

Mutations de gènes codant pour des récepteurs du TGF- β (BMPR-2 et ALK-1) dans les hypertensions artérielles pulmonaires primitives

par Marc Humbert

UPRES EA 2705, Service de Pneumologie et Réanimation Respiratoire, Centre des Maladies Vasculaires Pulmonaires, Hôpital Antoine Bécclère, Assistance-Publique-Hôpitaux de Paris, 157, rue de la Porte de Trivaux, 92140 Clamart

Correspondance : Marc Humbert, UPRES EA 2705, Service de Pneumologie et Réanimation Respiratoire, Centre des Maladies Vasculaires Pulmonaires, Hôpital Antoine Bécclère, 157, rue de la Porte de Trivaux, 92140 Clamart. Tél. : 01 45 37 47 79. Fax: 01 46 30 38 24. e-mail: humbert@ipsc.u-psud.fr

Reçu le 28 novembre 2001

RÉSUMÉ

Les hypertensions artérielles pulmonaires (HTAP) sont définies par l'élévation des pressions au niveau des artères pulmonaires dans lesquelles les résistances à l'écoulement sanguin sont augmentées. En l'absence de traitement adapté, cette maladie évolue inéluctablement vers l'insuffisance cardiaque droite et le décès. L'incidence de l'HTAP primitive ou idiopathique est difficile à établir du fait de l'absence de spécificité des symptômes et parce qu'il n'existe pas d'examen simple pour l'affirmer. Cependant sa rareté est une certitude : on estime le nombre de nouveaux cas annuels en France à environ 2 par million

d'habitants. Des anomalies de l'angiogenèse pulmonaire semblent essentielles au développement de cette maladie caractérisée par une prolifération cellulaire endothéliale et musculaire lisse au niveau des petites artères pulmonaires. La récente découverte de mutations germinales de gènes codant pour des récepteurs du TGF- β (BMPR-2 et ALK-1) dans les HTAP primitives constitue une avancée décisive pour la compréhension de cette maladie orpheline pulmonaire. Cette revue générale fait le point des données génétiques actuelles obtenues dans le cadre de cette maladie.

SUMMARY Germline mutations in TGF beta receptors (BMPR2 and ALK-1) in primary pulmonary hypertension

Pulmonary hypertension is defined by an elevation in pulmonary artery pressure leading to progressive right heart failure and death. Primary (idiopathic) pulmonary hypertension (PPH) is a rare disease with an estimated incidence of 2 per million inhabitants per year in France. Abnormal pulmonary artery angiogenesis is a characteristic feature of this condition including endothelial and smooth muscle cell

proliferation in small to medium-sized pulmonary arteries. The recent discovery of germline mutations of genes coding for receptor members of TGF-beta (BMPR-2 et ALK-1) in PPH represents a considerable progress in the understanding of this pulmonary orphan disease. This review summarizes the current genetic data obtained in this condition.

HYPERTENSION ARTÉRIELLE PULMONAIRE PRIMITIVE : ASPECTS GÉNÉTIQUES

Les hypertensions pulmonaires sont définies par l'élévation des pressions au niveau des artères pulmonaires dans lesquelles les résistances à l'écoulement sanguin sont augmentées (Humbert *et al.*, 2001a). Les techniques d'échographie cardiaque avec Doppler pulsé ont beaucoup facilité leur dépistage. Néanmoins, leur diagnostic

formel repose sur le cathétérisme cardiaque droit qui permet de mesurer une pression artérielle pulmonaire moyenne supérieure à 25 mmHg au repos (ou 30 mmHg à l'exercice). Les hypertensions artérielles pulmonaires (HTAP) proprement dites sont pré-capillaires : elles sont caractérisées par une pression artérielle pulmonaire occluse normale, inférieure ou égale à 12 mmHg, le gradient entre la pression artérielle pulmonaire occluse et la pression artérielle pulmonaire diastolique étant supérieur

à 10 mmHg. En l'absence de thérapeutique efficace, l'évolution de l'HTAP se fait inéluctablement vers la défaillance cardiaque droite, et, à terme, le décès (Rubin 1993). Avant l'avènement de l'époprosténol (prostacycline, Flolan[®]), la médiane de survie de l'HTAP primitive était de 28 mois à partir du diagnostic selon le Registre National Américain et de l'ordre de 2 à 3 ans dans la plupart des séries publiées (Rich *et al.*, 1987).

L'incidence de l'HTAP primitive ou idiopathique est difficile à établir du fait de l'absence de spécificité des symptômes et parce qu'il n'existe pas d'examen simple pour l'affirmer. Cependant sa rareté est une certitude : on estime le nombre de nouveaux cas annuels en France à environ 2 par million d'habitants (Humbert *et al.*, 2001a). La prédominance féminine est une donnée habituelle (1,7 femme pour 1 homme) (Rich *et al.*, 1987). Le pic de fréquence se situe entre 20 et 40 ans, mais cette maladie peut se rencontrer à tous les âges. Il est notable que la prévalence de l'HTAP primitive est plus importante chez les femmes de race noire. Par opposition aux formes primitives, les HTAP secondaires sont plus fréquentes, reflétant le nombre de patients souffrant d'affections prédisposantes (broncho-pneumopathies chroniques obstructives, cardiopathies gauches, maladies thrombo-emboliques...) (Humbert *et al.*, 2001a & 2001b).

Les données des registres disponibles soulignent qu'au moins une HTAP primitive sur 20 est familiale (Rich *et al.*, 1987). De ce fait, il est recommandé de proposer une enquête familiale rigoureuse chez tous les patients souffrant d'HTAP primitive afin d'évaluer la possibilité d'une forme familiale méconnue (Loyd *et al.*, 1995). L'analyse des arbres généalogiques de ces familles suggère l'existence d'un seul gène dominant autosomique. Ce gène induit une faible probabilité (estimée à 10-20 %) de développer la maladie (on parle de faible pénétrance). Un gène de l'HTAP familiale a été identifié sur le bras long du chromosome 2, en position 2q31-32 (Nichols *et al.*, 1997). Les analyses de liaison dans les formes familiales ont mis en évidence la responsabilité du gène codant pour un récepteur de type II de la voie de transduction du TGF- β , le récepteur pour le facteur morphogénique de l'os de type II (BMPR-II) (Lane *et al.*, 2000, Deng *et al.*, 2000, Thomson *et al.*, 2000, Machado *et al.*, 2001). Cette donnée souligne l'importance des voies de transduction du TGF- β dans la constitution d'une angiogénèse pulmonaire harmonieuse. Des mutations germinales de ce gène ont été également identifiées dans plus du quart des formes d'HTAP primitives sporadiques (Thomson *et al.*, 2000). Ce dernier point démontre que la composante potentiellement familiale de l'HTAP primitive apparemment sporadique est probablement sous-estimée en pratique. Par ailleurs, les mutations observées seraient insuffisantes au développement de la maladie, expliquant la pénétrance incomplète de cette mutation. Il est actuellement suggéré qu'un deuxième événement somatique soit nécessaire à l'hyperplasie clonale et focale des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses. La nature de ce deuxième événement hypothétique pourrait correspondre à des mutations de

gènes codant pour d'autres membres de la voie de transduction du TGF- β (TGF- β RII) (Yeager *et al.*, 2001).

Enfin, il est notable qu'une HTAP significative ne se développera que chez 1/10 000 exposés aux dérivés de la fenfluramine, 1/1 000 séropositifs pour le VIH ou 2/100 hypertensions portales sévères (Humbert *et al.*, 2001b). Les susceptibilités individuelles responsables des proportions variables d'HTAP dans les principaux groupes à risque d'HTAP pourraient être d'origine génétique. Néanmoins, les résultats les plus récents concernant les principales conditions associées à l'HTAP (prise de réducteurs de l'appétit, infection par le VIH, hypertension portale, syndrome d'Eisenmenger, sclérodermies...) ne retrouvent que très rarement des mutations BMPR-II (Morse, 2002, Machado & Trembath, communication personnelle, novembre 2001). Ces résultats justifient la poursuite des efforts de recherche dans le but d'identifier d'autres facteurs prédisposants génétiques et/ou environnementaux à cette maladie. L'HTAP primitive est à ce titre une des 32 maladies rares retenues dans le cadre du premier appel d'offres de constitution de réseaux nationaux soutenus par l'INSERM et l'AFM. Ces réseaux permettront la mise en route de programmes multicentriques organisés avec constitution de banques de cellules, tissus et plasmas dans le cadre de centres de ressources biologiques.

HYPERTENSION ARTÉRIELLE PULMONAIRE ET MALADIE DE RENDU-OSLER

La maladie de Rendu-Osler ou télangiectasie hémorragique héréditaire (HHT) est une maladie génétique de transmission dominante autosomique, à pénétrance quasi-complète à l'âge de 40 ans, et dont les signes sont essentiellement d'ordre vasculaire (Guttmacher *et al.*, 1995, Shovlin & Letarte, 1999). Il s'agit d'épistaxis, de télangiectasies de la peau et des muqueuses, de manifestations viscérales sous forme d'angiodyplasie, réalisant des fistules artério-veineuses pulmonaires, des shunts porto-caves, des télangiectasies vésicales, des malformations vasculaires cérébrales. La prévalence de cette pathologie est estimée à 1 sur 40 000 (Shovlin & Letarte, 1999). Le diagnostic clinique est retenu devant le caractère héréditaire des troubles et l'existence de plusieurs critères cliniques. L'hétérogénéité génétique de la maladie est illustrée par l'existence d'au moins deux gènes responsables de deux formes de la maladie. Le gène de l'endogline est responsable de la forme HHT1, et le gène ALK1 de la forme dite HHT2 (Shovlin & Letarte, 1999). Même si les tableaux cliniques sont très proches, les deux formes diffèrent par la fréquence des malformations artério-veineuses pulmonaires, plus fréquentes pour HHT1. Ces deux gènes partagent de nombreuses similitudes avec BMPR-II du fait de leur appartenance commune à la voie de transduction du TGF- β (Massagué & Chen, 2000). L'endogline est une glycoprotéine qui se lie au complexe du ligand TGF- β et ses récepteurs TGF- β RII et I, qui sont des récepteurs sérine-thréonine kinase qui agissent sur la transcription de gènes

cibles dans la cellule par l'intermédiaire de protéines appelées Smad, elles-mêmes phosphorylées par le récepteur de type I.

L'existence de fistules artério-veineuses multiples dans la maladie de Rendu-Osler aboutit en général à une augmentation significative de l'index cardiaque et à un syndrome hyperkinétique pouvant aboutir à des défaillances cardiaques gauches. Les données hémodynamiques classiquement recueillies en cas de fistules artério-veineuses significatives montrent l'absence d'HTAP et l'augmentation du débit cardiaque, et donc des résistances artérielles pulmonaires normales ou basses (Hughes *et al.*, 1996). Néanmoins, dans un minorité de cas, une HTAP précapillaire sévère peut s'observer (Sapru *et al.*, 1969; Trell *et al.*, 1972, Trembath *et al.*, 2001). Les raisons de cette particularité sont inconnues. Dans le cadre du consortium international sur l'HTAP, nous avons récemment identifié six familles comportant des cas avérés d'HTAP et de maladie de Rendu-Osler (Trembath *et al.*, 2001). Cinq de ces familles étaient caractérisées par des mutations du gène ALK1. Deux s'observaient chez des patients porteurs d'HTAP associées à des malformations artérioveineuses pulmonaires. Trois ont développé une HTAP d'apparence primitive sans anomalies évocatrices de malformations artérioveineuses. Des analyses immunohistochimiques ont révélé une expression vasculaire pulmonaire endothéliale d'ALK1. Ces données permettent de porter ALK1 au nombre des gènes pouvant causer une HTAP et soulignent le rôle critique de la voie de transduction du TGF- β au cours de l'HTAP primitive (Trembath *et al.*, 2001).

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE DE LA MALADIE DE RENDU-OSLER ET DE L'HTAP PRIMITIVE

L'identification de deux gènes responsables de la maladie de Rendu-Osler, l'endogline sur le chromosome 9q et le gène ALK1 sur le chromosome 12q, a permis de faire progresser la compréhension physiopathologique de cette affection, d'autant que des modèles animaux proches de la maladie humaine ont permis une approche expérimentale impossible chez l'Homme (Massagué & Chen, 2000). Ces deux gènes codent pour des protéines majeures de la voie de transduction du TGF- β dans la cellule. Cette famille de facteurs de croissance contrôle de nombreux processus biologiques comme l'embryogenèse, l'organogenèse, la vasculogenèse, l'angiogenèse, l'hématopoïèse et la régulation de l'immunité. Le TGF- β 1 joue un rôle important sur le remodelage vasculaire. Il peut inhiber l'action de facteurs angiogéniques sur la prolifération et la migration des cellules endothéliales en culture (Pepper *et al.*, 1993; Gajdusek *et al.*, 1993). L'effet du TGF- β 1 sur l'angiogenèse est biphasique. A faible concentration, il inhibe alors qu'à plus fortes concentrations, il augmente l'invasion vasculaire de cellules endothéliales en culture, sous l'effet d'autres facteurs angiogéniques comme le VEGF ou le b-FGF. La superfamille du TGF- β comprend de nombreux ligands et récepteurs (Massagué & Chen, 2000).

La voie de transduction apparaît, de prime abord, d'une grande simplicité dans ses étapes intracellulaires, puisque la liaison des ligands à leurs récepteurs de type sérine/thréonine kinase, induit une cascade de phosphorylation sur les récepteurs de type I puis sur les protéines Smad, de type récepteur (R-Smad). Ces Smads activées par phosphorylation, associées à des co-smads, vont pénétrer dans le noyau où elles vont déclencher la transcription de gènes cibles. En fait, cette voie est rendue très complexe par le nombre de co-facteurs, de protéines de liaison, par la multiplicité des ligands et des récepteurs et des interactions entre eux. L'ensemble de ces phénomènes permet une modulation du signal et surtout d'accroître la spécificité du signal en fonction des partenaires présents dans la cellule (Barbara *et al.*, 1999).

Le gène de l'endogline est un gène de 14 exons situé sur le chromosome 9. Sa séquence codante est de 1878 nucléotides et son ARN messager a une taille de 3 kb. Il code pour une glycoprotéine membranaire de 90 Kd, l'endogline (CD105), présente sous forme d'un homodimère avec des ponts disulfures intra et intermoléculaires. L'endogline est un co-récepteur des isoformes I et III du TGF- β , en s'associant avec le récepteur de type II. L'endogline s'associe également à l'activine A, ainsi qu'à BMP7 et BMP-2. L'expression de l'endogline est préférentiellement endothéliale, ainsi que dans les syncytiotrophoblastes du placenta à terme. L'expression transitoire de l'endogline est aussi importante pendant le développement cardiaque au niveau de l'endocarde mésenchymateux, et diminue lors de la maturation des valves (Qu *et al.*, 1999). Cependant le rôle exact de l'endogline sur l'activation de la voie du TGF- β reste encore à explorer. En effet, la surexpression de l'endogline inhibe la réponse au TGF- β dans des cellules en culture (Letamendia *et al.* 1998)). De plus, l'injection d'antisens anti-endogline dans des cellules endothéliales humaines en culture augmente la capacité du TGF- β à inhiber la croissance et la migration de ces cellules en culture (Li *et al.*, 2000). Selon ces résultats, il semblerait que l'endogline inhiberait les effets du TGF- β sur les cellules endothéliales. Cependant, comme on le verra, les effets de l'inactivation de l'endogline sont comparables, sur le plan vasculaire, à ceux des souris invalidées pour TGF- β 1. Les mutations du gène de l'endogline identifiées chez des patients atteints d'HHT1 ont été étudiées *in vitro* dans des monocytes activés de ces patients ou dans des HUVEC des cordons de nouveau-nés atteints (Pece-Barbara *et al.*, 1999). Ces expériences ont montré une diminution de l'expression membranaire de l'endogline normale. Lorsque des mutants de l'endogline, consistant en des mutations faux-sens, sont transfectés dans des cellules COS-1 qui n'expriment pas l'endogline, on n'observe pas d'expression à la membrane des formes mutées. On peut déduire de ces expériences que l'haplo-insuffisance est probablement le mécanisme en cause dans HHT1. Les expériences de "knock-out", qui montrent un phénotype chez les souris n'ayant qu'une copie fonctionnelle du gène, confirme le mécanisme d'haplo-insuffisance.

Le gène impliqué dans la forme dite HHT2 est le gène codant pour le récepteur ALK1. Le gène ALK1, situé sur le chromosome 12, est composé de 10 exons, possède une séquence codante de 1512 pb, et est exprimé sous la forme d'un ARN messager de 2 kb. Il est exprimé, chez l'embryon et chez l'adulte, dans les vaisseaux artériels pulmonaires de toute taille et dans les gros et les petits vaisseaux, dans les cellules endothéliales surtout, mais aussi dans les cellules musculaires lisses. Il est aussi exprimé dans les macrophages et la zone marginale du tissu lymphoïde splénique. Il s'agit d'un récepteur de type I, donc phosphorylé sur les sérine et thréonine par un récepteur de type II en présence du ligand. En présence de TGF- β I, ALK1 est phosphorylé par TGF- β RII, alors qu'en présence d'activines, ALK1 est phosphorylé par un récepteur de l'activine de type II. Les mutations identifiées entraînent des troncatures prématurées de la protéine, associées parfois à une non-expression du message porteur du codon stop. Il est donc proposé qu'il s'agisse d'haplo-insuffisance qui soit responsable de la maladie.

Le gène responsable de l'HTAP primitive code pour le récepteur du facteur morphogène de l'os de type II, BMPRII (Lane *et al.*, 2000 ; Deng *et al.*, 2000 ; Thomson *et al.*, 2000 ; Machado *et al.*, 2001). Ce gène comporte 13 exons. Ses ligands sont BMP2, BMP4 et BMP7, et les récepteurs de type I couplés à cette voie de signalisation sont ALK1 et ALK2. Il a été montré, par des expériences de mutagenèse dirigée et d'expression *in vitro*, que l'effet des mutations est celui d'une haplo-insuffisance (Machado *et al.*, 2001). De nombreuses questions restent posées sur la physiopathologie de cette maladie, notamment sa faible pénétrance, l'absence de corrélation entre le type des mutations et la pénétrance de la maladie (Machado *et al.*, 2001).

EFFETS DES INACTIVATIONS GÉNIQUES PORTANT SUR LES GÈNES DE LA VOIE DU TGF- β CHEZ LA SOURIS

L'inactivation homozygote du gène de l'endogline entraîne une mort des embryons au jour 10,5 post-coïtal (Li *et al.*, 1999 ; Bourdeau *et al.*, 1999). A J9,5, on observe une diminution de la formation des cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) sur les gros axes artériels, un déficit de l'organisation vasculaire et des CMLV dans le sac vitellin. Le cœur arrête son développement et il n'y a pas de différenciation mésenchymateuse du canal atrioventriculaire. A J10,5, les embryons meurent : ils sont plus petits avec une diminution du nombre de somites. Il n'y a pas d'organisation vasculaire, et des poches d'hématies sont observables à la surface du sac vitellin. Des cellules avec des marqueurs endothéliaux sont observées. Selon le fond génétique utilisé, les souris hétérozygotes présentent des télangiectasies, des vaisseaux dilatés avec parois fines (faiblesse de l'élastine et des CML), ainsi que des saignements. Il semble que le phénotype des souris hétérozygotes soit plus atténué que

le tableau clinique observé chez l'Homme chez les sujets hétérozygotes.

L'inactivation du gène du TGF- β 1 montre l'importance du gène pour l'hématopoïèse du sac vitellin et la différenciation endothéliale (Dickson *et al.*, 1995). La différenciation initiale des cellules endothéliales survient mais l'anomalie de la différenciation ultérieure conduit à des anomalies de la formation des tubes capillaires, et des vaisseaux relâchés avec une diminution de l'adhérence des cellules. Ce résultat ne correspond donc pas à ce qui était attendu du déficit d'un facteur qui inhibe la croissance cellulaire.

L'inactivation homozygote du gène ALK1 entraîne également une mort des embryons à J11,5. A J8,5, les plexus capillaires primaires (vasculogénèse) sont normaux dans l'embryon et le sac vitellin. A partir de J9,5, ces embryons montrent une fusion excessive des plexus capillaires dans des vaisseaux caverneux, et une dilatation des gros vaisseaux. Ces embryons présentent une élévation des facteurs angiogéniques (VEGF, angiopoïétine 2) et des activateurs du plasminogène (tPA, uPA, uPA récepteur, PAI-1). L'aorte dorsale est dépourvue de cellules exprimant des marqueurs des CMLV. Selon les auteurs de cette expérience, ALK1 pourrait s'opposer à la voie de transduction passant par ALK5, et donc favoriser la phase de résolution de l'angiogénèse plutôt que celle de l'activation de l'angiogénèse. Ils avancent aussi l'hypothèse que l'absence d'endogline pourrait faire pencher l'équilibre de la signalisation du TGF- β vers ALK5 qui est plus sensible au ligand que la voie ALK1. Ceci expliquerait pourquoi les mutations hétérozygotes donnent le même tableau clinique alors que les inactivations ont des conséquences différentes sur l'embryogénèse. En effet, à J9,5 les souris invalidées pour l'endogline ont des capillaires ayant des ramifications et une lumière normales, alors que les souris invalidées pour ALK1 ne forment pas ces ramifications, et les vaisseaux sont dilatés.

L'inactivation du gène BMPR2 a montré une létalité des embryons homozygotes à J9,5 (Beppu *et al.*, 2000). Les embryons n'ont pas de structure organisée et n'ont pas de mésoderme, ce qui montre l'importance pour la transduction du signal du BMP pendant le développement de la Souris. L'épiblaste n'est également pas développé chez les embryons. Le phénotype des embryons hétérozygotes n'est pas connu.

PERSPECTIVES

Les modifications transcriptionnelles dues à l'existence d'une mutation hétérozygote des gènes clefs de la voie de transduction du TGF- β dans la cellule endothéliale semblent entraîner des pathologies différentes, bien que certaines formes frontières existent entre ces maladies (HTAP et /ou maladie de Rendu-Osler) (20). L'étude du transcriptome de cellules endothéliales (chez des sujets témoins et des sujets porteurs d'une maladie de Rendu-Osler ou d'une HTAP primitive) permettra de

définir les modifications transcriptionnelles, observées à l'état basal et induites par les différentes isoformes du TGF- β et autres facteurs de croissance de la superfamille. L'analyse directe des anomalies de transcription dans les cellules de sujets atteints sera fondamentale et pourra aboutir à terme à la possibilité de thérapeutiques correctives par différents types d'approche (médicamenteuses ou par transfert de gènes). Même s'il paraît trop tôt pour envisager la correction du déficit génique par transfert de gènes, l'analyse du transcriptome des cellules endothéliales chez ces malades ouvre une voie dans cette direction.

La récente découverte de mutations du gène BMPRII dans l'HTAP primitive a totalement relancé la recherche de gènes candidats dans le domaine de la génétique de l'HTAP primitive. D'autres éléments de la voie de signalisation du TGF- β sont étudiées par de nombreuses équipes. De plus, des gènes contrôlant des substances vaso-actives telles que la sérotonine, l'endothéline, la prostacycline et le monoxyde d'azote sont potentiellement impliqués dans l'HTAP et justifie une approche systématique à partir de banques de tissus (Archer & Rich, 2000). Enfin la distinction moléculaire de certains phénotypes d'HTAP, en particulier les répondeurs ou non répondeurs à des agents vasodilatateurs tels que les inhibiteurs calciques, l'époprosténol ou les antagonistes des récepteurs de l'endothéline ouvre la porte à de nouvelles études de pharmacogénétique.

BIBLIOGRAPHIE

- Archer S. & Rich S., Primary pulmonary hypertension: a vascular biology and translational research "Work in progress". *Circulation*, 2000, 102, 2781-2791.
- Barbara N. P., Wrana J. L. & Letarte M., Endoglin is an accessory protein that interacts with the signaling receptor complex of multiple members of the transforming growth factor-beta superfamily. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274, 584-594.
- Beppu H., Kawabata M., Hamamoto T., Chytil A., Minowa O., Noda T. & Miyazono K., BMP type II receptor is required for gastrulation and early development of mouse embryos. *Dev. Biol.*, 2000, 221, 249-258.
- Bourdeau A., Dumont D. J. & Letarte M., A murine model of hereditary hemorrhagic telangiectasia. *J. Clin. Invest.*, 1999, 104, 1343-1351.
- Deng Z., Morse J. H., Slager S. L., Cuervo N., Moore K. J., Venetos G., Kalachikov S., Cayanis E., Fischer S. G., Barst R. J., Hodge S. E. & Knowles J. A., Familial primary pulmonary hypertension (gene PPH1) is caused by mutations in the bone morphogenetic protein receptor-II gene. *Am. J. Hum. Genet.*, 2000, 67, 737-744.
- Dickson M. C., Martin J. S., Cousins F. M., Kulkarni A. B., Karlsson S. & Akhurst R. J., Defective haematopoiesis and vasculogenesis in transforming growth factor-beta 1 knock out mice. *Development*, 1995, 121, 1845-1854.
- Gajdusek C. M., Luo Z. & Mayberg M. R., Basic fibroblast growth factor and transforming growth factor beta-1: synergistic mediators of angiogenesis *in vitro*. *J. Cell. Physiol.*, 1993, 157, 133-144.
- Gutmacher A. E. & Marchuk D. A. & White R. I. Jr, Hereditary hemorrhagic telangiectasia. *N. Engl. J. Med.*, 1995, 333, 918-924.
- Hughes J. M. B., Jackson J. E. & Allison D. J., Pulmonary arteriovenous malformations. *In: Pulmonary circulation*. Peacock AJ, ed. Chapman & Hall Medical, London 1996, 359-376.
- Humbert M., Sitbon O. & Simonneau G., Les hypertension pulmonaires. *In: Cœur et médecine interne*. Cohen A, Belmatoug N, eds. *ESTEM*, Paris 2001a (sous presse).
- Humbert M., Nunes H., Sitbon O., Parent F., Hervé P. & Simonneau G., Risk factors for pulmonary arterial hypertension. *Clin. Chest Med.*, 2001, 22, 459-475.
- Lane K. B., Machado R. D., Pauciulo M. W., Thomson J. R., Phillips J. A. 3rd, Loyd J. E., Nichols W. C. & Trembath R. C., Heterozygous germline mutations in a TGF- β receptor, *BMPR2*, are the cause of familial primary pulmonary hypertension. *Nat. Genet.*, 2000, 26, 81-84.
- Letamendia A., Lastres P., Botella L. M., Raab U., Langa C., Velasco B., Attisano L. & Bernabeu C., Role of endoglin in cellular responses to transforming growth factor-beta. A comparative study with betaglycan. *J. Biol. Chem.*, 1998, 273, 33011-33019.
- Li D. Y., Sorensen L. K., Brooke B. S., Urness L. D., Davis E. C., Taylor D. G., Boak B. B. & Wendel D. P., Defective angiogenesis in mice lacking endoglin. *Science*, 1999, 284, 1534-1537.
- Li C., Hampson I. N., Hampson L., Kumar P., Bernabeu C. & Kumar S., CD105 antagonizes the inhibitory signaling of transforming growth factor beta 1 on human vascular endothelial cells. *FASEB J.*, 2000, 14, 55-64.
- Loyd J. E., Butler M. G., Foround T. M., Conneally P. M., Phillips J. A. & Newman J. H., Genetic anticipation and abnormal gender ratio at birth in familial primary pulmonary hypertension. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1995, 152, 93-97.
- Machado R. D., Pauciulo M. W., Thomson J. R., Lane K. B., Morgan N. V., Wheeler L., Phillips J. A. 3rd, Newman J., Williams D., Galic N., Manes A., McNeil K., Yacoub M., Mikhail G., Rogers P., Corris P., Humbert M., Donnai D., Martensson G., Tranebjaerg L., Loyd J. E., Trembath R. C. & Nichols W. C., *BMPR2* haploinsufficiency as the inherited molecular mechanism for primary pulmonary hypertension. *Am. J. Hum. Genet.*, 2001, 68, 92-102.
- Massagué J. & Chen Y. G., Controlling TGF- β signaling. *Genes Dev.*, 2000, 14, 627-644.
- Morse J., Bone morphogenetic protein receptor 2 mutations in pulmonary hypertension. *Chest*, 2002, 121, 505-535.
- Nichols W. C., Koller D. L., Slovis B., Foroud T., Terry V. H., Arnold N. D., Siemieniak D. R., Wheeler L., Phillips J. A. 3rd, Newman J. H., Conneally P. M., Ginsburg D. & Loyd J. E., Localization of the gene for familial primary pulmonary hypertension to chromosome 2q31-32. *Nat. Genet.*, 1997, 15, 277-280.
- Pepper M. S., Vassalli J. D., Orci L. & Montesano R., Biphasic effect of transforming growth factor-beta 1 on *in vitro* angiogenesis. *Exp. Cell. Res.*, 1993, 204, 356-363.
- Sapru R. P., Hutchison D. C. & Hall J. I., Pulmonary hypertension in patients with pulmonary arteriovenous fistulae. *Br. Heart J.*, 1969, 31, 559-569.
- Shovlin C. L. & Letarte M., Hereditary hemorrhagic telangiectasia and pulmonary arteriovenous malformations: issues in clinical management and review of pathogenic mechanisms. *Thorax*, 1999, 54, 714-729.
- Trell E., Johansson B. W., Linell F. & Ripa J., Familial pulmonary hypertension and multiple abnormalities of large systemic arteries in Osler's disease. *Am. J. Med.*, 1972, 53, 50-63.
- Trembath R. C., Thomson J., Machado R. D., Morgan N. V., Atkinson C., Winship I., Simonneau G., Galic N., Loyd J. E., Humbert M., Nichols W. C. & Morrell N. W., Clinical and molecular genetic features of pulmonary hypertension in hereditary hemorrhagic telangiectasia. *N. Engl. J. Med.*, 2001, 345, 325-334.
- Qu R., Silver M. M. & Letarte M., Distribution of endoglin in early human development reveals high levels on endocardial

- cushion tissue mesenchyme during valve formation. *Cell. Tissue Res.*, 1998, 292, 333-343.
- Pece-Barbara N., Cymerman U., Vera S., Marchuk D. A. & Letarte M., Expression analysis of four endoglin missense mutations suggests that haploinsufficiency is the predominant mechanism for hereditary hemorrhagic telangiectasia type I. *Hum. Mol. Genet.*, 1999, 8, 2171-2181.
- Rich S., Dantzker D. R., Ayres S. M., Bergofsky E. H., Brundage B. H., Detre M., Fishman A. P., Goldring R. M., Groves B. M., Koerner S. K *et al.*, Primary pulmonary hypertension: a national prospective study. *Ann. Intern. Med.*, 1987, 107, 216-223.
- Rubin L. J., Primary pulmonary hypertension. *Chest*, 1993, 104, 236-250.
- Thomson J. R., Machado R. D., Pauciulo M. W., Morgan N. V., Humbert M., Elliott G. C., Ward K., Yacoub M., Mikhail G., Rogers P., Newman J., Wheeler L., Higenbottam T., Gibbs J. S., Egan J., Crozier A., Peacock A., Allcock R., Corris P., Loyd J. E., Trembath R. & Nichols W. C., Sporadic primary pulmonary hypertension is associated with germline mutations of the gene encoding BMPR-II, a receptor member of the TGF- β family. *J. Med. Gen.*, 2000, 37, 741-745.
- Yeager M. E., Halley G. R., Golpon H. A., Voelkel N. F. & Tuder R. M., Microsatellite instability of endothelial cell growth and apoptosis genes within plexiform lesions in primary pulmonary hypertension. *Circ. Res.*, 2001, 88, E2-E11.

ANNEXE

Réseau Français sur l'HTAP (appel d'offre INSERM/AFM 2000 sur les maladies rares)

Coordinateur : Dr Marc HUMBERT

Membres du réseau au 1^{er} mai 2001 :

Drs Humbert, Sitbon et Simonneau (*Service de Pneumologie, Hôpital Antoine Bécélère, Clamart*), Drs Adnot et Eddahibi, (*INSERM U492, Créteil*), Drs Boissel et Visèle (*Unité de Pharmacologie Clinique, Faculté Laënnec, Lyon*), Drs Galanaud et Emilie (*INSERM U131, Clamart*), Drs Hervé et Mazmanian (*Laboratoire de Chirurgie Expérimentale, Centre Chirurgical Marie-Lannelongue, Le Plessis-Robinson*), Dr Meyer (*INSERM U143, Le Kremlin-Bicêtre*), Dr Trembath, (*Department of Medical Genetics, University of Leicester, Royaume Uni*), Dr Capron (*Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Antoine Bécélère, Clamart*), Drs Chabot et Polu, (*Service de Pneumologie, CHRU Nancy-Brabois*), Drs Chaouat et Weitzenblum, (*Service de Pneumologie, Hôpital Hautepierre, Strasbourg*),

Drs Dromer et Velly (*Service de Chirurgie Thoracique, Hôpital Haut-Leveque, Pessac*), Drs Didier et Leophonte (*Hôpital Rangueil, Service de Pneumologie, Toulouse*), Drs Escamilla et Krempf (*Service de Pneumologie, Hôpital Purpan, Toulouse*), Drs Fadel et Dartevelle (*Service de Chirurgie Thoracique, Centre Chirurgical Marie Lannelongue, Le Plessis-Robinson*), Dr Hachulla, (*Service de Médecine Interne, Hôpital Huriez, Lille*), Dr Haloun (*Service de Pneumologie, Hôpital Laënnec, Nantes*), Drs Mornex, Bertocchi et Cordier (*Service de Pneumologie, Hôpital Louis Pradel, Lyon*), Drs Naeije et Vachiery (*Service de Physiologie, Hôpital Erasme, Bruxelles, Belgique*), Drs Pison et Brambilla (*Service de Pneumologie, CHU Grenoble*), Drs Reynaud et Fuentes (*Service de Chirurgie Thoracique, Hôpital Sainte Marguerite, Marseille*).

Séance du 28 novembre 2001