

Base polygénique de la dysplasie fibromusculaire artérielle

Takiy-Eddine Berrandou^{1,2}, Nabila Bouatia-Naji¹

> La dysplasie fibromusculaire (DFM) artérielle est une maladie caractérisée par la présence de sténoses et d'anévrismes des artères musculaires¹ comme les artères rénales ou celles issues des troncs supra-aortiques². La forme la plus fréquente (> 80 % des cas) est multifocale : présence de sténoses multiples de l'artère affectée, donnant l'aspect caractéristique « en collier de perles » visible à l'angiographie ou la tomodensitométrie [1] (Figure 1A). La DFM est diagnostiquée principalement chez des femmes d'âge moyen (environ 80 % des cas), avec peu ou pas de facteurs de risque cardiovasculaire comme l'obésité ou la dyslipidémie. Le diagnostic est souvent fortuit lors d'un examen radiologique dans le cadre d'un don de rein pour une greffe, de la recherche de la cause d'une hypertension artérielle atypique ou résistante au traitement, ou encore d'un accident vasculaire cérébral en l'absence de facteur de risque cardiovasculaire associé.

La recherche génétique sur la DFM a longtemps été infructueuse, par manque d'un modèle génétique et de grandes familles comportant plusieurs sujets atteints permettant une recherche de liaison génétique. Plus récemment, l'analyse d'association génétique de variants fréquents

de type SNP (*single nucleotide polymorphism*) avait impliqué un locus de prédisposition à la maladie situé dans le gène *PHACTR1* (*phosphatase and actin regulator 1*) [2]. Ce locus contient un SNP (rs9349379) fréquent (0,60) qui est associé avec le risque de plusieurs maladies vasculaires, y compris la DFM, les coronaropathies, la migraine et l'hypertension artérielle [3]. À la suite de ce résultat, nous avons réalisé la première étude d'association pangénomique (*genome-wide association study*, GWAS) à la recherche d'autres locus de prédisposition à la DFM. Nous avons étudié les génotypes d'environ 5,5 millions de SNP fréquents (fréquence de l'allèle mineur > 0,01) dans une méta-analyse de six GWAS (trois réalisées en Europe, dont l'étude française ARCADIA, et trois réalisées aux États-Unis), concernant au total environ 1 550 sujets atteints de la forme multifocale de DFM et environ 7 100 témoins [4] (Figure 1B).

Nous avons d'abord exploré les bases génétiques de la DFM en analysant le génome entier par la méthode de régression du score de déséquilibre de liaison (*linkage disequilibrium score regression*, LDSR) [5], qui permet de quantifier séparément les contributions des effets polygéniques et de divers facteurs de confusion, tels que la stratification de la population³. Nous avons ainsi estimé l'héritabilité de la DFM à environ 43 %, ce qui confirme qu'il s'agit d'une maladie polygénique. La méthode LDSR nous a également permis de comparer la DFM

¹Université Paris Cité, Inserm, PARCC, F-75015 Paris, France.

²*Quantitative genetics and genomics* (QGG), Aarhus university, Aarhus, Danemark. nabila.bouatia-naji@inserm.fr

avec plusieurs autres maladies auxquelles elle est souvent associée (Figure 1C). Nous avons ainsi mis en évidence des corrélations génétiques (notées *rg*) positives entre la DFM et les valeurs de la pression artérielle systolique ($rg = 0,43$; $p = 2 \times 10^{-9}$) et diastolique ($rg = 0,37$; $p = 1 \times 10^{-8}$). Ce résultat, compatible avec le Tableau clinique, indique qu'une part importante de la base génétique de la DFM serait commune avec celle de la pression artérielle. D'autre part, nous avons identifié des corrélations génétiques positives avec la migraine, décrite chez 25 à 69 % des individus atteints de DFM, avec une forme rare d'accident vasculaire cérébral lié à la dissection d'une artère cervicale, et avec l'anévrisme intracrânien, également plus fréquent chez les femmes. Enfin, étonnamment, nous avons trouvé une corrélation génétique négative entre la DFM et les coronaropathies ($rg = -0,31$; $p = 5 \times 10^{-5}$), dont les mécanismes génétiques et biologiques restent difficiles à cerner.

Nous nous sommes ensuite intéressés à l'implication fonctionnelle des quatre locus validés par l'association statistique dans l'étude GWAS et à celle d'un gène identifié grâce à l'approche TWAS⁴ à partir de données du projet GTEx (*genotype-tissue expression*, <https://gtexportal.org/home/>) (Tableau 1). La totalité des SNP associés à la maladie étant situés dans des séquences

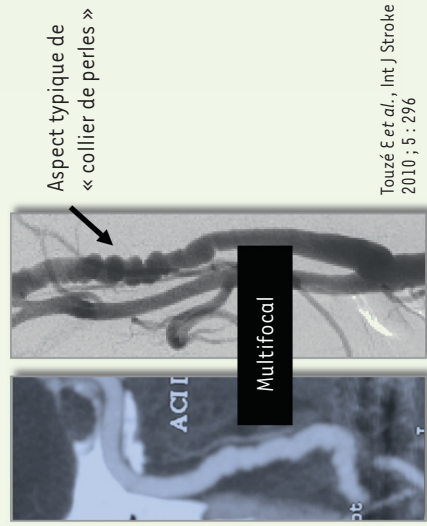
¹ Les artères « musculaires » regroupent les artères de moyen calibre (diamètre < 5 mm) et de petit calibre (diamètre < 2 mm). Leur paroi est constituée de trois tuniques : l'intima, constituée de l'endothélium soutenu par une lame basale et une limitante élastique interne, la média, un manchon compact de cellules musculaires lisses de disposition concentrique, et l'adventice, plus mince, contenant des fibres collagènes et élastiques orientées dans l'axe du vaisseau.

² Ce terme désigne les trois artères issues directement de la crosse aortique, c'est-à-dire le tronc artériel brachio-céphalique, l'artère carotide primitive gauche et l'artère sous-clavière gauche.

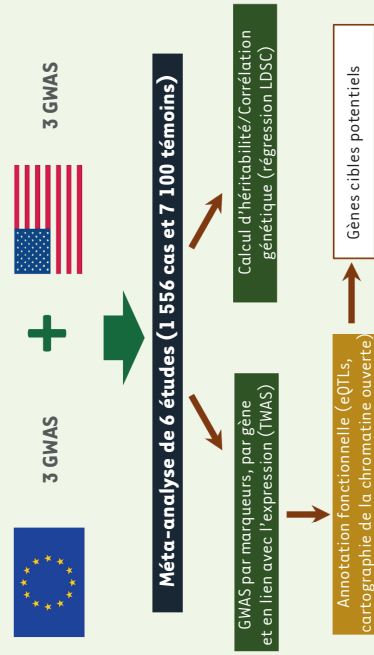
³ Présence de sous-groupes non identifiés dans les populations étudiées.

⁴ *Transcriptome-wide association study* : méthode qui exploite la convergence entre les résultats d'association des SNP avec le risque d'un trait phénotypique ou d'une maladie (dans ce cas, la DFM) et les données de corrélations génétiques entre les SNP et l'expression des gènes dans l'organe ou la structure concernée par la maladie (dans ce cas, les artères) (données accessibles via le projet GTEx).

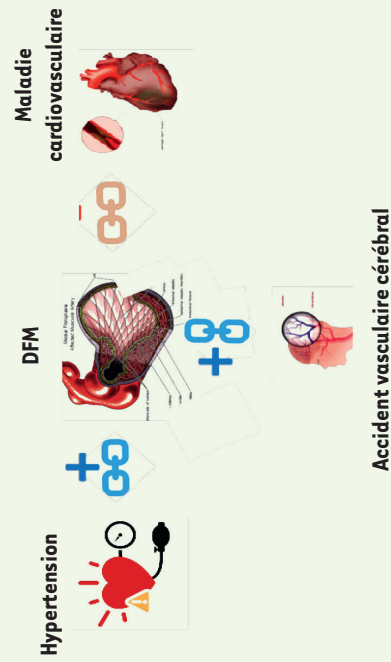
A Imagerie de la DFM



B Schéma des étapes principales de l'étude génétique de la DFM



C Liens génétiques observés avec d'autres maladies cardiovasculaires



D Mécanismes biologiques identifiés

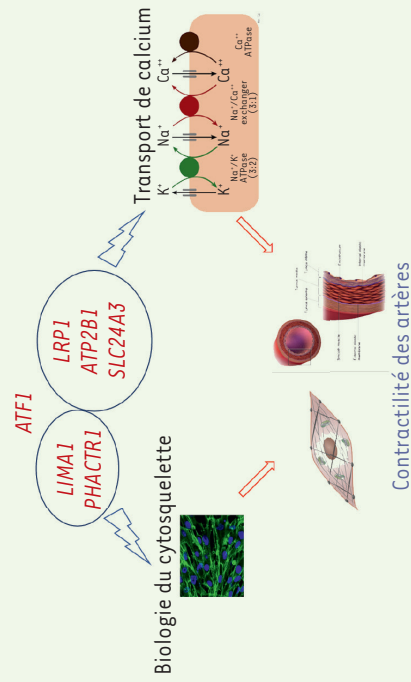


Figure 1. Analyse génétique de la dysplasie fibromusculaire artérielle. A. Imagerie par tomodesitométrie (à gauche) ou angiographie par produit de contraste (à droite), montrant l'aspect typique en « collier de perles » d'une artère atteinte par la maladie. B. Schéma des étapes principales de l'étude génétique et méthodes analytiques appliquées. C. Illustrations des liens génétiques obtenus par la méthode LDSR (*linkage disequilibrium score regression*), notamment le lien positif avec l'hypertension artérielle, avec la dissection aortique et avec l'anévrisme intracranien, et le lien négatif avec la coronaropathie. D. Liste des gènes et illustration des mécanismes biologiques liés à la contractilité des artères, dans lesquels les gènes identifiés sont impliqués comme cibles potentielles de régulation par les locus de prédisposition à la DFM.

Chromosome	Locus (SNP)	Gène candidat	Région	Odds ratio	p	Méthode
6	rs9349379	PHACTR1	3'-UTR, intron	1,44	5×10^{-15}	GWAS
12	rs11172113	LRP1	Intron	1,34	2×10^{-10}	GWAS
12	rs7301566	LIMA1 et ATF1	Intergénique	1,29	4×10^{-9}	GWAS
12	rs2681492	ATP2B1	Intron	1,43	2×10^{-8}	GWAS
20	-	SLC24A3	-	-	6×10^{-7}	TWAS

Tableau 1. Liste des locus de prédisposition à la DFM identifiés et gènes candidats correspondants. p quantifie la significativité statistique de l'association des SNP ou du gène *SLC24A3* à la maladie, mise en évidence par la méthode GWAS ou TWAS.

non codantes du génome, nous avons émis l'hypothèse qu'ils avaient un effet sur la régulation de gènes voisins. Les données disponibles du projet GTEx indiquaient par exemple que le variant rs9349379 identifié est corrélé avec l'expression de *PHACTR1* dans les artères. Grâce à la colocalisation Bayésienne⁵ [6], nous avons trouvé une très forte probabilité (p proche de 1) que l'allèle à risque associé à la DFM soit le déterminant majeur de l'expression de ce gène dans les artères, ce qui serait la cause de l'augmentation du risque pour la DFM. Ce fut le cas également pour le SNP rs11172113 dans *LRP1* (*low-density lipoprotein receptor-related protein-1*; p proche de 1), et pour le SNP rs2681492 dans *ATP2B1* (*ATPase plasma membrane Ca²⁺ transporting 1*, $p = 0,98$). Pour le locus correspondant au SNP rs7301566, qui contient notamment les gènes *LIMA1* (*LIM domain and actin-binding protein 1*) et *ATF1* (*activating-transcription factor 1*), nous n'avons pas réussi à identifier le gène cible impliqué dans la maladie, la corrélation avec l'expression de ces gènes dans les artères n'ayant pas impliqué un SNP unique et commun avec l'association à la DFM. À l'aide de cartes génomiques de chromatine ouverte⁶, nous avons

confirmé que plusieurs SNP associés à la DFM sont situés dans des éléments régulateurs spécifiques des cellules musculaires lisses, qui sont fonctionnels dans celles des artères, mais pas dans les cellules endothéliales. La confirmation expérimentale, dans des modèles cellulaires dérivés de cellules pluripotentes, de l'hypothèse d'effets régulateurs, sur les gènes voisins, des SNP identifiés est en cours.

Il convient de noter que les gènes que nous avons identifiés comme des cibles probables des SNP associés à la DFM sont tous impliqués dans des mécanismes biologiques pertinents d'un point de vue physiopathologique (Figure 1D). *PHACTR1* est impliqué dans l'assemblage des fibres de contrainte de l'actine et interviendrait dans la motilité cellulaire nécessaire pour un alignement optimal des cellules musculaires lisses, qui est perturbé dans les artères affectées par la DFM [7]. *LIMA1*, sous réserve de la confirmation de son implication dans la maladie, code également une protéine de liaison à l'actine, et jouerait également un rôle dans le maintien de l'alignement des cellules musculaires lisses dans la paroi des artères. Quant à *LRP1*, il code une protéine dont le rôle a été très étudié dans de multiples processus cellulaires, comme le remodelage de la matrice extracellulaire et la migration des cellules musculaires lisses vasculaires [8]. D'autre part, *ATP2B1* [9] et *SLC24A3* (*solute carrier family 24 member 3*) [10] codent respectivement un

transporteur du calcium impliqué dans l'exportation de cet ion vers l'espace extracellulaire et un échangeur transmembranaire $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$. Il s'agit d'acteurs de l'homéostasie du calcium intracellulaire, un élément régulateur majeur de la fonction de vasoconstriction et vasodilatation, ce qui souligne l'importance de ce mécanisme vasculaire du maintien de l'intégrité artérielle dans la survenue des lésions dysplasiques.

En résumé, cette première étude GWAS portant sur la DFM a permis d'établir la carte génétique la plus complète jusqu'à présent pour cette maladie, et d'identifier des locus de prédisposition et des gènes cibles potentiels. Ces découvertes fournissent de nouvelles pistes pour comprendre les mécanismes biologiques de la sténose artérielle en l'absence d'athérosclérose. Des études moléculaires approfondies sont en cours, qui portent sur la régulation des gènes candidats et tentent d'évaluer leur potentiel thérapeutique. ♦

Fibromuscular dysplasia as a polygenic disease

REMERCIEMENTS

Cette étude a été financée par le programme ERC de la commission européenne (ERC-StgROSALIND-716628), la Fédération française de cardiologie (FFC-Dotation-BOUATIANAJI-2019), la Fondation cœur & recherche (GENET-IP-SCAD) et la Société française de cardiologie.

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

⁵ Méthode statistique permettant d'évaluer si deux signaux d'association sont compatibles avec un SNP causal commun.

⁶ Il s'agit de sites du génome identifiés par la méthode ATAC-Seq (*assay for transposase-accessible chromatin with high throughput sequencing*), qui permet de caractériser les régions de la chromatine accessibles aux facteurs de régulation de l'expression génique.

RÉFÉRENCES

1. Pappaccogli M, Di Monaco S, Warchol-Celinska E, et al. The European/international fibromuscular dysplasia registry and initiative (FEIRI)-clinical phenotypes and their predictors based on a cohort of 1 000 patients. *Cardiovasc Res* 2021 ; 117 : 950-9.
2. Kiando SR, Tucker NR, Castro-Vega LJ, et al. *PHACTR1* is a genetic susceptibility locus for fibromuscular dysplasia supporting its complex genetic pattern of inheritance. *PLoS Genet* 2016 ; 12 : e1006367.
3. Gupta RM, Hadaya J, Trehan A, et al. A genetic variant associated with five vascular diseases is a distal regulator of endothelin-1 gene expression. *Cell* 2017 ; 170 : 522-33 e15.
4. Georges A, Yang ML, Berrandou TE, et al. Genetic investigation of fibromuscular dysplasia identifies risk loci and shared genetics with common cardiovascular diseases. *Nat Commun* 2021 ; 12 : 6031.
5. Bulik-Sullivan BK, Loh PR, Finucane HK, et al. LD Score regression distinguishes confounding from polygenicity in genome-wide association studies. *Nat Genet* 2015 ; 47 : 291-5.
6. Giambartolomei C, Vukcevic D, Schadt EE, et al. Bayesian test for colocalisation between pairs of genetic association studies using summary statistics. *PLoS Genet* 2014 ; 10 : e1004383.
7. Wiezlak M, Diring J, Abella J, et al. G-actin regulates the shuttling and PP1 binding of the RPEL protein Phactr1 to control actomyosin assembly. *J Cell Sci* 2012 ; 125 : 5860-72.
8. Au DT, Ying Z, Hernandez-Ochoa EO, et al. LRP1 (low-density lipoprotein receptor-related protein 1) regulates smooth muscle contractility by modulating Ca²⁺ signaling and expression of cytoskeleton-related proteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2018 ; 38 : 2651-64.
9. Kobayashi Y, Hirawa N, Tabara Y, et al. Mice lacking hypertension candidate gene ATP2B1 in vascular smooth muscle cells show significant blood pressure elevation. *Hypertension* 2012 ; 59 : 854-60.
10. Yang H, Ahn C, Shin EK, et al. NCKX3 was compensated by calcium transporting genes and bone resorption in a NCKX3 KO mouse model. *Mol Cell Endocrinol* 2017 ; 454 : 93-102.

