrent qu'il existe une concentration familiale significative de NIgA et que cette concentration, ne paraît pas pouvoir être expliquée par une exposition à des facteurs environnementaux ; il existe vraisemblablement un composant génétique. Une transmission autosomique récessive semble peu probable puisque, dans un grand nombre de familles, les membres atteints appartiennent à des branches différentes de la famille ou à des générations différentes. De plus, nous n'avons pas connaissance de formes familiales de NIgA chez les enfants nés d'unions consanguines, comme on pourrait s'y attendre si la transmission était autosomique récessive. Une transmission liée à l'X pouvait être évoquée puisque la NIgA est plus fréquente chez l'homme ; l'absence de transmission père/fils exclut ce type de transmission dans la majorité des familles. Une transmission autosomique dominante avec une pénétrance complète est improbable dans la mesure où un grand nombre de sujets sains devraient être des vecteurs obligatoires. Une transmission dominante autosomique à pénétrance incomplète, compatible avec la plupart des arbres généalogiques, correspond au modèle génétique le plus probable. Ce modèle pourrait expliquer la présence de cas dans plusieurs branches d'une famille et l'apparition de la maladie dans plusieurs générations. La pénétrance incomplète pourrait être expliquée par d'autres facteurs, génétiques ou environnementaux. L'autre modèle compatible avec les observations est celui d'une maladie à hérédité multifactorielle, modèle dans lequel les effets combinés de nombreux gènes et/ou de facteurs de l'environnement sont nécessaires pour entraîner l'apparition de la maladie chez un sujet donné [36]. Malheureusement, comme pour d'autres maladies communes, la concentration familiale ne permet pas de distinguer entre une maladie à transmission dominante à pénétrance incomplète et une maladie à hérédité multifactorielle.

Les progrès dans la cartographie du génome humain ont permis de différencier ces possibilités. Sous un modèle de transmission autosomique dominante, on s'attend à ce que des segments de chromosome ségrégent significativement avec la maladie plus souvent que ne le voudrait le hasard. Les modèles d'analyse paramétrique peuvent prendre en compte la pénétrance incomplète et l'hétérogénéité génétique (un segment chromosomique particulier est impliqué dans certaines familles, mais pas dans toutes). Dans de telles situations, analogues à la situation du cancer du sein, l'analyse de liaison génétique est capable de préciser le mode de transmission, et aussi d'identifier les locus conférant un fort risque de développer la maladie. Jusqu'à présent, cette question n'avait pas été étudiée expérimentalement (*voir* ci-dessous).

ÉTUDES GÉNÉTIQUES MOLÉCULAIRES

Jusqu'à présent, le rôle de facteurs génétiques dans le développement de la NIgA n'avait été étudié que par des études d'association. Classiquement, ce type d'études compare les fréquences alléliques d'un gène candidat chez des sujets atteints et chez des sujets contrôles. De telles études visent à mettre en évidence un déséquilibre de liaison entre le locus étudié et le trait. Elles reposent sur l'hypothèse que seul un petit nombre d'allèles contribuent à l'apparition de la maladie dans la population étudiée [38]. Les études d'association nécessitent habituellement la connaissance préalable de la physiopathologie de la maladie, les gènes candidats étant sélectionnés en fonction des informations apportés par la biologie classique. Dans la NIgA, les gènes candidats utilisés ont été choisis en fonction des nombreuses voies pathogéniques proposées (*voir* Introduction et [8, 9]).

Comme le montrent les études concernant le complexe majeur d'histocompatibilité (HLA) dans la NIgA, les études d'association avec des gènes candidats ont conduit à des résultats contradictoires. Bien que des associations avec des antigènes de classe I et de classe II aient été observées, aucune association n'a été retrouvée de façon constante et la plupart des associations observées n'ont pas été repliquées, même si ces études concernaient la même population [12, 39]. Ainsi, les 2 premiers cas de NIgA familiale touchant des sujets HLA-identiques d'une même fratrie avaient été considérés comme un argument en faveur d'une liaison génétique entre la maladie et les allèles HLA [20, 21]. Cependant, toutes les paires de germains atteints ne sont pas HLA identiques, et les formes familiales de NIgA ne sont pas associées à un antigène HLA unique. Des patients atteints de NIgA sporadique et appartenant à 3 populations européennes différentes ont été étudiés par Fennesy et al. ; aucune relation entre les génotypes HLA et la maladie n'a été retrouvée de façon constante [40]. Plus récemment, les études d'association avec le gène de l'utéroglobine ont donné des résultats contradictoires, un même allèle pouvant être un facteur protecteur ou au contraire facteur de risque selon la population étudiée [41, 42]. En général, les études d'association sont à l'origine de faux résultats positifs liés, d'une part à une stratification inapparente (les sujets atteints et les sujets contrôles provenant de groupes dont le terrain génétique est plus ou moins différent) et d'autre part à des analyses nécessitant des tests multiples. Cette situation, qui n'est pas particulière à la NIgA, souligne la nécessité d'étudier de larges cohortes de patients correctement phénotypés et comparés à des groupes contrôles appariés de façon appropriée, et d'utiliser des tests robustes comme le « transmission disequilibrium test » [43].

Ces considérations nous ont conduit à entreprendre une approche différente, utilisant l'analyse de liaison dans des familles ayant une NIgA. Durant les 10 dernières années, des études de liaison ont été appliquées avec succès à un grand nombre de traits mendéliens, ce qui a permis l'identification de gènes impliqués dans plus d'un millier de syndromes héréditaires [44]. Ces études ont l'avantage de localiser sur un chromosome le locus d'une maladie, même si l'on ignore son mécanisme. Nous avons supposé qu'une telle approche pourrait être idéale dans l'étude de la NIgA familiale, la sélection du sous-groupe ayant la plus forte prédisposition génétique maximiserait les chances de détecter un gène unique ayant un effet important. Cependant, avant d'avoir réalisé ces études sur le génome, nous ne pouvions pas savoir qu'il existait un gène prédisposant suffisamment fort pour être détecté par une étude de liaison.

Ainsi, nous avons débuté cette étude dans le but d'identifier et de recruter des familles ayant 2 sujets ou plus atteints de NIGa [15]. Toutes les familles ont été identifiées par des cas de NIGa prouvée par biopsie rénale. Les familles comprenant au moins un autre sujet atteint ont été sélectionnées. Nous avons étudié le dossier médical de chaque apparenté, recherché chez eux une hématurie et une protéinurie et évalué leur fonction rénale. Les apparentés étaient considérés comme atteints s'ils présentaient soit une NIGa documentée par une biopsie rénale, soit une hématurie (≥ 5 hématies par champ), ou une protéinurie ($\geq 3+$ à la bandelette, et au moins à 3 occasions), ou une insuffisance rénale terminale sans autre cause identifiable. Dans la mesure où la maladie est plus fréquente dans les deuxièmes et troisièmes décades de la vie, les apparentés, dont l'âge était supérieur ou égal à 40 ans, qui avaient une analyse d'urines normale et qui n'avaient pas d'histoire de maladie rénale, étaient considérés comme non atteints. Les apparentés non atteints de moins de 40 ans étaient classés comme ayant un phénotype inconnu.

Nous avons initialement recruté 30 familles multiplexes (24 provenant d'Italie et 6 des États-Unis), comprenant 94 sujets atteints, 48 sujets non atteints et 21 sujets de phénotypes inconnus en raison de leur jeune âge. Parmi les sujets atteints, 60 avaient une NIGa prouvée histologiquement (12 ayant une insuffisance rénale terminale), 29 avaient une hématurie/protéinurie persistante (16 avec des épisodes d'hématurie macroscopique) et 5 avaient une insuffisance rénale terminale sans cause. L'âge moyen au diagnostic était de 33 ans et le rapport homme : femme était de 1,5 : 1. Tous les phénotypes avaient été précisés de façon prospective avant la début du génotypage. Comme cela a été rapporté dans la littérature, la ségrégation de la maladie dans les familles étaient compatibles avec une hérédité multifactorielle ou avec une hérédité autosomique dominante à pénétrance incomplète (fig. 1).

Nous avons examiné en premier lieu s'il existait une liaison avec certains gènes candidats. Nous n'avons pas trouvé de liaison avec les gènes candidats comme ceux de la région HLA, le gène de l'utéroglobine, les gènes des galactosyls transférases et les gènes des immunoglobulines. Ces données démontrent que ces locus ne sont pas des facteurs de risque majeurs dans le développement de la NIGa dans notre population de patients.

Nous avons ensuite effectué un criblage systématique de l'ensemble du génome pour rechercher des nouveaux locus pouvant avoir un rôle important dans le développement de la maladie. Sous des modèles d'homogénéité génétique (ce qui signifie qu'un même locus unique influencerait la maladie dans toutes les familles), nous n'avons pas trouvé de liaison. Mais, sous des modèles d'hétérogénéité génétique, nous avons trouvé des lod scores (le logarithme décimal du rapport de probabilité) supérieurs à 1 dans 5 régions chromosomiques. Ces régions chromosomiques ont été alors analysées en phénotypant un plus grand nombre de membres dans les familles étudiées, et en ajoutant d'autres marqueurs de façon à augmenter l'informativité. Grâce à l'addition d'un plus grand nombre de marqueurs, nous avons trouvé sur le chromosome 6q22-23 une liaison significative sous un modèle d'hétérogénéité génétique. Avec l'addition de 20 marqueurs polymorphes, l'analyse de liaison multipoint a mis en évidence un pic de lod score de 5,6 (probabilité de 398,107 : 1 en faveur de la liaison), en utilisant un modèle paramétrique dans lequel 60 p. 100 des familles sont associées à ce locus sous un modèle de transmission autosomique dominante avec pénétrance incomplète. Nous avons appelé ce locus *IgANI*. Pour confirmer ces résultats, nous avons répété l'analyse en utilisant des critères phénotypiques plus stricts et nous avons entrepris une analyse

indépendante du modèle. Nous avons encore retrouvé une liaison avec le segment chromosomique 6q22-23, dépassant de loin les seuils requis pour qu'une liaison soit considérée comme significative quel que soit le modèle [45]. Cette étude a simultanément permis d'établir la présence d'un gène unique ayant un effet important et de localiser sa position chromosomique.

Nous n'avons pas noté d'effet de l'origine ethnique sur la liaison. En effet, la liaison à *IgANI* était observée aussi bien dans les familles italiennes que dans les familles nord-américaines. Par ailleurs, les manifestations cliniques de la maladie (pénétrance, âge de début, développement d'une insuffisance rénale terminale) ne sont pas différentes selon que la maladie est liée ou non à *IgANI*. Il est intéressant de noter que des familles provenant de régions isolées telle que l'est du Kentucky ou de la vallée de Valsaviore, comprenaient à la fois des familles ayant un lod score positif et des familles ayant un lod score négatif. Ceci suggère que la NIgA est sous la dépendance, non seulement de mutations au locus *IgANI*, mais aussi de mutations à d'autres locus que *IgANI* ; comme les analyses paramétriques de liaisons reposent sur une spécification correcte de la structure familiale et des modèles de transmission, on peut aussi supposer que l'existence d'une population à structure complexe (telle qu'une hérédité bilinéale) soit un facteur de confusion dans l'analyse des familles ayant des lods scores négatifs. Ces éléments seront précisés lorsque l'identité de *IgANI* sera déterminée.

L'analyse de liaison a limité la localisation de *IgANI* dans une région de 6,5 cM, un segment relativement large comprenant plus de 100 gènes. L'examen des gènes connus dans cette région n'a pas révélé de gène candidat évident, ce qui suggère que l'identification du gène en cause permettra d'identifier probablement un nouveau mécanisme responsable du développement de la NIgA. Dans une autre région du chromosome 3p23-24, les lods scores obtenus suggèrent la possibilité d'une liaison, mais ces résultats n'ont pas atteint un niveau de significativité requis dans les analyses systématiques du génome. Cependant, nous espérons découvrir un ou plusieurs autres locus. L'identification de ces locus additionnels est importante dans la mesure où, en association avec *IgANI*, ces gènes pourraient permettre de décrire les voies biologiques anormales dans la NIgA.

La prochaine étape de notre étude concernera principalement la recherche du gène en cause au locus *IgANI*. Nous allons recruter un plus grand nombre de familles de façon à restreindre l'intervalle de liaison par « meiotic mapping » (carte méiotique). Par ailleurs, la pénétrance variable de la maladie dans les fratries suggère que l'expression du trait dépend probablement de facteurs environnementaux ou de gènes modificateurs. Nous pouvons ainsi postuler qu'un grand nombre de NIgA sporadiques pourrait être dû à des mutations du locus *IgANI*. Pour tester cette hypothèse, nous allons réunir des cas isolés de NIgA afin de rechercher un déséquilibre de liaison dans des populations dans lesquelles un effet fondateur est possible, comme par exemple le nord de l'Italie ou l'est de Kentucky. Ce type d'étude utilise la possibilité que des allèles communs, provenant d'un ancêtre commun éloigné, pourraient être en cause dans la susceptibilité à la maladie dans un nombre significatif de sujets atteints. Les sujets atteints hériteraient à la fois de la mutation responsable de la maladie et d'un même segment chromosomique, et ainsi d'un haplotype étroitement lié au gène impliqué [46]. Ces haplotypes associés à la maladie peuvent être utilisés comme balises pour localiser et identifier le gène en cause (fig. 2). La réussite de telles études dépend de l'âge de la population étudiée, du nombre d'allèles fondateurs, et du risque conféré par de tels allèles [47].

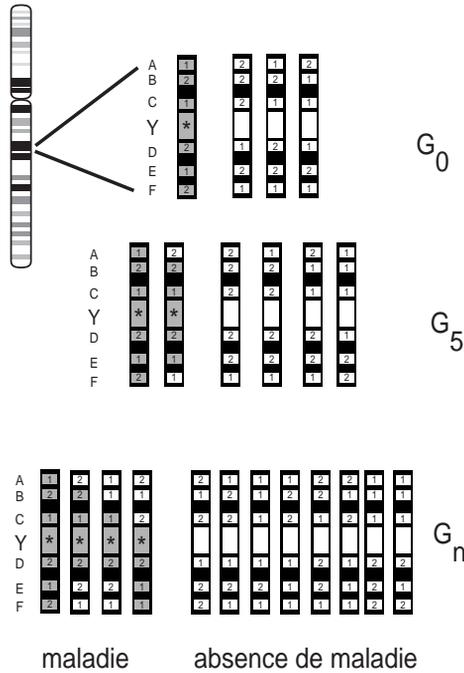


FIG. 2. — Illustration de l'analyse du déséquilibre de liaison.

L'analyse de liaison a impliqué une région chromosomique représentée sur la figure. Le gène (Y) impliqué dans la maladie (Y) est entouré de locus flanquants bialléliques (A - F). La mutation dans le gène Y (indiquée par $*$) est survenue dans un haplotype particulier (région grisée) à la génération G_0 , alors que des copies normales de ce gène sont flanquées d'autres haplotypes définis par des combinaisons différentes d'allèles au locus A - F . Dans les générations suivantes (G_5 - n), les individus atteints reçoivent la mutation au locus Y^* ainsi qu'une combinaison particulière d'allèles de part et d'autre de ce locus. Cependant, la taille de la région chromosomique associée à la maladie est réduite à chaque génération en raison de recombinaisons méiotiques. Ainsi, si une grande proportion de la maladie dans une population est due à Y^* (comme dans les isolats ayant un nombre limité de fondateurs), les individus atteints auront une fréquence significativement plus élevée d'allèles associés avec Y^* (par exemple, $C1$ et $D2$ dans cet exemple) que les contrôles. Ces données permettent finalement la cartographie fine et la localisation du gène.

Légende FIG. 1. — (suite)

Six des 30 familles à cas multiples sont représentées sur la figure. Les sujets atteints sont indiqués par les symboles pleins, les sujets non atteints par des symboles vides et les individus de phénotype inconnu par des symboles grisés. Les génotypes de 15 marqueurs au locus 6q22-23 sont indiqués pour chaque sujet en dessous de chaque symbole, dans l'ordre chromosomique. L'identité de chaque marqueur et la distance entre des locus adjacents est indiquée en bas et à gauche de la figure. Les haplotypes déduits partagés par les apparentés ayant une NIGa sont indiqués par des zones encadrées. Toutes ces familles avaient des lods scores positifs au locus *IgA1* dans la région 6q22-23, à l'exception de la famille K128, f dans laquelle les enfants atteints avaient des haplotypes différents dans cette région.

Ces paramètres sont difficiles à prévoir *a priori*, mais l'aptitude des analyses de déséquilibre de liaison dans l'identification de gènes en cause dans les maladies humaines complexes a été démontrée par l'identification des gènes de la maladie de Crohn [48-50]. Avec optimisme, nous pensons que ces méthodes nous permettront de localiser et d'identifier le gène *IgANI*.

CONCLUSION

Les données de la littérature suggèrent que les formes familiales de NIgA sont courantes et qu'elle pourraient représenter jusqu'à 15 à 20 p. 100 des cas. La description de ce sous-groupe de patients n'est pas seulement importante du point de vue clinique, mais elle a également permis d'entreprendre des études génétiques qui conduiront éventuellement à comprendre les mécanismes responsables. Nous avons démontré que, dans 60 p. 100 des familles dans lesquelles existent au moins 2 cas de NIgA, la maladie est due à une mutation d'un gène situé sur le chromosome 6q22-23. Cette observation a permis de montrer pour la première fois que des gènes ont un effet prédominant dans la susceptibilité à la NIgA. L'identification du gène constituera une première étape dans la compréhension des bases moléculaires de la NIgA. À court terme, ces études nous permettent d'envisager un diagnostic de meilleure qualité et une classification clinique de la maladie. À long terme, nous espérons que les études génétiques contribueront également au développement de traitements plus efficaces pour cette maladie fréquente.

Remerciements

Nous remercions les patients et leurs familles qui ont généreusement contribué à nos études généalogiques et génétiques. AGG reçoit une bourse du NIH grant K08 Dk02610-01. RPL est chercheur au Howard Hughes Medical Institute.

Nous remercions très vivement le D^r Micheline Levy et le P^r Philippe Lesavre qui ont bien voulu se charger de la traduction de ce texte.

BIBLIOGRAPHIE

1. BERGER J, HINGLAIS N. Intercapillary deposits of IgA-IgG. *J Urol Nephrol*, 1968, **74**, 694-695.
2. D'AMICO G. The commonest glomerulonephritis in the world : IgA nephropathy. *Q J Med*, 1987, **64**, 709-727.
3. MESTECKY J, TOMANA M, CROWLEY-NOWICK PA et al. Defective galactosylation and clearance of IgA1 molecules as a possible etiopathogenic factor in IgA nephropathy. *Contrib Nephrol*, 1993, **104**, 172-182.
4. ALLEN AC, HARPER SJ, FEEHALLY J. Galactosylation of N- and O-linked carbohydrate moieties of IgA1 and IgG in IgA nephropathy. *Clin Exp Immunol*, 1995, **100**, 470-474.
5. ALLEN AC, WILLIS FR, BEATTIE TJ et al. Abnormal IgA glycosylation in Henoch-Schonlein purpura restricted to patients with clinical nephritis. *Nephrol Dialysis Transplant*, 1998, **13**, 930-934.

6. TOMANA M, NOVAK J, JULIAN BA et al. Circulating immune complexes in IgA nephropathy consist of IgA1 with galactose-deficient hinge region and antiglycan antibodies. *J Clin Invest*, 1999, **104**, 73-81.
7. ZHENG F, KUNDU GC, ZHANG Z et al. Uteroglobin is essential in preventing immunoglobulin A nephropathy in mice. *Nat Med*, 1999, **5**, 1018-1025.
8. D'AMICO G. Pathogenesis of immunoglobulin A nephropathy. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 1998, **7**, 247-250.
9. JULIAN BA, TOMANA M, NOVAK J et al. Progress in the pathogenesis of IgA nephropathy. *Adv Nephrol Necker Hosp*, 1999, **29**, 53-72.
10. SCOLARI F. Familial IgA nephropathy. *J Nephrol*, 1999, **12**, 213-219.
11. SMITH SM, TUNG KS. Incidence of IgA-related nephritides in American Indians in New Mexico. *Hum Pathol*, 1985, **16**, 181-184.
12. SCHENA FP. Immunogenetic aspects of primary IgA nephropathy. *Kidney Int*, 1995, **48**, 1998-2013.
13. JENNETTE JC, WALL SD, WILKMAN AS. Low incidence of IgA nephropathy in blacks. *Kidney Int*, 1985, **28**, 944-950.
14. WYATT RJ, RIVAS ML, JULIAN BA et al. Regionalization in hereditary IgA nephropathy. *Am J Hum Genet*, 1987, **41**, 36-50.
15. GHARAVI AG, YAN Y, SCOLARI F et al. IgA nephropathy, the most common cause of glomerulonephritis, is linked to 6q22-23. *Nat Genet*, 2000, **26**, 354-357.
16. DE WERRA P, MOREL-MAROGER L, LEROUX-ROBERT C et al. Glomerulonephritis with diffuse IgA deposits in the mesangium. Study of 96 adult cases. *Schweiz Med Wochenschr*, 1973, **103**, 761-768.
17. SISSONS JG, WOODROW DF, CURTIS JR et al. Isolated glomerulonephritis with mesangial IgA deposits. *Br Med J*, 1975, **3**, 611-614.
18. JOHNSTON PA, BROWN JS, BRAUMHOLTZ DA et al. Clinico-pathological correlations and long-term follow-up of 253 United Kingdom patients with IgA nephropathy. A report from the MRC Glomerulonephritis Registry. *Q J Med*, 1992, **84**, 619-627.
19. RAMBAUSEK M, HARTZ G, WALDHERR R et al. Familial glomerulonephritis. *Pediatr Nephrol*, 1987, **1**, 416-418.
20. TOLKOFF-RUBIN NE, COSIMI AB, FULLER T et al. IGA nephropathy in HLA-identical siblings. *Transplantation*, 1978, **26**, 430-433.
21. SABATIER JC, DUCRET F, COLON S et al. Intercapillary glomerulonephritis with IgA deposits in 2 HLA identical brothers. *J Urol Nephrol*, 1978, **84**, 672-675.
22. LEVY M. Multiplex families in IgA nephropathy. *Contrib Nephrol*, 1993, **104**, 46-53.
23. MASUDA J, SHIHKI H, FUJII Y et al. Identical twin sisters with IgA nephropathy. *Nippon Jinzo Gakkai Shi*, 1996, **38**, 52-56.
24. LI PK, BURNS AP, SO AK et al. Familial IgA nephropathy : a study of HLA class II alloantigenotypes in a Chinese kindred. *Am J Kidney Dis*, 1992, **20**, 458-462.
25. KABASAKAL C, KESKINOGLU A, MIR S et al. IgA nephropathy occurring in two siblings of three families. *Turk J Pediatr*, 1997, **39**, 395-401.
26. SCOLARI F, AMOROSO A, SAVOLDI S et al. Familial clustering of IgA nephropathy : further evidence in an Italian population. *Am J Kidney Dis*, 1999, **33**, 857-865.
27. JULIAN BA, QUIGGINS PA, THOMPSON JS et al. Familial IgA nephropathy. Evidence of an inherited mechanism of disease. *N Engl J Med*, 1985, **312**, 202-208.
28. SCOLARI F, AMOROSO A, SAVOLDI S et al. Familial occurrence of primary glomerulonephritis : evidence for a role of genetic factors. *Nephrol Dialysis Transplant*, 1992, **7**, 587-596.
29. O'CONNELL PJ, IBELS LS, THOMAS MA et al. Familial IgA nephropathy : a study of renal disease in an Australian aboriginal family. *Aust N Z J Med*, 1987, **17**, 27-33.
30. HOY WE, HUGHSON MD, SMITH SM et al. Mesangial proliferative glomerulonephritis in southwestern American Indians. *Am J Kidney Dis*, 1993, **21**, 486-496.
31. HOY WE, MEGILL DM. End-stage renal disease in southwestern Native Americans, with special focus on the Zuni and Navajo Indians. *Transplant Proc*, 1989, **21**, 3906-3908.
32. HUGHSON MD, MEGILL DM, SMITH SM et al. Mesangiopathic glomerulonephritis in Zuni (New Mexico) Indians. *Arch Pathol Lab Med*, 1989, **113**, 148-157.

33. JULIAN BA, WOODFORD SY, BAEHLER RW et al. Familial clustering and immunogenetic aspects of IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis*, 1988, **12**, 366-370.
34. TIZARD EJ. Henoch-Schonlein purpura. *Arch Dis Child*, 1999, **80**, 380-383.
35. DOHERTY CC, MIDDLETON DT, HILL CM. Hereditary glomerulonephritis of non-Alport type. *Proc Eur Dial Transplant Assoc*, 1983, **19**, 575-581.
36. PATEL U, BRADLEY JR, HAMILTON DV. Henoch-Schonlein purpura after influenza vaccination. *Br Med J*, 1988, **296**, 1800.
37. SMITH SM, HOY WE. Frequent association of mesangial glomerulonephritis and alcohol abuse : a study of 3 ethnic groups. *Mod Pathol*, 1989, **2**, 138-143.
38. RISCH N, MERIKANGAS K. The future of genetic studies of complex human diseases. *Science*, 1996, **273**, 1516-1517.
39. HSU SI, RAMIREZ SB, WINN MP et al. Evidence for genetic factors in the development and progression of IgA nephropathy. *Kidney Int*, 2000, **57**, 1818-1835.
40. FENNESSY M, HITMAN GA, MOORE RH et al. HLA-DQ gene polymorphism in primary IgA nephropathy in three European populations. *Kidney Int*, 1996, **49**, 477-480.
41. KIM YS, KANG D, KWON DY et al. Uteroglobulin gene polymorphisms affect the progression of immunoglobulin A nephropathy by modulating the level of uteroglobulin expression. *Pharmacogenetics*, 2001, **11**, 299-305.
42. SZELESTEI T, BAHRING S, KOVACS T et al. Association of a uteroglobulin polymorphism with rate of progression in patients with IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis*, 2000, **36**, 468-473.
43. SPIELMAN RS, MCGINNIS RE, EWENS WJ. Transmission test for linkage disequilibrium : the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Am J Hum Genet*, 1993, **52**, 506-516.
44. PELTONEN L, MCKUSICK VA. Genomics and medicine. Dissecting human disease in the postgenomic era. *Science*, 2001, **291**, 1224-1229.
45. LANDER E, KRUGLYAK L. Genetic dissection of complex traits : guidelines for interpreting and reporting linkage results. *Nat Genet*, 1995, **11**, 241-247.
46. LANDER ES, SCHORK NJ. Genetic dissection of complex traits. *Science*, 1994, **265**, 2037-2048.
47. RISCH NJ. Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature*, 2000, **405**, 847-856.
48. HUGOT JP, CHAMAILLARD M, ZOUALI H et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*, 2001, **411**, 599-603.
49. OGURA Y, BONEN DK, INOHARA N et al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*, 2001, **411**, 603-606.
50. RIOUX JD, DALY MJ, SILVERBERG MS et al. Genetic variation in the 5q31 cytokine gene cluster confers susceptibility to Crohn disease. *Nat Genet*, 2001, **29**, 223-228.