



ASSISTANCE PUBLIQUE  HÔPITAUX DE PARIS

**ORKiD** FILIÈRE ORPHAN KIDNEY DISEASES



# Syndrome Néphrotique Idiopathique à Rechute : de l'atteinte immunitaire à l'atteinte podocytaire 15 ans de recherche

Vincent Audard  
Service de Néphrologie et Transplantation  
Inserm U955

Centre de référence SNI enfant et adulte  
CHU HENRI-MONDOR

Département  
Hospitalo-Universitaire



VIRUS·IMMUNITÉ·CANCERS



UNIVERSITÉ PARIS-EST CRÉTEIL



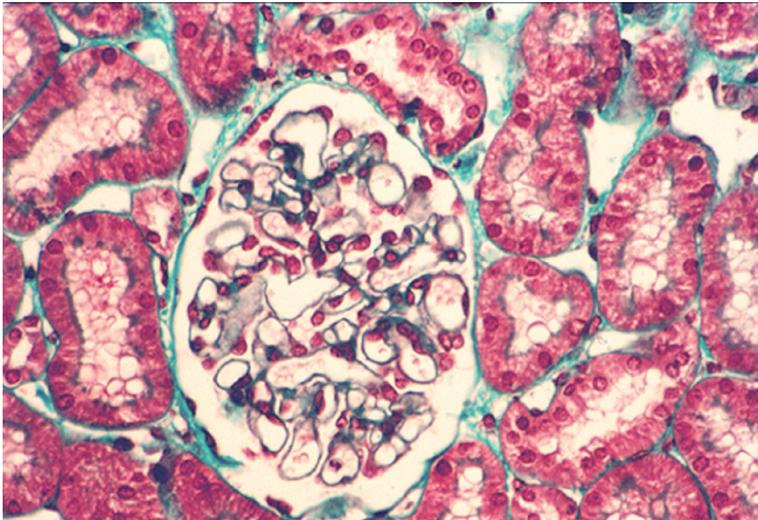
INSTITUT MONDOR  
DE RECHERCHE  
BIOMÉDICALE

# Syndrome Néphrotique Idiopathique



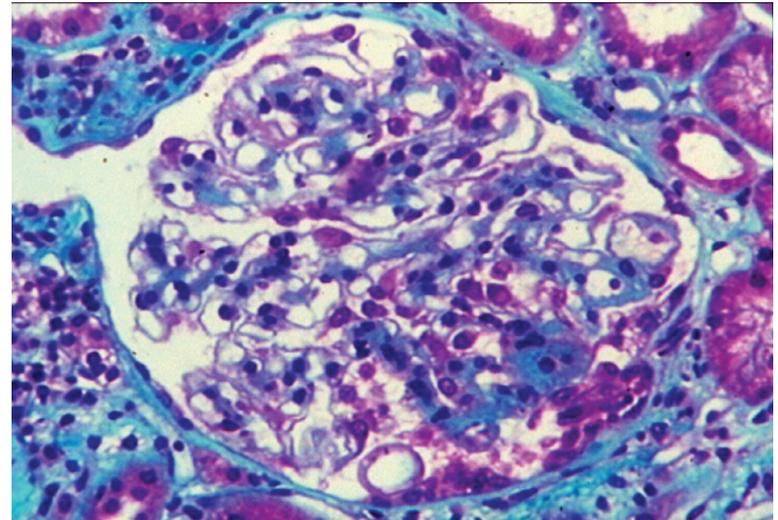
**SNLGM**

*10-15% des SN de l'adulte  
75% enfant*



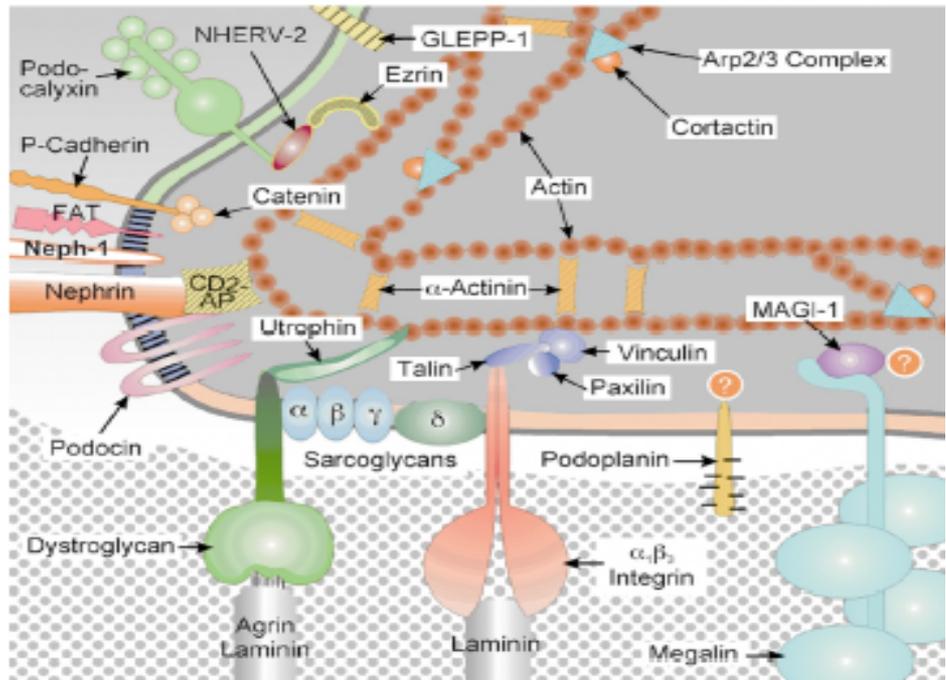
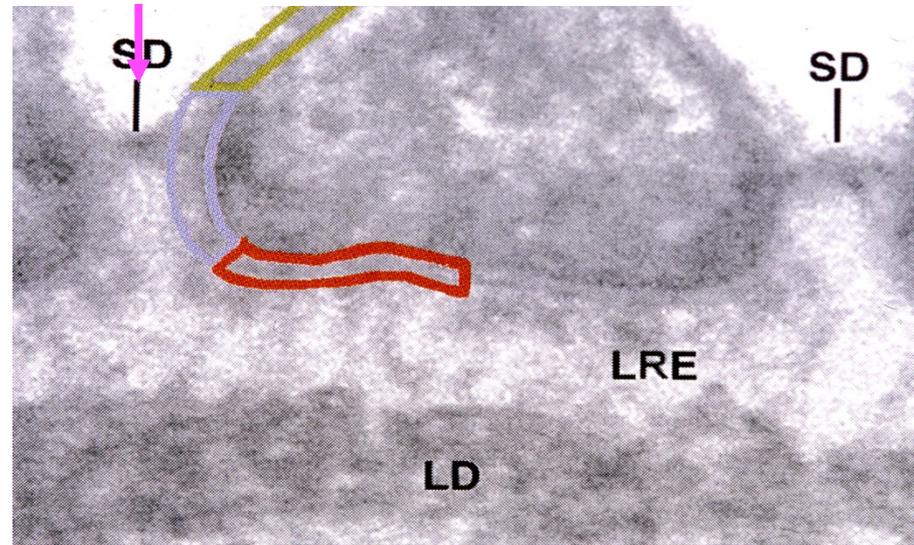
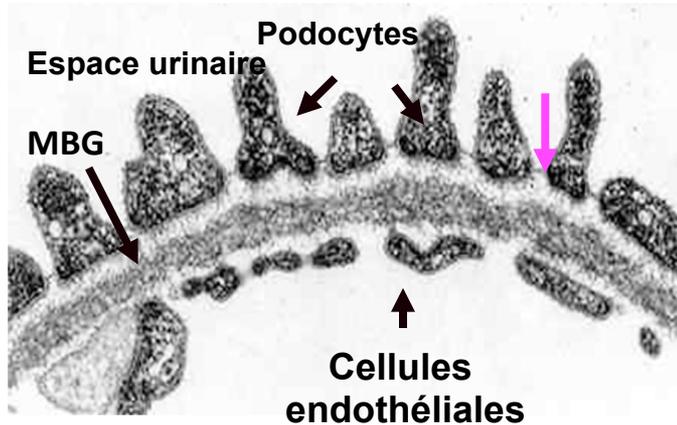
**HSFP**  
**Hyalinose Segmentaire et  
Focale Primitive**

*30% des SN de l'adulte  
20% enfant*



↳ **Altérations du Podocyte** ←

# Structure du filtre glomérulaire et mécanismes du SNI



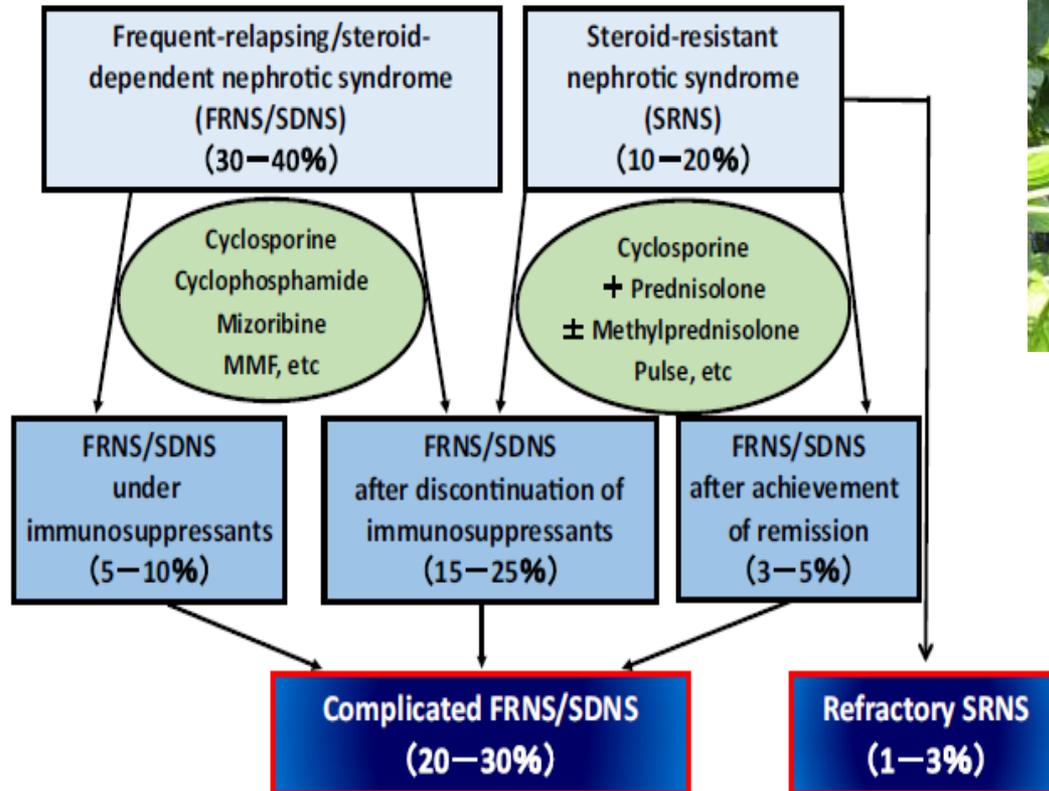
- **SNI d'origine génétique corticorésistant:**

- Altérations des gènes codant pour des protéines constitutives du diaphragme de fente (*Néphrine, Podocine, Alpha actinine 4, TRPC6, CD2AP, phospholipase C epsilon, Formin*)

- **SNI à rechutes corticosensible ?**

# Pourquoi la recherche sur le SNI ?

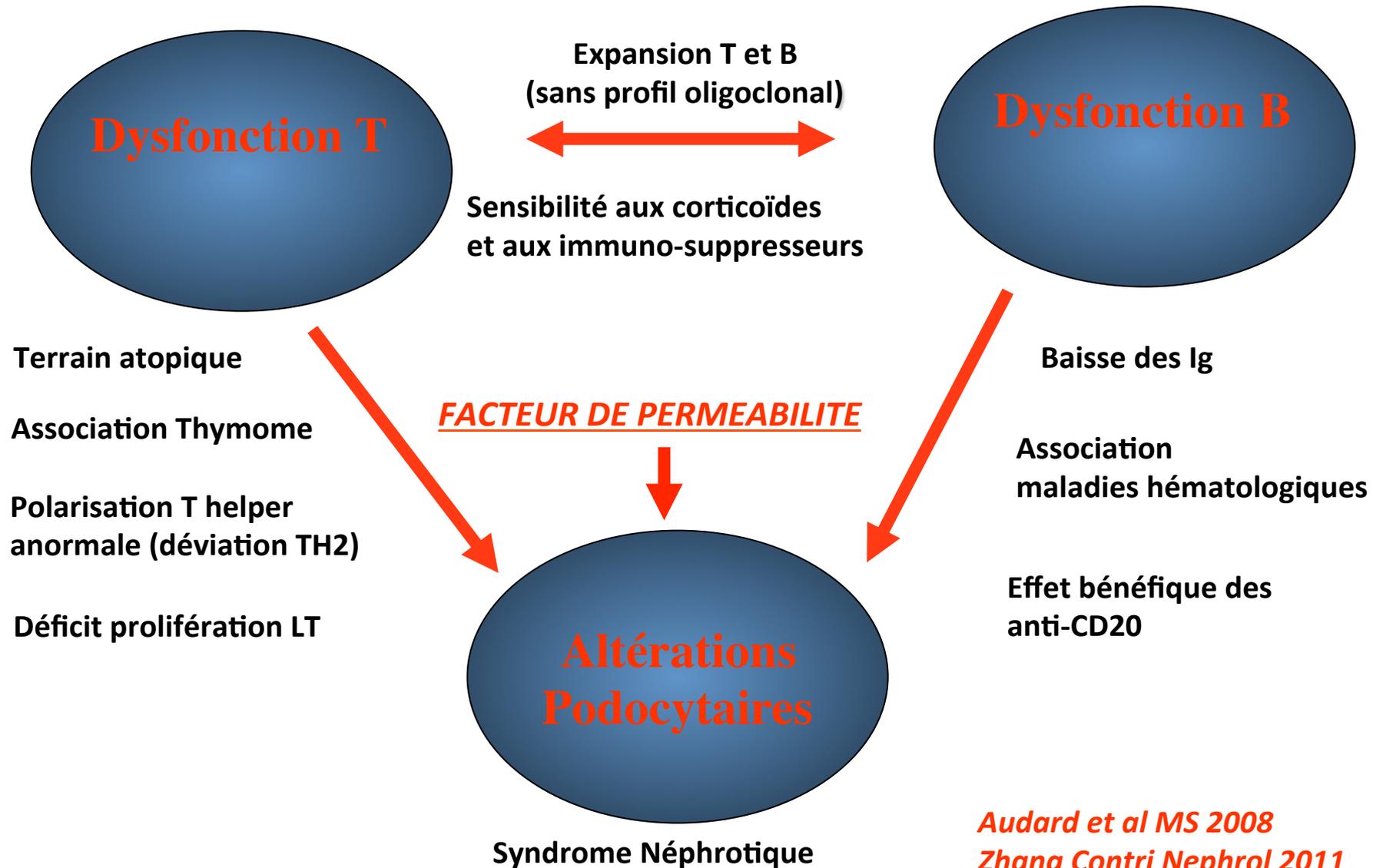
## Comprendre les mécanismes physiopathologiques



- **Nouvelles cibles thérapeutiques**
- **Moins d'effets secondaires**
- **Meilleure sensibilité aux traitements**

Fig. 1 Complicated frequent-relapsing/steroid-dependent nephrotic syndrome and steroid-refractory nephrotic syndrome. MMF mycophenolate mofetil

# Syndrome néphrotique idiopathique à rechutes (LGM, HSF primitives)



# Anomalies Lymphocytaires T

- **Gènes induits dans les LT**

- **Clonage soustractif et criblage différentiel**

- 84 transcrits (42 gènes connus, 12 connus mais fn inconnu, 30 inconnus)

- Découverte du gène c-mip *Sahali D JASN 2002*

- **SAGE**

- 200 ARNm induits en P *Mansour H KI 2005*

- **Microarrays**

- Induction (x2) de 171 gènes sur 24446 analysés : 21 impliqués dans transduction du signal LT

Manque de reproductibilité :

*Komatsuda A Am J Nephrol 2008*

- Fond immunogénétique des patients ??
- Manque appariement P/R ??
- Liées aux Techniques ??

- **Activation de facteurs de transcription**

- **NFkB**

- Activé au cours des Poussées

- **C-maf**

*Valanciute A JI 2004*

L'induction de c-maf est liée l'activation de c-mip

*Sahali D JASN 2001*

*Grimbert J Ex Med 2002*

# Rôle des cellules T régulatrices

## Rat Buffalo/MNA HSF mimant la maladie

La diminution de la protéinurie dans le modèle du rat, Buffalo/Mna par un analogue de la deoxyspergualine

- Est associée à l'induction de cellules T reg

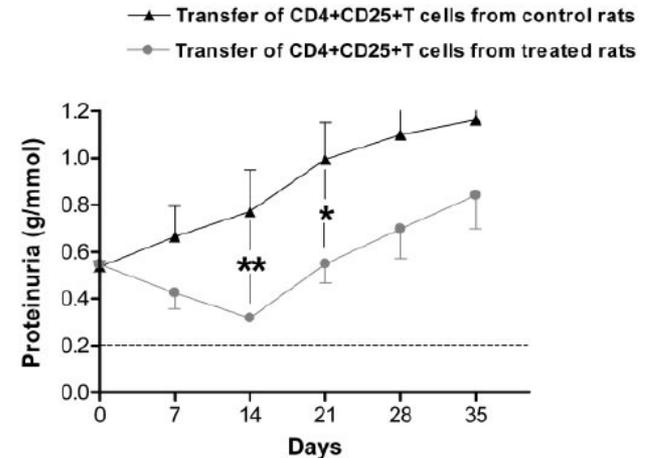
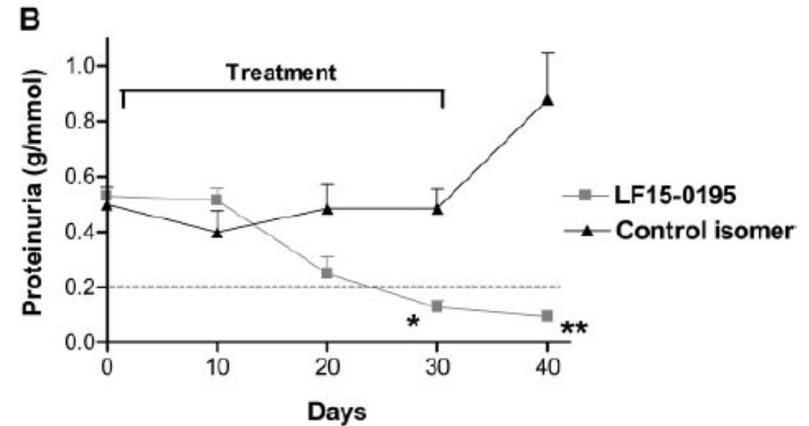
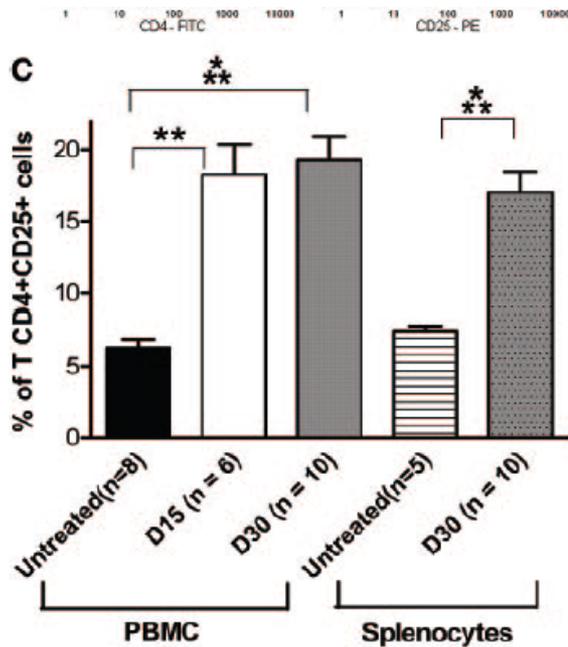


Figure 6. Transient regulation of nephropathy after transfer of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cells from Buff/Mna rats in remission into Buff/Mna rats. Purified CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cells from LF15-0195-treated Buff/Mna were injected into 4 Gy-irradiated proteinuric Buff/Mna

Le transfert de Treg induit une diminution de la Protéinurie

Le Berre JCI 2002

Le Berre JASN 2008

# Anomalies Lymphocytaires B



## Efficacité du Rituximab

réduction par rapport au placebo le délai médian sans rechute (267 jours versus 101 jours,  $p < 0,0001$ )

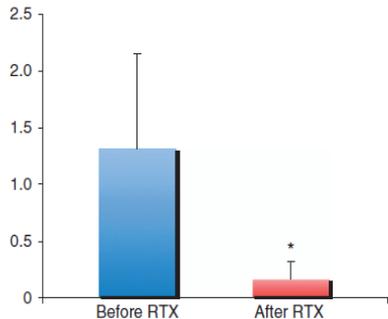
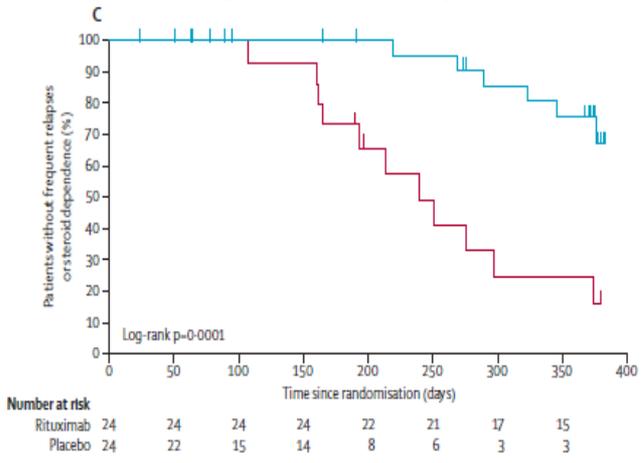
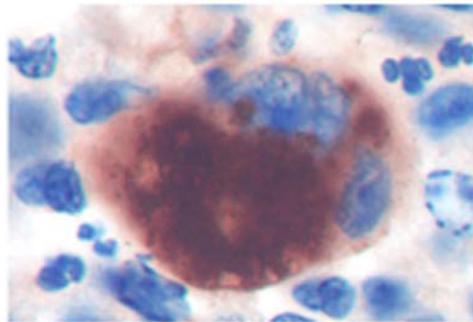


Figure 1 | Number of relapses per year before and after rituximab treatment (\* $P < 0.05$ ). Results are the mean  $\pm$  s.d.

- Munywali H et al KI 2013
- Iijima K et al Lancet 2014
- Ravani et al CJASN 2015

## Association Maladie Hématologique



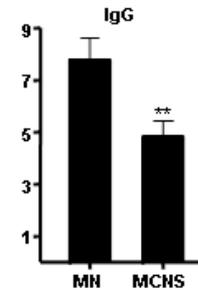
Induction de **c-mip** dans les cellules lymphocytaires  
Marqueur de l'association

Audard V et al Kidney Inter 2006

Audard V et al Blood 2010

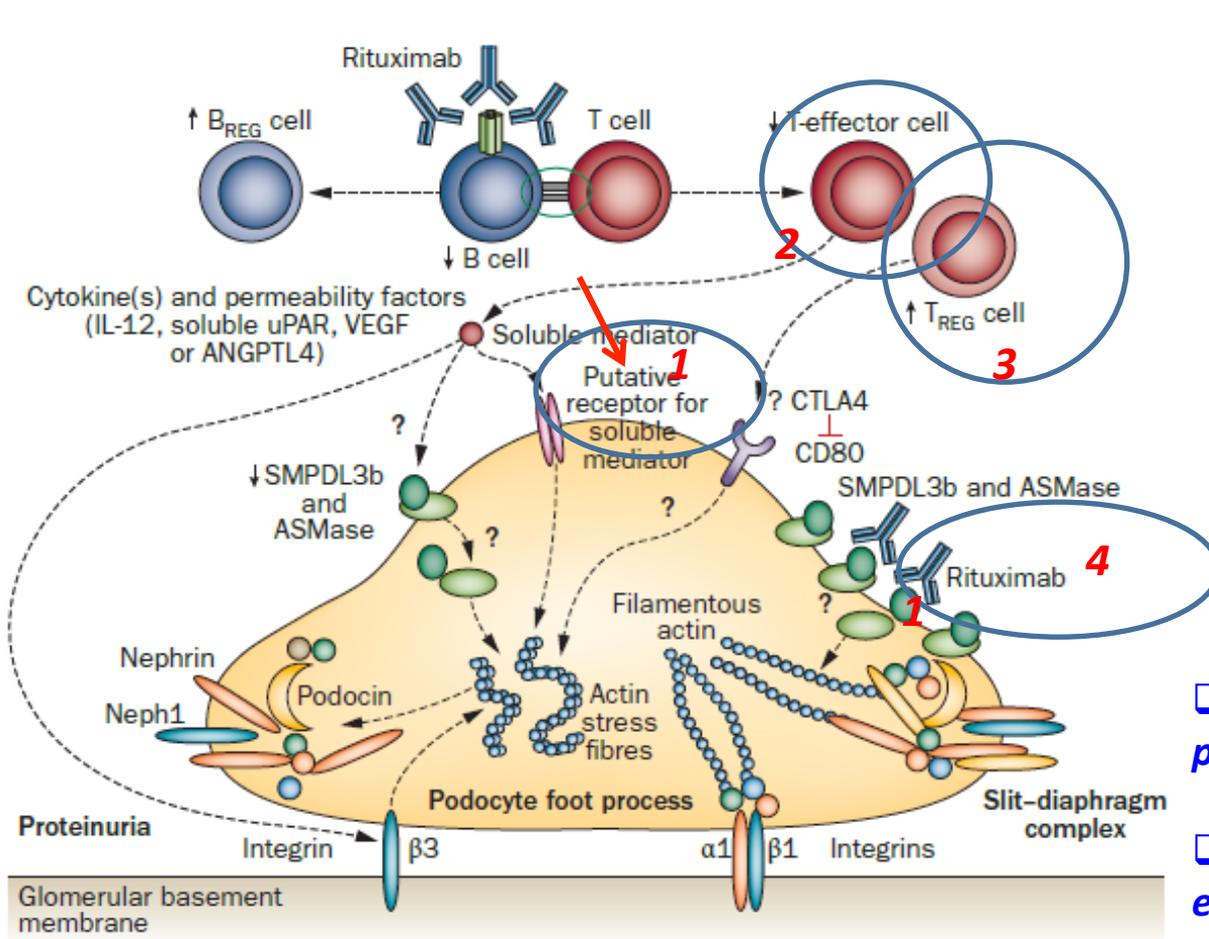
Kofman T et al Medicine 2015

## Baisse des Ig



Baisse non équivalente des sous classe (++) IgG1 et IgG3)

# Rituximab et SNI : Mécanismes d'action ???



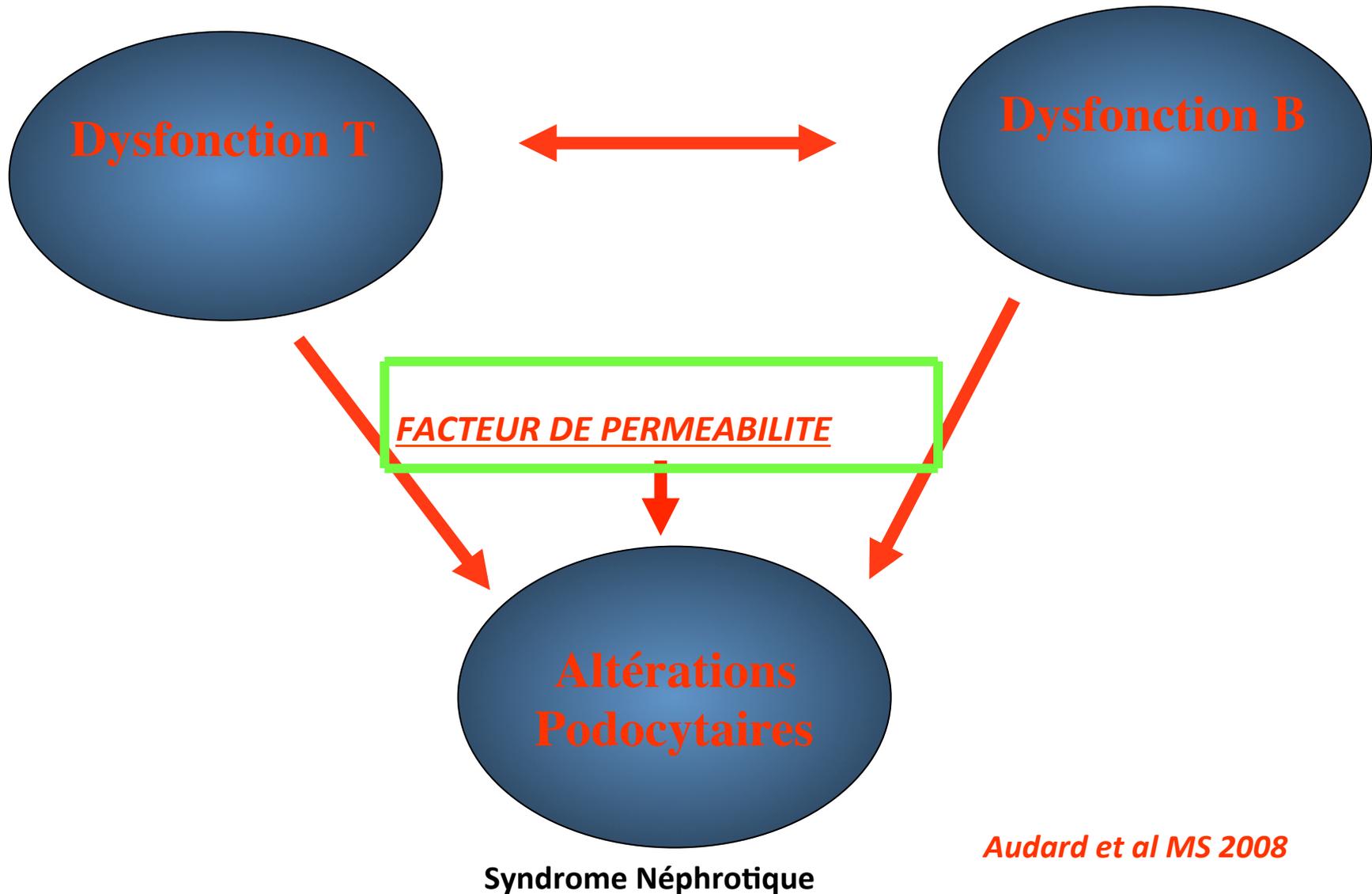
Inhibition de la synthèse du FPG par LB !!

Inhibition d'un contingent de LT exprimant le CD20

Expansion des LT Reg

Action directe sur le podocyte

**Syndrome néphrotique idiopathique à rechutes (LGM,  
HSF primitives)**

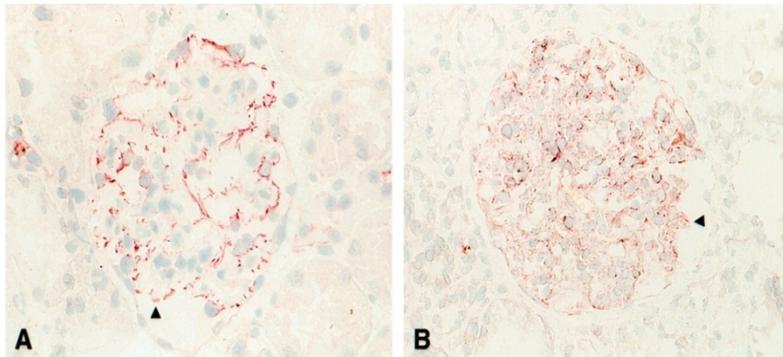


# Facteurs de perméabilité : de nombreux candidats .....

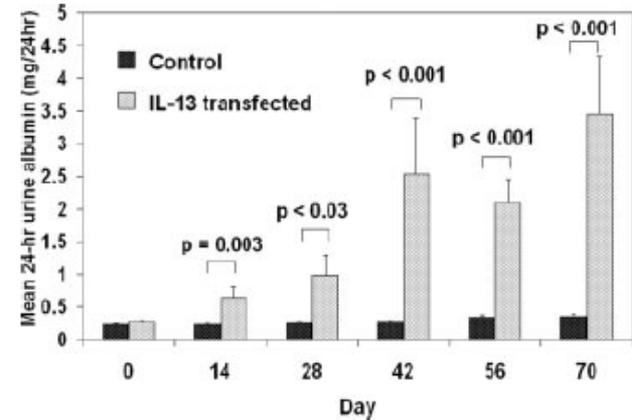
## Mais rien de très évident ....

### Rôle de IL13 ?

- Augmentation de l'IL13 en phase de poussée **Van den Berg et al JASN 1999**
- Expression du récepteur de l'IL4 et 13 sur les podocytes (Patients) **Yap et al JASN 1999**

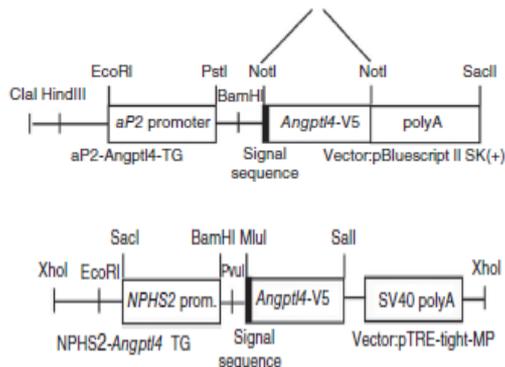


### La surexpression de l'IL13 induit un phénotype «MCNS like »



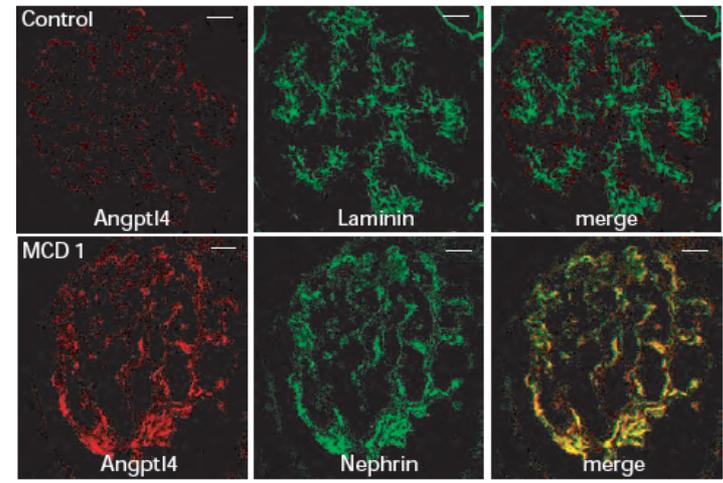
**Lai et al JASN 2007**

### Rôle de l'angiopoietine like 4 ?



**Pas de protéinurie (malgré taux élevé de ANGPTL4)**

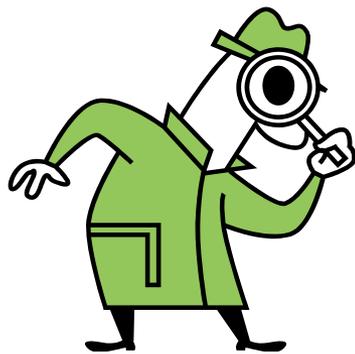
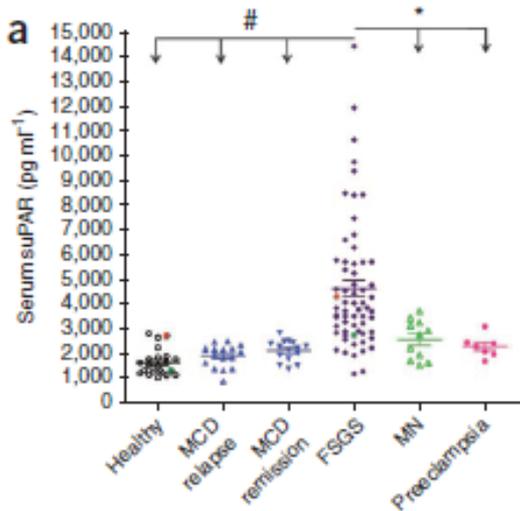
**Protéinurie (M1) et LGM**



**Clement LC Nat Med 2011**

# Facteurs de perméabilité : SuPAR or not SuPAR

**Serum soluble urokinase receptor (augmenté chez 70% des HSF MAIS Pas au cours SNLGM)**



**>3000 pg/ml spécifique de HSF !!!**

Pediatr Nephrol  
DOI 10.1007/s00467-013-2452-5

REVIEW

## Serum suPAR in patients with FSGS: trash or treasure?

Rutger J. H. Maas · Jeroen K. J. Deegens ·  
Jack F. M. Wetzels

## Is There Clinical Value in Measuring suPAR Levels in FSGS?

Sanja Sever,<sup>\*</sup> Howard Trachtman,<sup>†</sup> Changli Wei,<sup>‡</sup> and Jochen Reiser<sup>‡</sup>

Clin J Am Soc Nephrol 8: 1273–1275, 2013. doi: 10.2215/CJN.06170613

## suPAR is the circulating factor in some but not all FSGS

Howard Trachtman and Jochen Reiser

**Wei C, Reiser J Nat Med 2011**

### Administration of Recombinant Soluble Urokinase Receptor Per Se Is Not Sufficient to Induce Podocyte Alterations and Proteinuria in Mice

??

Dominique Cathelin,<sup>\*†</sup> Sandrine Placier,<sup>\*†</sup> Michael Ploug,<sup>‡</sup> Marie-Christine Verpont,<sup>\*†</sup> Sophie Vandermeersch,<sup>\*†</sup> Yosu Luque,<sup>\*†§</sup> Alexandre Hertig,<sup>\*†§</sup> Eric Rondeau,<sup>\*†§</sup> and Laurent Mesnard<sup>\*†§</sup>

## Plutôt un bio-marqueur des MRC

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

## Soluble Urokinase Receptor and Chronic Kidney Disease

### CONCLUSIONS

An elevated level of suPAR was independently associated with incident chronic kidney disease and an accelerated decline in the eGFR in the groups studied. (Funded by the Abraham J. and Phyllis Katz Foundation and others.)

### REPLY Measurement of serum suPAR is not ready for clinical use

Jeroen Deegens and Jack Wetzels

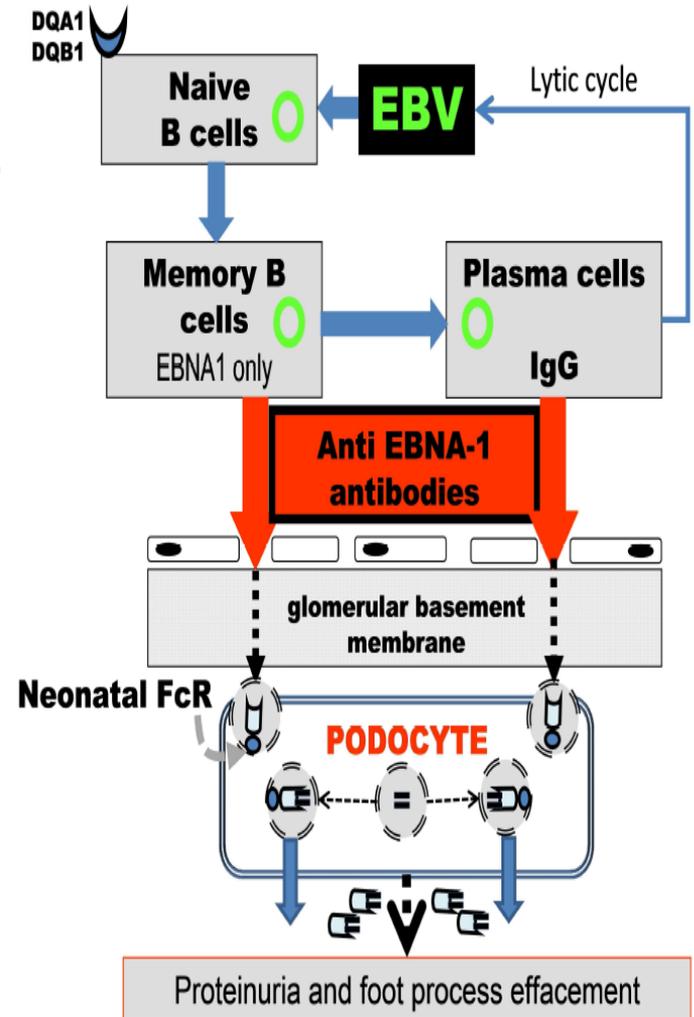
**Wei C, Reiser J NEJM 2015**

# Rôle des virus et anomalies lymphocytaires ?

Table 3 Prevalence of EBV and CMV antibodies, and viral DNA for EBV, CMV, HHV-6 and HHV-7 in patients and controls. Results of univariate analysis

Virus	DNA detection and serology		Cases N=124 N (%)		Controls N=196 N (%)	OR [95%IC]	p
EBV	DNA	-	61 (49.2) (50.8)		139 (70.9) (29.1)	1 2.6 [1.6; 4.2]	0.0002
		+	63		57		
	IgM VCA	-	80 (64.5) (16.9) (18.6)		139 (70.9) (7.1) (21.9)	1 2.3 [1.1; 4.7]	0.02
		+ missing data	21		14 43	1.0 [0.5; 1.9]	ns
			23				
IgG VCA	-	52 (41.9) (46.0) (12.1)		98 (50.0) (40.3) (9.7)	1 1.4 [0.9; 2.3]	ns	
	+ missing data	57		79	1.9 [0.8; 4.2]	ns	
		5		19			
IgG EBNA	-	61 (49.2)		106 (54.1)	1.2 [0.7; 2.0]	ns	
	+ missing data	49		72	1.7 [0.7; 4.0]	ns	
		14	(11.3)	18	(9.2)		
CMV	DNA	-	110 (88.7)		189 (96.4)	1	0.0217
		+	14 (11.3)		7 (3.6)	2.9 [1.2; 7.4]	
	IgM	-	67 (54.0)		127 (64.8)	1	0.01
		+ missing data	14 (11.3)		7 (3.6)	3.4 [1.3; 9.2]	ns
HHV-6	DNA	-	56 (45.2)		76 (38.8)	1	ns
		+	68 (54.8)		120 (61.2)	0.7 [0.5; 1.2]	

EBV, Epstein-Barr virus; CMV, cytomegalovirus; HHV-6, human herpesvirus-6; HHV-7, human herpesvirus-7; or, odds ratio



## Etude Nephrovir

Enfant de 6 mois à 15 ans région ile de France

Multiplication virale EBV plus fréquente chez patients que contrôles

# A circulating permeability factor in focal segmental glomerulosclerosis: the hunt continues

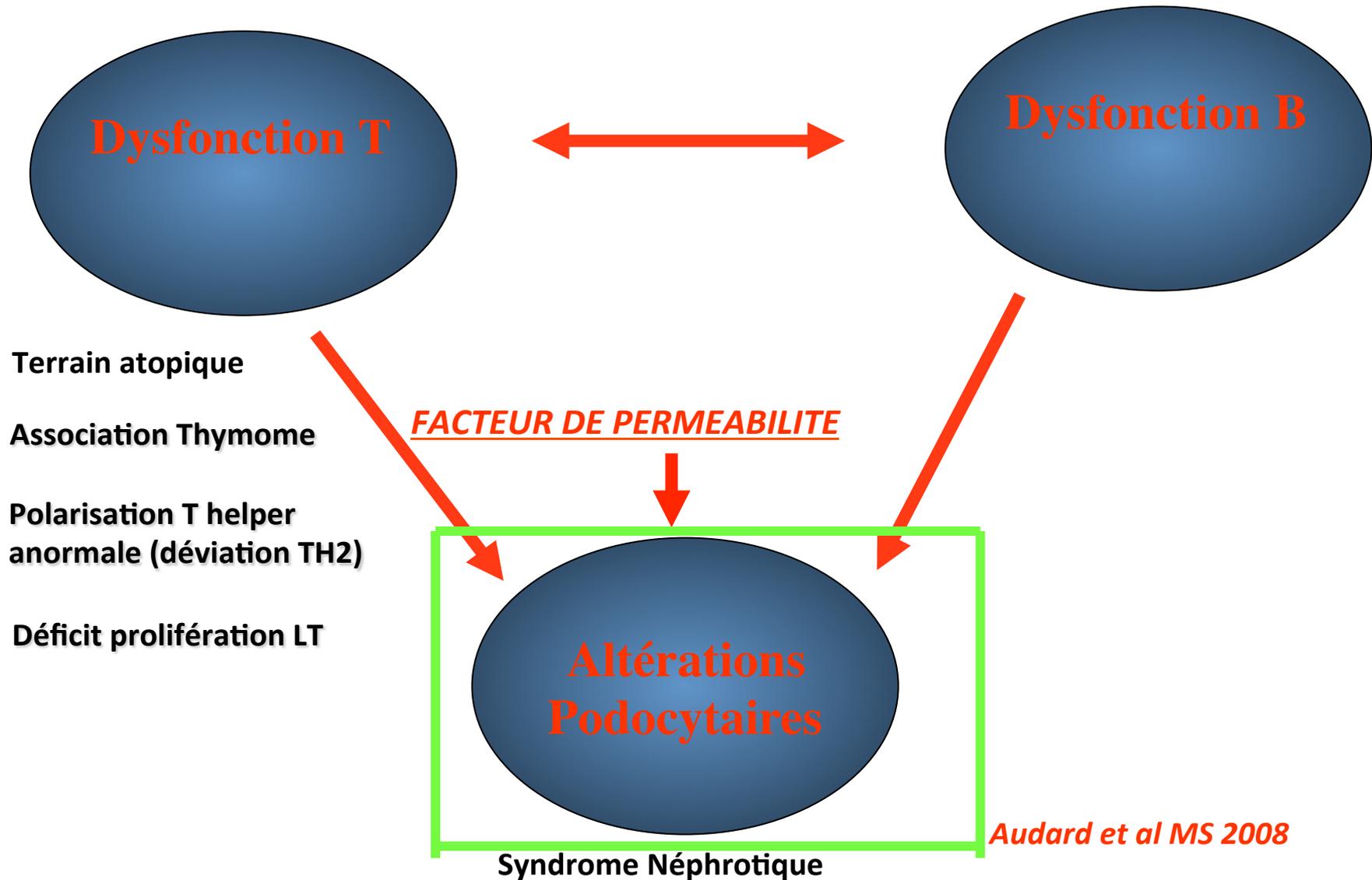
**Table 1.** Partial List of Proposed Humoral Mediators of Glomerular Permeability in Idiopathic Nephrotic Syndromes

Candidate Factor	Major Findings	Example References
Permeability factors from T cells	Stimulation of T cells from nephrotic individuals releases substance(s) that induce vascular permeability in guinea pigs; secreted products of a T-cell hybridoma from MCD individual induces proteinuria when injected into rats	11, 22
Hemopexin	Present in normal and MCD plasma; proteinuria after injection into rats with decreased nephron expression in rat glomeruli	23-25
IL-13	Overexpression in rats produces features of nephrotic syndrome without histologic changes	26
CLC-1	Present in FSGS plasma; induces permeability in isolated glomeruli; decreases nephron expression ex vivo and in vitro	27
Angptl4	Induced in multiple rodent proteinuric models; podocyte transgenic rats develop proteinuria	27
suPAR	Induced in FSGS, but not MCD, patient sera; transgenic mice develop FSGS and proteinuria	6

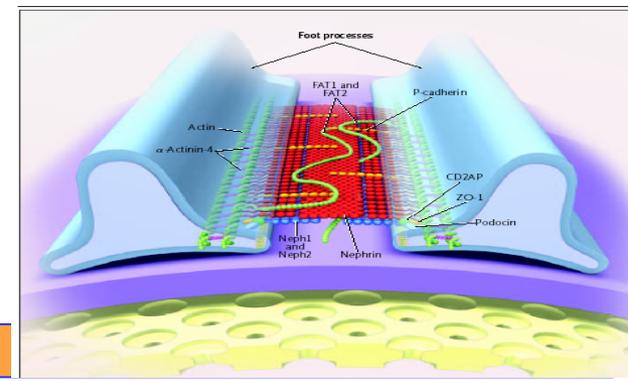
*Note:* Other proposed mediators include vascular endothelial growth factor, heparinase, sialidase, and C-mip (intracellular protein).

Abbreviations: Angptl4, angiopoietin-like 4; CLC-1, cardiotrophin-like cytokine 1 (also known as CLCF1); FSGS, focal segmental glomerulosclerosis; IL-13, interleukin 13; MCD, minimal change disease; suPAR, soluble urokinase plasminogen activator receptor.

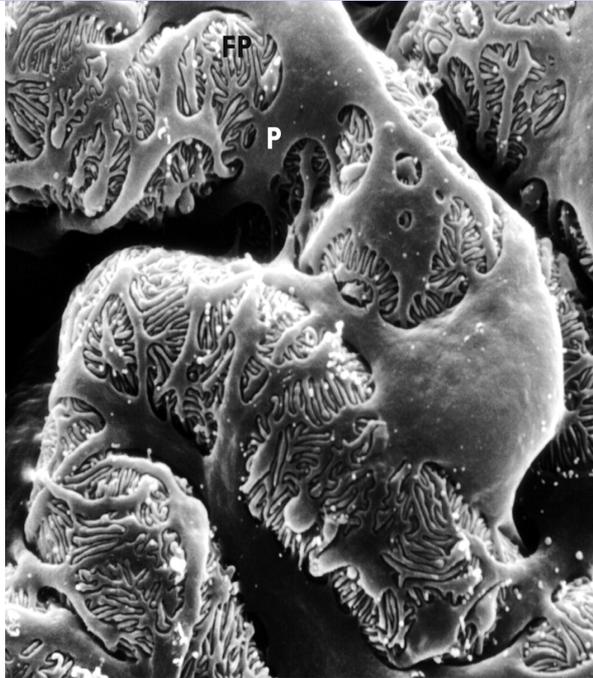
# **Syndrome néphrotique idiopathique à rechutes (LGM, HSF primitives)**



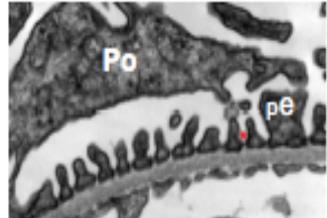
# Altération de la signalisation Podocytaire au cours du SNI



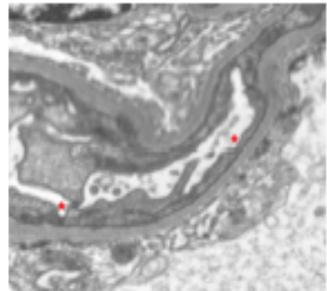
Néphrine



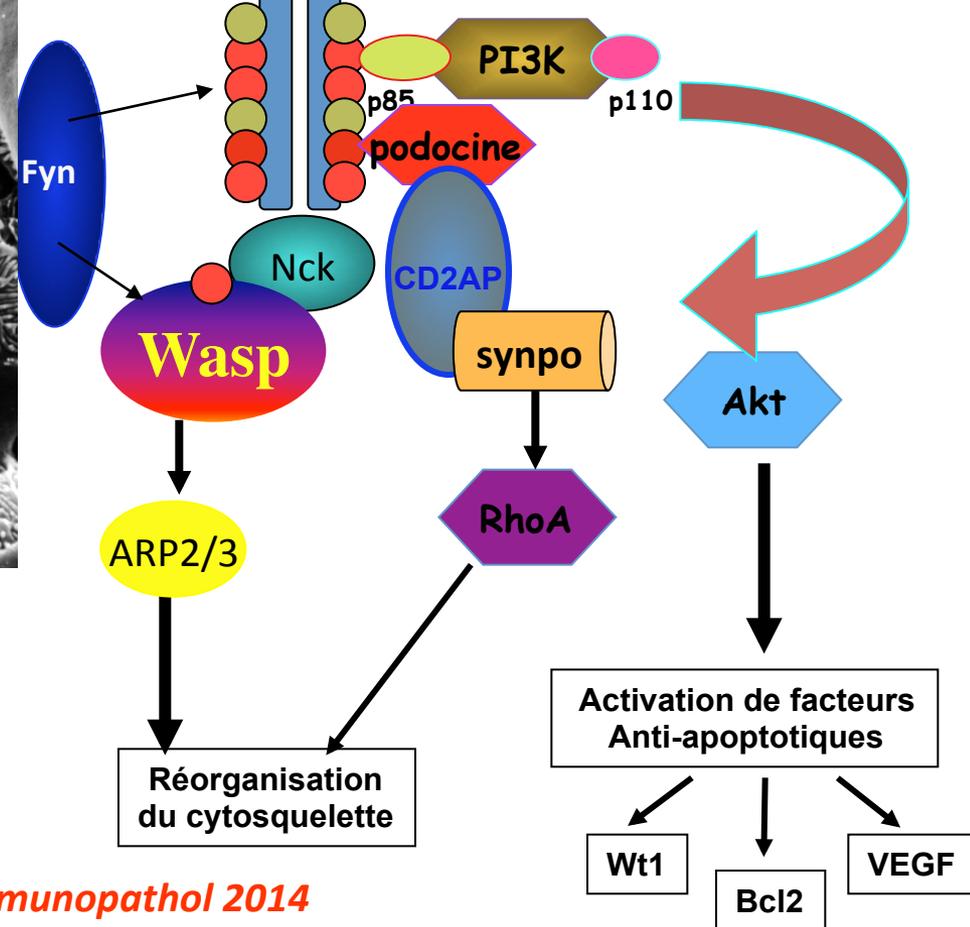
Perte de la membrane interpodocytaire et affaissement des podocytes



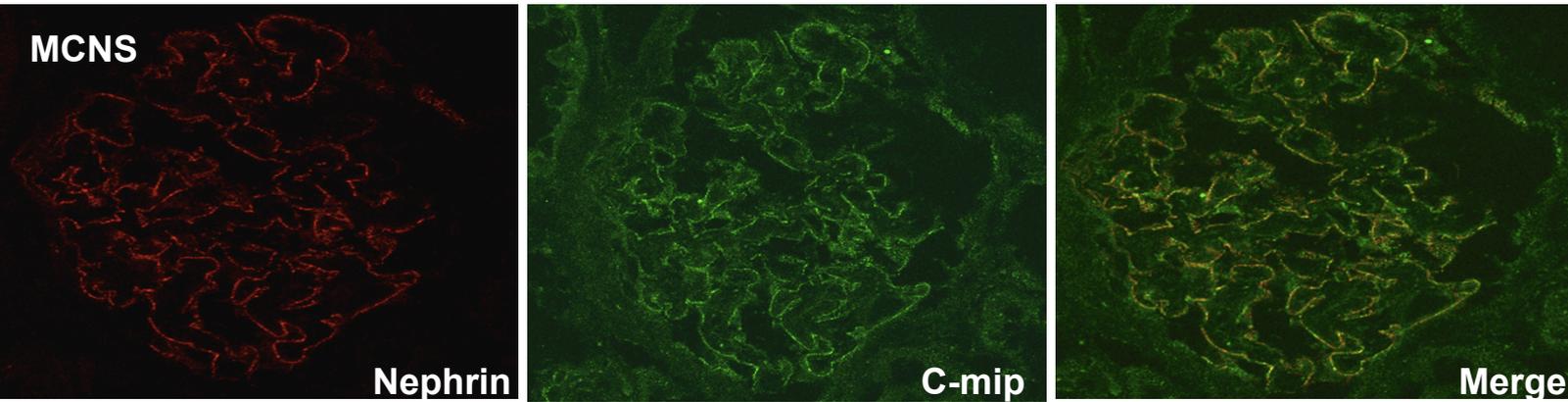
Podocyte normal



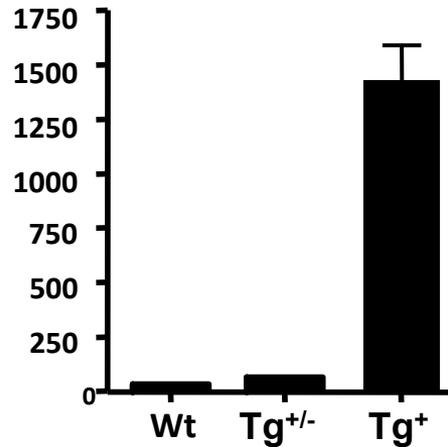
Podocyte dans le syndrome néphrotique



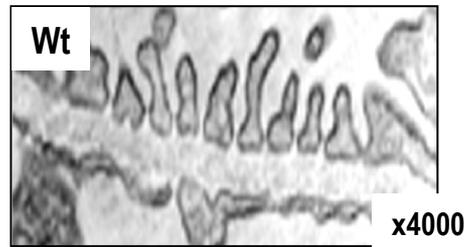
# Rôle de c-mip dans l'atteinte podocytaire du SNI à rechutes



C-mip est induit dans les podocytes des patients atteints de SNI à rechute



Les souris exprimant c-mip dans les podocytes ont un phénotype proche du SNLGM



*Ory AM J Pathol 2012*



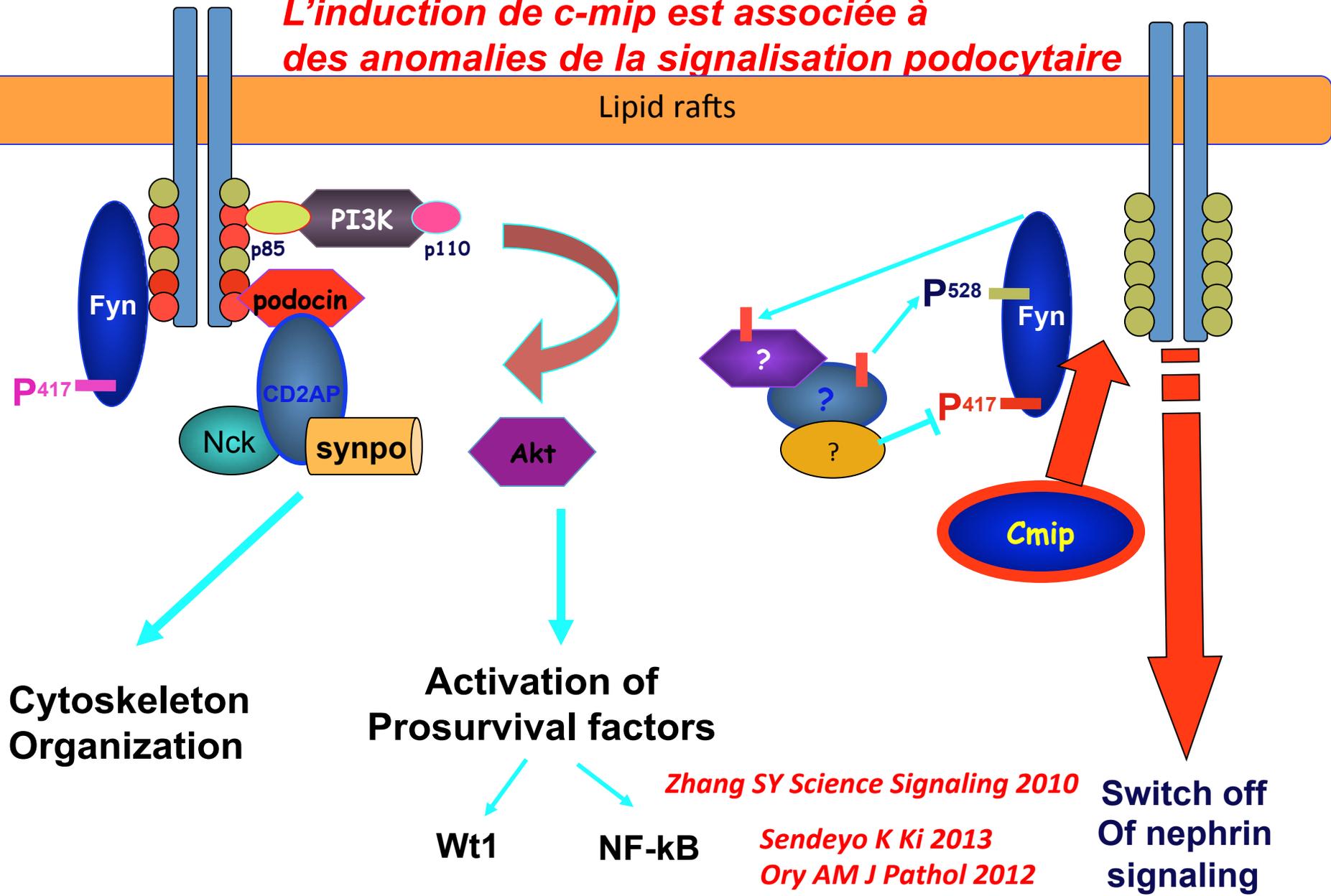
*Zhang SY Science signaling 2010*

L'inhibition de l'expression de c-mip dans les podocytes (Ciclosporine, SiRNA) s'accompagne d'une baisse de la protéinurie

*Sendeyo K Ki 2013*

*Zhang SY Science signaling 2010*

**L'induction de c-mip est associée à des anomalies de la signalisation podocytaire**



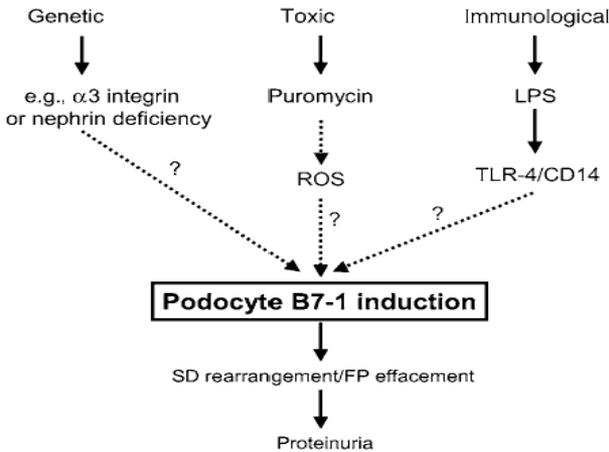
*Zhang SY Science Signaling 2010*

*Sendeyo K Ki 2013*

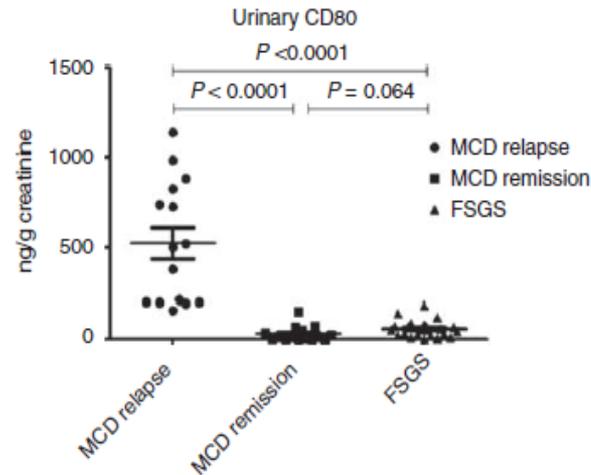
*Ory AM J Pathol 2012*

*Uchida et al KI 2008*

# Rôle de B-7-1 (CD80) dans l'atteinte podocytaire

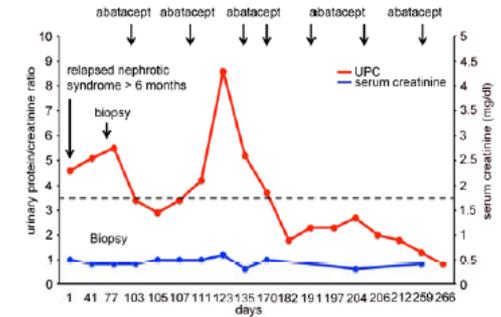


Reiser J JCI 2004

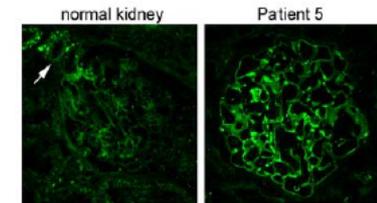


Garin EH KI 2010

A Patient 5



B



•5 patients

4 récides HSF post TR et 1 HFS rein natif)

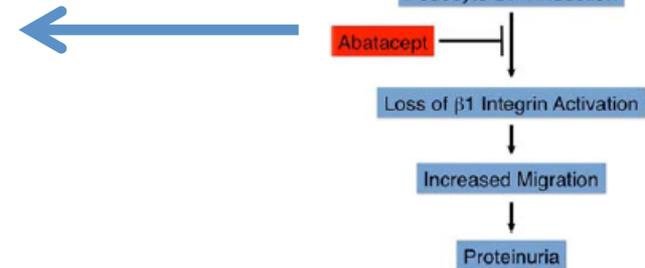
In this study, we observed that B7-1 blockade was ineffective at inducing proteinuria remission in adults and children with recurrent FSGS after Tx. Furthermore, our coimmunostaining experiments revealed that B7-1 was not expressed in podocytes in the post-transplant biopsies of these patients. We confirmed that

Delville M JASN 2016

In conclusion, since B7-1 is not induced in podocyte of MCD and FSGS patients, the antiproteinuric action of abatacept -if confirmed- may not be the result of an effect on podocyte B7-1.

Novelli A J Renal Physiol 2016

Yu CC NEJM 2013



# Effets des traitements sur le podocyte

## • Efficacité de la CsA

➤ La synaptopodine phosphorylée se lie à la p 14-3-3

➤ La calcineurine déphosphoryle la synaptopodine provoquant sa dégradation par la cathepsine L (protéinurie)

*Faul et al Nat Med 2008*

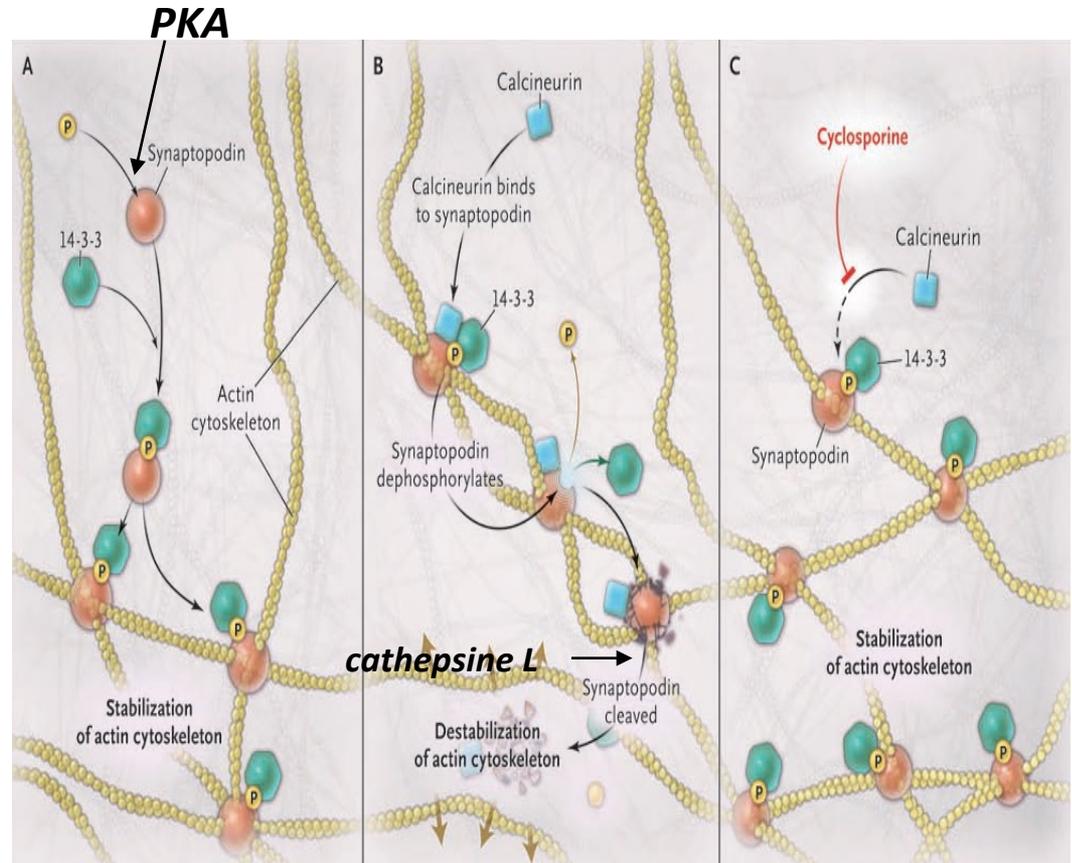
## • Efficacité des corticoïdes

➤ Les corticoïdes se lient à leur récepteur présent à la surface des podocytes

- Augmentent l'activité RhoA favorisant la polymérisation des filaments d'actine

- Induisent des voies antiapoptotiques

- Augmentent la phosphorylation de la néphrine

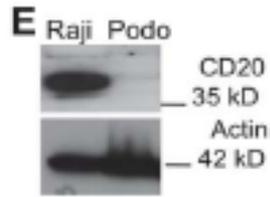


*Mathieson PW Nature Review nephrol 2012*

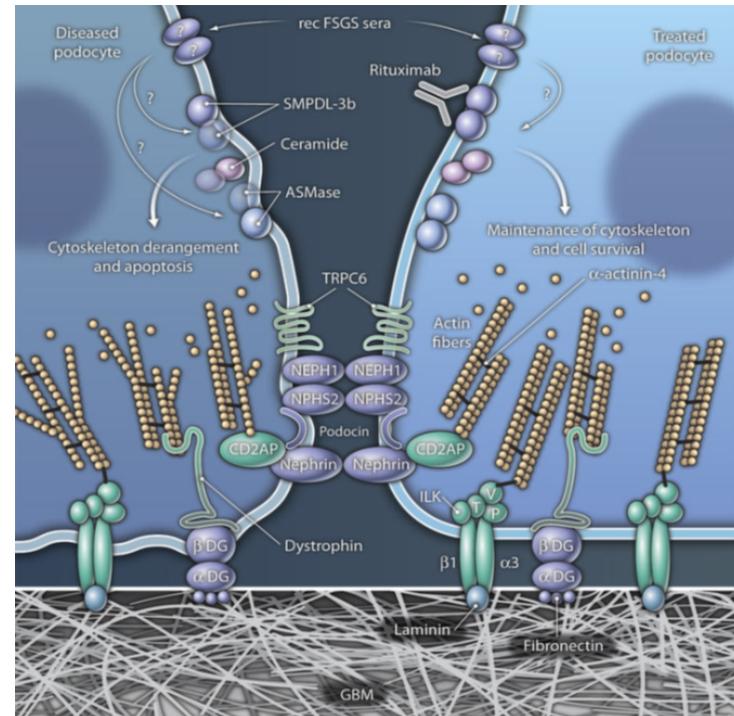
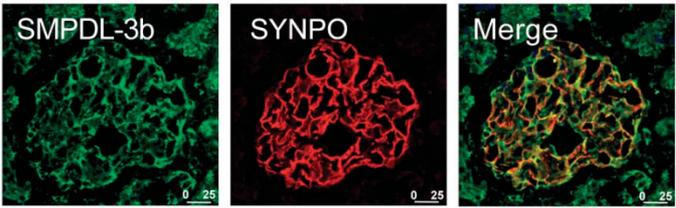
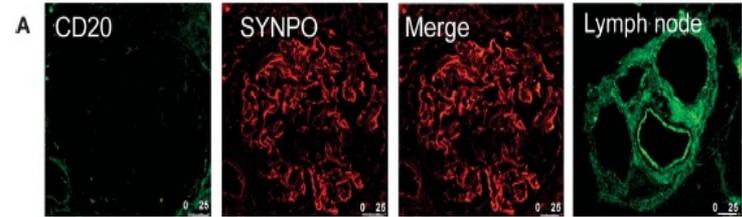
# Isseurs et cytosquelette podocytaire

## • Efficacité du Rituximab

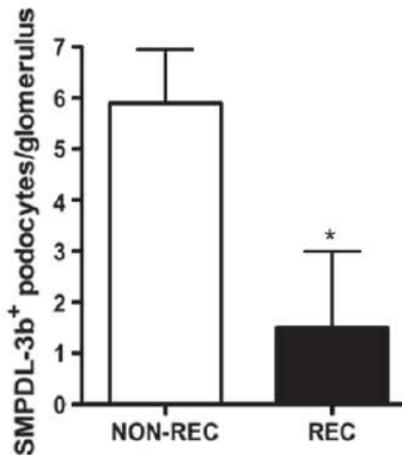
*Sphingomyelin phosphodiesterase acide like 3b SMPDL 3B*



## RHN et Récidive CD20 -



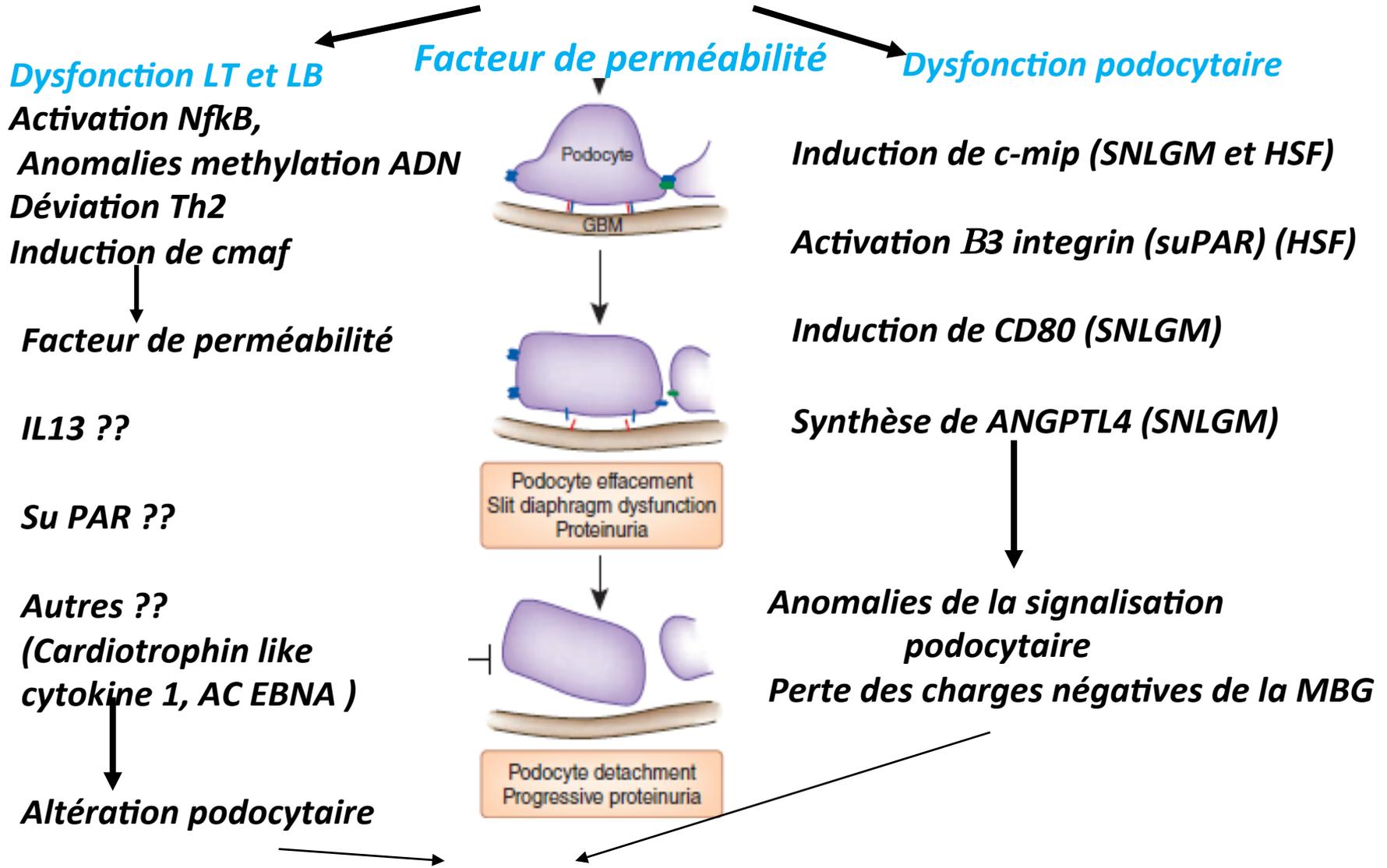
*Diminution de SMPDL sur les biopsies de récidive*



*Le sérum en Récidive est responsable d'une diminution de l'expression de SMPDL (désorganisation du cytosque podocytaire) Ritux se lie et protège SMPDL*

# Conclusion

## SNI à rechutes



**Lésions podocytaires : Effet direct des ISSEURS ???**