



HAL
open science

Les prostaglandines comme nouvelle approche thérapeutique pour la Néphronophtise : validation et caractérisation du mode d'action

Alice Serafin

► **To cite this version:**

Alice Serafin. Les prostaglandines comme nouvelle approche thérapeutique pour la Néphronophtise : validation et caractérisation du mode d'action. Biologie moléculaire. Université Paris Cité, 2022. Français. NNT : 2022UNIP5199 . tel-04660235

HAL Id: tel-04660235

<https://theses.hal.science/tel-04660235v1>

Submitted on 23 Jul 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE PARIS CITE

École doctorale Bio Sorbonne Paris Cité (BioSPC)
Département Biologie Cellulaire et Moléculaire, Physiologie et
Physiopathologie (BCMPP)

Laboratoire des Maladies Rénales Héritaires, Institut Imagine, Inserm U1163

Les prostaglandines comme nouvelle approche thérapeutique pour la Néphronophtise : validation et caractérisation du mode d'action

Par Alice SERAFIN

Thèse de doctorat de biologie cellulaire et moléculaire

Dirigée par Alexandre BENMERAH

Thèse soutenue publiquement à Paris le 13 décembre 2022

Composition du jury

Pr. Christelle CAUFFIEZ, Université de Lille, rapportrice
Pr. Bénédicte DURAND, Université de Lyon, rapportrice
Dr. Hervé ENSLEN, Université Paris Cité, examinateur
Dr. Christos CHATZIANTONIOU, Sorbonne Université, examinateur
Dr. Alexandre BENMERAH, Université Paris Cité, directeur de thèse
Dr. Sophie SAUNIER, Université Paris Cité, membre invité

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier chaleureusement les membres de mon jury, **Christelle Cauffiez**, **Bénédicte Durand**, **Hervé Enlsen** et **Christos Chatziantoniou**, d'avoir accepté d'évaluer mes travaux de recherche.

Je sors grandie de ces 3 années de thèse. Mon épanouissement professionnel et personnel n'aurait pas été le même sans de nombreuses personnes. Je vous dédis les prochaines pages.

Mes premiers remerciements vont évidemment à mon directeur de thèse. Merci pour tout **Alex**. Merci de m'avoir accepté en thèse et de m'avoir fait confiance, alors que je débarquais de nul part. Merci d'avoir toujours été très présent et à l'écoute, autant pour la planification des manip que pour discuter bouquins, cro-magnon ou écologie. Merci d'avoir su rassurer la grande stressée que je suis, et d'avoir su me guider et m'écouter dans ce long périple qu'est la thèse. Oui, on peut être heureux et épanoui pendant sa thèse ! Et tu y as grandement participé, alors merci !

Merci aussi à toi **Sophie** de m'avoir accueillie dans ton laboratoire. Je revois encore nos moments de rush pour la publication du papier, entre le stress et l'euphorie. Je suis plus qu'heureuse de rester encore un peu dans ton équipe après la thèse ! En espérant pouvoir un jour tester le clown !

Je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont partagé mon quotidien au labo. Comment ne pas commencer par le bureau 507 ? Ce bureau riche en couleurs, autant sur les murs que dans l'énergie (sans oublier les surligneurs !). Alors merci à vous, **Esther**, **Salomé** et **Lucie**, mes 3 "collègues préférées", pour votre amitié, vos rires et votre présence de tous les instants. Esther, merci pour ton empathie, ta sensibilité et tes beaux dessins, ils continueront de décorer mon chez-moi pendant longtemps ! Salomé, mon acolyte des pots et des buffets, que le bureau (et ma vie évidemment) serait fade sans ta personnalité distinguée et tes montages photos ! Lucie, merci d'avoir enduré mes "musiques du jour", parfois d'un niveau médiocre je veux bien l'avouer, et de m'avoir nourrie avec tes cookies délicieux, tes stocks de chocolats et autres gourmandises. Un très grand merci à toi, **Amandine**. J'admire ta passion de la science, ton envie et ta rigueur. Merci pour tout ce que tu m'as appris sur la souris, pour m'avoir transmis ton amour des tableurs Excel et pour m'avoir fait découvrir le cerfeuil tubéreux. Merci pour ta présence motivante au quotidien et tes encouragements. J'ai hâte de continuer de travailler avec toi et de voir ce que les souris

REMERCIEMENTS

nous réservent ! **Flora**, je suis très heureuse d'avoir commencée ma thèse avant ton départ du labo ! Merci pour tout ce que tu m'as appris, et pour tout ce que tu as fait pour le papier même après ton départ en retraite. **Bruno**, merci de m'avoir aidé pour les CRISPR et la cytométrie, malgré toute la charge de travail que tu avais. Je n'oublie pas que tu as tout donné pour l'Ekiden alors que tu n'avais pas couru depuis longtemps ! **Olivier**, merci d'être là pour résoudre tous les petits soucis du labo et pour toujours prendre le temps de discuter de tout et de rien. **Christelle**, merci d'être à l'écoute et bienveillante, et de toujours répondre à mes questions bêtes qui continuent d'exister même après 3 ans dans le labo. **Marceau**, merci pour le pain aux olives et pour m'avoir permis de participer à ton papier. Je suis sûre que mes boutures vivent leur meilleure vie avec toi ! Une pensée également pour les autres thésards du labo : **Alice, Hassan et Giulia**. Je vous souhaite bon courage pour la fin de votre thèse ! Giulia, je ne peux pas écrire de remerciements sans te remercier d'avoir été mon soutien émotionnel au début des gavages. Au final on aura bien ri ! Un grand merci à toutes les personnes qui ont fait partie du labo pendant ma thèse et qui ont participé au fait que je m'y sente bien : **Géraldine, Corinne, Meriem, Lucie Ma, Damelys, Mariyam, Manon, Alexia, Marijn, Friederike, Daniel** (j'ai toujours le badge king of the Western Blot que tu m'as légué !), **Bastien, Julie Pe, Julie Pa, Marie, Mikaëlle, et tous les autres !**

La thèse ce n'est pas seulement une équipe, c'est aussi un institut. Je tiens à remercier tous ceux que j'ai côtoyés, de près ou de loin. Mention spéciale à **Alice** et **Seb**, mes partenaires de natation malgré le réveil très très matinal, à **Élodie** et ses fréquentes visites dans le bureau, et à l'équipe de **Medetia** !

Un grand merci à mes amis du Magistère, qui ont toujours répondu présent pour passer des bons moments autour d'un verre ou d'un mur d'escalade, et pour partir en expédition le temps d'un week-end ou d'un été : la team des Glorifi4ices aka **Anaïs, Alice** (tu as le droit à 2 places dans mes remerciements, veinarde !) et **Clarisse, Auria, Manon, Hassan, Aurélien et Manu**.

Un immense merci à mon chéri, **Micka**. Notre rencontre remonte au début de ma thèse, et depuis tu as toujours été là. Merci de m'avoir soutenu, et d'avoir compris et accepté l'investissement que demande la thèse. Merci pour ton amour.

Pendant ma thèse, j'ai eu la chance de vivre en colocation avec des personnes incroyables : **Kévin, Iris, Quentin, Corentin, Florian, Noémie, Laura, Laëtitia, Joseph, Dario**

REMERCIEMENTS

et **Irvine**. Vous avez été une source de joie, de motivation et d'amour au quotidien, depuis les répétitions pour le concours de l'école doctorale (cc Kévin) jusqu'aux derniers mois très intenses de la thèse et de l'écriture. Les mots ne suffisent pas pour exprimer toute ma gratitude. Vous m'avez aidé à garder les pieds sur terre et à relativiser par rapport au travail. Vous avez réussi à me faire kiffer la période du covid et des confinements, ce qui, ajouté au stress de la thèse, aurait pu être un désastre. La fin de la thèse se teinte d'une pointe de tristesse car elle sonne aussi la fin d'une ère dans notre colocation. Mais je sais que ça n'est pas la fin de notre amitié et de cette grande famille qu'est la coloc du 28 !

Pour terminer, je tiens à remercier **mes parents**, ma sœur **Marie** et mon frère **Vincent**. Merci à vous de m'avoir toujours soutenue et aimée, dans mes périodes de doutes, mes choix et mes envies. Aujourd'hui je me sens bien, autant dans ma vie pro que perso. Et sans vous je ne serai pas là où j'en suis aujourd'hui !

RESUME

La Néphronophtise (NPH) est une maladie génétique rénale autosomique récessive, caractérisée par une fibrose tubulo-interstitielle chronique, parfois associée à des kystes. Elle est la principale cause d'insuffisance rénale terminale chez l'enfant et le jeune adulte. La grande majorité des vingt-trois gènes *NPHP* identifiés codent pour des protéines du cil primaire, une structure composée de microtubules présente à la surface de la plupart des cellules quiescentes et qui joue un rôle clé dans de nombreuses voies de signalisation. La NPH fait donc partie des ciliopathies, un groupe de maladies génétiques hétérogènes liées à des défauts du cil. La NPH est ainsi fréquemment associée à des phénotypes extra-rénaux (rétine, squelette, système nerveux central, foie). Les seuls traitements disponibles actuellement sont la dialyse et la transplantation rénale, rendant nécessaire la recherche de stratégies thérapeutiques.

Le gène *NPHP1* est le plus fréquemment muté, avec près de 25% des patients présentant une délétion homozygote de la région du gène. Les lignées épithéliales rénales MDCK et mIMCD3 n'exprimant pas *Nphp1* présentent des défauts de migration et de ciliogenèse. Le laboratoire a réalisé un crible pour identifier des molécules approuvées par la FDA capables de restaurer ces phénotypes. Les résultats obtenus ont permis de montrer les effets bénéfiques d'un analogue de la prostaglandine E2 (PGE2), l'Alprostadil ou PGE1. Les résultats ont ensuite été validés sur des cellules rénales épithéliales (URECs) de patients *NPHP1* présentant un défaut de ciliogenèse, restauré par le traitement. **L'objectif du projet de thèse a été de valider les effets et de caractériser le mode d'action de la PGE1, à la fois dans les URECs *NPHP1* et dans un modèle murin invalidé pour le gène *Nphp1*.**

Ainsi, j'ai précisé les phénotypes rénaux des souris *Nphp1*^{-/-} (dilatations des tubules rénaux distaux, augmentation de la longueur des cils dans les tubules dilatés, signature transcriptionnelle pro-fibrotique) et montré l'effet bénéfique de la PGE1 sur ces phénotypes. Des agonistes des récepteurs à la PGE2 ont également montré un effet bénéfique sur les phénotypes rénaux dans un modèle de poisson-zèbre *nphp4*, et améliorent la dégénérescence rétinienne des souris *Nphp1*^{-/-}. En parallèle, j'ai élucidé les mécanismes sous-jacents à la restauration de la ciliogenèse par la PGE1 dans les URECs *NPHP1*. Les résultats que j'ai obtenus indiquent que le traitement à la PGE1 augmente la quantité intracellulaire d'AMPc et l'activité de la PKA, une kinase dépendante de l'AMPc. J'ai également montré que le traitement à la PGE1 augmente la quantité de p27^{Kip1}, une protéine jouant un rôle clé dans la quiescence et la ciliogenèse. De plus, j'ai observé une diminution de l'activité de RhoA suite au traitement, en accord avec les effets connus de

l'AMPC et de p27^{Kip1} sur son inhibition, et l'impact négatif de l'activation de RhoA sur la ciliogenèse. J'ai démontré le défaut de composition ciliaire dans les URECs *NPHP1*, avec une diminution de certaines protéines dans le compartiment ciliaire (adénylate cyclase III, INPP5E). Ce phénotype est également partiellement restauré par le traitement à la PGE1. Pour terminer, j'ai réalisé une analyse transcriptomique dans les URECs *NPHP1* et les souris *Nphp1*^{-/-} en réponse à la PGE1. De manière intéressante, la PGE1 module des voies de signalisation similaires *in vitro* et *in vivo*, et restaure des signalisations dérégulées en l'absence de *NPHP1*, notamment l'interaction avec la matrice extracellulaire, le cytosquelette d'actine et le cycle cellulaire. J'ai confirmé l'effet inhibiteur de la PGE1 sur l'expression de la laminine- γ 2, un constituant des membranes basales exprimé dans le rein en condition pathologique. Ces analyses transcriptomiques ont également pointé le rôle potentiel du métabolisme mitochondrial, et plus précisément l'oxydation des acides gras, dans la pathophysiologie de la NPH. Les études supplémentaires que j'ai menées ne semblent cependant pas indiquer de changement métabolique en l'absence de *NPHP1*, contrairement à ce qui a été démontré dans d'autres modèles de fibrose rénale et de ciliopathies rénales.

Mes travaux de thèse ont démontré que les changements phénotypiques induits par la perte d'expression de *NPHP1*, le gène majeur de la NPH, peuvent être améliorés par un analogue de la PGE2. La PGE1 et les agonistes des récepteurs à la PGE2 pourraient ainsi être la première option thérapeutique dans le traitement de la NPH et des ciliopathies associées.

Mots clés : Néphronophtise, rein, cil primaire, molécules thérapeutiques, prostaglandine E2

ABSTRACT

Nephronophthisis (NPH) is an autosomal recessive genetic kidney disease characterized by progressive tubulointerstitial fibrosis associated with cysts at the cortico-medullary junction. It is the leading genetic cause of end-stage renal disease in children and young adults. The majority of the twenty-three *NPHP* genes encode proteins playing key roles at the primary cilium. NPH thus belongs to ciliopathies, a group of heterogeneous genetic diseases related to cilia defects. The primary cilium is a microtubule-based structure that protrudes at the surface of almost all quiescent cells in vertebrates. It is playing a key role in many signaling pathways controlling the development and homeostasis of many organs. NPH is thus frequently associated with extra-renal phenotypes (retina, cerebellum, skeleton, liver).

To date, the only available treatments are dialysis and renal transplantation. The aim of the laboratory was then to identify new therapeutic options for NPH focusing on *NPHP1* which is the most frequently mutated gene, with nearly 25% of patients harboring a homozygous deletion of this gene. A high-throughput screen was performed to identify FDA-approved molecules able to alleviate the migratory and ciliogenesis defects of *Nphp1* knockdown renal epithelial cell lines (MDCK and mIMCD3). The results showed the beneficial effects of prostaglandin E1 (PGE1), an analogue of the naturally occurring PGE2. These results were validated on urine-derived renal epithelial cells (URECs) from *NPHP1* patients which exhibit a ciliogenesis defect, restored by PGE1. **The aim of the PhD project was to validate the beneficial effect of PGE1 in *NPHP1* conditions and to investigate the underlying mechanisms, using both *NPHP1* URECs and a mouse model invalidated for *Nphp1*.**

I clarified the renal phenotypes of *Nphp1*^{-/-} mice (distal tubule dilatations, increased cilia length in dilatations, pro-fibrotic transcriptional signature) and showed the beneficial effect of PGE1 on these phenotypes. PGE2 receptor agonists showed a beneficial effect on renal phenotypes in a *nphp4* zebrafish model, and improved retinal degeneration in *Nphp1*^{-/-} mice. In parallel, I identified the mechanisms by which PGE1 rescues the ciliogenesis defects in *NPHP1* URECs. My results indicate that PGE1 treatment increases the intracellular amount of cAMP and PKA activity, a cAMP-dependent kinase. This increase in cAMP level is sufficient for ciliogenesis rescue. I also showed that PGE1 increases p27^{Kip1} amount, a protein playing a key role in quiescence and ciliogenesis. Furthermore, I observed a decreased RhoA activity following PGE1 treatment, consistent with the known regulatory effects of cAMP/PKA and p27^{Kip1}, and of the negative impact of RhoA activation on ciliogenesis. I observed a defect in

ciliary composition in *NPHP1* URECs, as shown by the decreased of ciliary adenylate cyclase III and INPP5E, two important ciliary signaling proteins. This phenotype was partially rescued by PGE1. Finally, I performed transcriptomic analyses in *NPHP1* URECs and *Nphp1*^{-/-} mice in response to PGE1 treatment. Interestingly, PGE1 showed similar modulatory effects on shared signaling pathways *in vitro* and *in vivo*. Most interestingly, it rescued pathways deregulated by the absence of NPHP1, including extracellular matrix interactions, actin cytoskeleton, and cell cycle. I confirmed the PGE1-mediated inhibition of laminin- γ 2, a basement membrane protein expressed in the kidney under pathological conditions. These transcriptomic analyses also suggested a role of mitochondrial metabolism and fatty acid oxidation in the pathophysiology of NPH. However, additional results do not show any metabolic changes in the absence of NPHP1, unlike what has been demonstrated in models of renal fibrosis and renal ciliopathies.

In conclusion, my thesis work showed that PGE2 analogs rescued *in vitro* as well as *in vivo* phenotypes caused by the absence of NPHP1, the major causative gene in NPH. PGE1 and more widely specific agonists of PGE2 receptors could be the first therapeutic option for NPH and associated ciliopathies.

Key words: Nephronophthisis, kidney, primary cilia, drug-screen, prostaglandin E2

SOMMAIRE

| | |
|--|-----------|
| TABLE DES ILLUSTRATIONS..... | 16 |
| ABBREVIATIONS | 18 |
| AVANT-PROPOS | 21 |
| REVUE DE LA LITTÉRATURE..... | 23 |
| PARTIE 1 : LE CIL PRIMAIRE | 24 |
| <i>I. Structure du cil primaire</i> | 24 |
| 1) Structure globale | 24 |
| 2) La zone de transition (TZ)..... | 26 |
| <i>II. Mécanismes de la ciliogenèse</i> | 28 |
| 1) Mécanismes généraux | 28 |
| 2) Régulation de la ciliogenèse | 30 |
| a) Le cycle cellulaire | 30 |
| b) Le cytosquelette d'actine | 32 |
| c) L'AMP cyclique (AMPC)..... | 35 |
| d) Autres voies de régulation..... | 36 |
| <i>III. Rôle du cil primaire.....</i> | 37 |
| 1) Mécanosenseur | 37 |
| 2) Chemosenseur..... | 38 |
| a) Récepteurs couplés aux protéines G (GPCRs) | 39 |
| b) Les voies de signalisation ciliaires | 41 |
| <i>IV. Les ciliopathies.....</i> | 42 |
| PARTIE 2 : LA NEPHRONOPHTISE (NPH)..... | 45 |
| <i>I. Le rein</i> | 45 |
| <i>II. Aspects cliniques de la NPH</i> | 46 |
| 1) Généralités..... | 46 |
| 2) Symptômes cliniques et aspect histologique..... | 47 |
| 3) Génétique de la NPH | 48 |
| 4) Atteintes extra-rénales associées à la NPH..... | 51 |
| 5) Corrélation génotype-phénotype..... | 53 |
| <i>III. Les modèles d'étude de la NPH</i> | 55 |
| 1) Les modèles <i>in vitro</i> | 55 |
| 2) Les modèles chez le poisson-zèbre (ZF) | 56 |
| 3) Les modèles murins..... | 57 |
| a) Modèles murins orthologues | 57 |
| b) Modèles murins non orthologues..... | 58 |
| 4) Autres modèles mammifères..... | 59 |
| <i>IV. Les pistes thérapeutiques</i> | 59 |
| <i>V. NPHP1</i> | 62 |
| 1) Découverte du gène et événements mutationnels..... | 62 |
| 2) Expression de <i>NPHP1</i> | 63 |
| 3) Localisation et fonction ciliaire | 63 |
| 4) Localisation et fonction non ciliaire..... | 64 |
| 5) Modèles animaux | 65 |
| 6) Approche thérapeutique..... | 66 |
| PARTIE 3 : LES PROSTAGLANDINES (PGs) ET LA PGE₂..... | 67 |
| <i>I. Généralités.....</i> | 67 |

SOMMAIRE

| | |
|---|------------|
| 1) Biosynthèse des PGs..... | 67 |
| 2) Les récepteurs EPs..... | 69 |
| 3) Rôles des PGs et de la PGE ₂ | 70 |
| II. La PGE₂ et le rein..... | 72 |
| 1) Expression de la voie PGE ₂ dans le rein..... | 72 |
| 2) Rôle de la PGE ₂ dans le développement rénal..... | 74 |
| 3) Rôle des EPs dans la physiologie rénale | 75 |
| a) Les bases de la physiologie rénale | 75 |
| b) Rôle des EPs dans la réabsorption de l'eau | 78 |
| c) Rôle des EPs dans la réabsorption du sodium | 80 |
| d) Complexité de l'effet de la PGE ₂ sur la physiologie rénale..... | 82 |
| 4) Cible thérapeutique dans le traitement des maladies rénales | 83 |
| a) Approches in vitro..... | 83 |
| b) Maladies rénales chroniques | 84 |
| c) Conclusion sur la voie de la PGE ₂ dans le traitement des maladies rénales..... | 88 |
| III. La PGE₂ et le cil..... | 89 |
| RESULTATS | 92 |
| PARTIE 1 : LES AGONISTES DES RECEPTEURS A LA PROSTAGLANDINE E2 COMME PREMIERE APPROCHE POTENTIELLE DANS LE TRAITEMENT DE LA NEPHRONOPHTISE ET LES CILIOPATHIES ASSOCIEES. | 93 |
| PARTIE 2 : EXPLOITATION DES DONNEES DU RNA-SEQ DES URECS <i>NPHP1</i> | 95 |
| CONCLUSION ET DISCUSSION | 107 |
| BIBLIOGRAPHIE | 124 |
| ANNEXES | 179 |

TABLE DES ILLUSTRATIONS

TABLE DES ILLUSTRATIONS

| | |
|---|-----|
| Figure 1 : Structure globale du cil primaire. | 25 |
| Figure 2 : Import et export des protéines dans le cil primaire. | 26 |
| Figure 3 : Mécanisme général de la ciliogenèse. | 29 |
| Figure 4 : Ciliogenèse et acteurs du cycle cellulaire. | 31 |
| Figure 5 : Voies de signalisation des GPCRs. | 40 |
| Figure 6 : Manifestations cliniques principales des ciliopathies..... | 43 |
| Figure 7 : Structure du rein et du néphron..... | 45 |
| Figure 8 : Lésions histologiques de la NPH. | 47 |
| Figure 9 : Localisation des protéines NPHP dans les différents compartiments ciliaires..... | 50 |
| Figure 10 : Proportion des gènes mutés dans la NPH. | 51 |
| Figure 11 : Voie de synthèse de la PGE2. | 68 |
| Figure 12 : Voies de signalisation principales des récepteurs EPs..... | 69 |
| Figure 13 : Mécanismes de la réabsorption de l'eau et du sodium le long du néphron..... | 77 |
| Figure 14 : Régulation du transport rénal de l'eau et du sodium par la PGE2. | 80 |
| Figure 15 : Étude in vitro et in vivo de LAMC2 dans un contexte NPHP1 et en réponse à la PGE1..... | 98 |
| Figure 16 : Quantité d'ITGA2 dans les URECs en réponse à la PGE1 et dans les souris <i>Nphp1^{-/-}</i> | 99 |
| Figure 17 : Morphologie, masse et activité mitochondriale dans les URECs en réponse à la PGE1... | 100 |
| Figure 18 : Expression des acteurs de la FAO dans les URECs en réponse à la PGE1 et dans le rein des souris <i>Nphp1^{-/-}</i> | 101 |
| Figure 19 : Respiration mitochondriale et FAO dans les URECs en réponse à la PGE1..... | 102 |
| Figure 20 : Mode d'action de la PGE1 dans les URECs NPHP1. | 113 |
| | |
| Tableau 1 : Expression des membres de la voie de biosynthèse de la PGE2 dans le rein..... | 73 |
| Tableau 2 : Expression des récepteurs EPs dans le rein..... | 74 |
| Tableau 3 : Effets de la modulation de la voie de la PGE2 dans le traitement des maladies rénales chroniques..... | 85 |

ABBREVIATIONS

AC3 : Adénylate Cyclase III
ADPKD : Polykystose Rénale Autosomique Dominante
AINS : Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens
ALP : Alprostadil/PGE1
AMPc : Adénosine Monophosphate cyclique
APC : Complexe de Promotion de l'Anaphase
AQP : Aquaporine
ARNi : ARN interférent
ARPKD : Polykystose Rénale Autosomique Récessive
AU : Unité Arbitraire
AVC : Accident Vasculaire Cérébral
AVP : Arginine Vasopressine
β arr : β arrestines
BBS : Syndrome de Bardet-Biedl
BSA : Albumine sérique bovine
BUN : Azote uréique (Blood Urea Nitrogen)
Ca²⁺ : Calcium
CD : Canal collecteur (Collecting Duct)
CDK : Kinases Dépendantes des Cyclines
CNT : Tubule Connecteur
COXs : Cyclooxygénases
DAG : Diacylglycérol
DCT : Tubule Contourné Distal
DMSO : Diméthylsulfoxyde
DTL : Partie descendante de l'anse de Henlé (Descending Thin Limb)
EP1-4 : Récepteurs à la Prostaglandine E 1-4
FAK : Focal Adhesion Kinase
FAO : Oxydation des acides gras (Fatty Acid Oxydation)
FDA : Food and Drug Administration
GMPc : Guanosine Monophosphate cyclique
GPCRs : Récepteurs Couplés aux Protéines G
GRK : Kinase couplée aux GPCRs
H₂O : Eau
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
JBTS : Syndrome de Joubert
kb : kilobase (unité)
kDa : kilo Dalton (unité)
KO : Perte d'expression (Knockout)
HDAC6 : Histone Déactylase 6
Hh : Hedgehog
IF : Immunofluorescence
IFT : Trafic Intraflagellaire
iPSCs : Cellules Souches Pluripotentes induites
IP₃ : Inositol 1,4,5-trisphosphate
IRT : Insuffisance Rénale Terminale
m/cPGES : Prostaglandine microsomale/cytosolique E synthase
MDCK : Madin-Darby Canine Kidney cells

MEC : Matrice Extracellulaire
mIMCD3 : mouse Inner Medullary Collecting Duct 3 cells
MKS : Syndrome de Meckel
MO : Morpholinos
mTOR: mammalian Target Of Rapamycin
Na⁺ : Sodium
NPH(i/j/a) : Néphronoptise (infantile/juvénile/adolescente)
ns : Non significatif
Nx : Néphrectomie subtotale
OAs : Oligonucléotides Antisens
OCR : Taux de consommation d'oxygène (Oxygen Consumption Rate)
OR : Organoïdes rénaux
PBS : Phosphate Buffered Saline
PCR : Polymerase Chain Reaction
PC1/2 : Polycystine 1/2
PGE1/2 : Prostaglandine E1/2
PI4P : Phosphatidylinositol-4-phosphate
PIP₂ = PI(4,5)P₂ : Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate
PKA : Protéine Kinase A
PKC : Protéine Kinase C
PKD : Maladie Rénale Polykystique
PLC : Phospholipase C
PLK1 : Polo-like Kinase 1
qRT-PCR : Quantitative Reverse Transcription PCR
RHU : Recherche Hospitalo-Universitaire
RNA-seq : Séquençage de l'ARN
RPE1 : Retinal Pigment Epithelium 1 cells
SCs : Satellites Centriolaires
shRNA : Petit ARN en épingle à cheveux (Short hairpin RNA)
siRNA : Petit ARN interférent (Small interfering RNA)
Smo : Smoothened
SRA : Système Rénine-Angiotensine
SUP : Système Ubiquitine-Protéasome
TAL : Partie ascendante de l'anse de Henlé (Thin/Thick Ascending Limb)
TAP : Taprenepag
TZ : Zone de Transition
URECs : Cellules épithéliales rénales provenant des urines (Urine-derived Renal Epithelial Cells)
UO : Obstruction rénale unilatérale (Unilateral Ureteric Obstruction)
UV : Ultraviolets
V2R : Récepteur 2 à l'arginine Vasopressine
WB : Western-Blot
WT : Wild-type
ZF : Poisson-zèbre (Zebrafish)
2/3D : 2/3 Dimensions
15-PGDH : 15-hydroxyprostaglandine déshydrogénase

AVANT-PROPOS

Le cil est une structure composée de microtubules présente à la surface de la majorité des cellules des vertébrés. On distingue le cil primaire et les cils motiles (Satir et Christensen, 2007). Le cil primaire, unique et non motile, se forme à la surface de la majorité des cellules quiescentes. Il agit comme une antenne, percevant les signaux chimiques et mécaniques de l'environnement extracellulaire. Il permet la transduction des signaux et est essentiel pour de nombreuses voies de signalisation. Les cils motiles se développent à la surface d'un nombre restreint de types cellulaires, incluant les cellules de l'épithélium respiratoire, de l'épendyme et de l'épithélium des trompes de Fallope (Wallmeier et al., 2020). Les cils motiles battent de manière coordonnée, propulsant le mucus et les liquides. Le flagelle est un cil motile spécialisé permettant le déplacement des spermatozoïdes. Les cellules du nœud embryonnaire possèdent un cil motile unique établissant la latéralité lors du développement embryonnaire. Des anomalies des cils mènent au développement de ciliopathies, un groupe hétérogène de maladies génétiques pouvant affecter une multitude d'organes (rein, œil, squelette, cœur, système nerveux central, etc), de manière isolée ou syndromique (Reiter et Leroux, 2017).

La Néphronophtise (NPH) est une maladie génétique rénale autosomique récessive, appartenant au groupe des ciliopathies (Wolf et Hildebrandt, 2011). En effet, la majorité des vingt-trois gènes *NPHP* identifiés codent pour des protéines du cil primaire. La NPH est la principale cause génétique d'insuffisance rénale terminale chez l'enfant et le jeune adulte, et représente le facteur de morbidité des formes syndromiques associant une NPH à des phénotypes extra-rénaux (rétine, squelette, système nerveux central, foie). Les seuls traitements disponibles actuellement sont la dialyse et la transplantation rénale.

Il n'existe aucune thérapie efficace dans le cadre des ciliopathies rénales, et encore moins pour les ciliopathies rénales pédiatriques où aucune piste suffisamment sérieuse pour mener à un essai clinique n'a encore été envisagée (Stokman et al., 2021). La recherche de stratégies thérapeutiques est donc nécessaire, et pourrait permettre de ralentir la progression des patients vers l'insuffisance rénale terminale et repousser l'âge de la greffe.

REVUE DE LA LITTÉRATURE

PARTIE 1 : LE CIL PRIMAIRE

I. Structure du cil primaire

1) Structure globale

Le cil primaire est formé à partir d'un des centrioles du centrosome, le centriole père ou corps basal (**Figure 1**). La structure du cil primaire, l'axonème, résulte de l'élongation de neuf doublets parallèles de microtubules du corps basal (les étapes de la formation du cil sont détaillées dans la sous-partie II). Dans certains types cellulaires comme les cellules épithéliales rénales, l'architecture de l'axonème se transforme après quelques microns, avec l'arrêt précoce d'un des filaments des doublets de microtubules (Kiesel et al., 2020). On distingue deux compartiments spécialisés à la base du cil : la zone de transition (TZ) et le compartiment inversine. Le cil primaire et sa membrane ciliaire possèdent une composition protéique et lipidique spécifique, différente du cytoplasme et de la membrane plasmique (Nachury et Mick, 2019). Cet enrichissement permet au cil de transduire efficacement les signaux perçus dans son environnement. L'assemblage du cil et la composition ciliaire sont contrôlés par deux mécanismes : i) le transport actif des protéines par une machinerie de trafic intraflagellaire (IFT), et ii) la restriction de la diffusion passive des protéines par la TZ (**Figure 2**).

Les cils sont assemblés et maintenus par le système de transport bidirectionnel des IFTs : le complexe IFT-B pour le transport antérograde (de la base du cil vers l'extrémité) et le complexe IFT-A pour le transport rétrograde (de l'extrémité du cil vers la base ; Pigino et al., 2009). Le déplacement des complexes IFTs le long des microtubules axonémaux est possible grâce à des moteurs moléculaires, les complexes kinésine-2 et dynéine-2 respectivement. Ainsi, l'invalidation de l'IFT-B ou de la kinésine-2 conduit à une absence de cils (Nonaka et al., 1998; Funabashi et al., 2018), tandis que l'invalidation de l'IFT-A ou de la dynéine-2 résulte en une accumulation de matériel à l'extrémité distale du cil (Pazour et al., 1998; Tsao et Gorovsky, 2008; Liem et al., 2012). En plus des IFTs, le complexe protéique BBSome joue un rôle clé dans le transport des protéines ciliaires. Des variants dans les gènes codant les membres de ces trois complexes mènent au développement de ciliopathies (Braun et Hildebrandt, 2017).

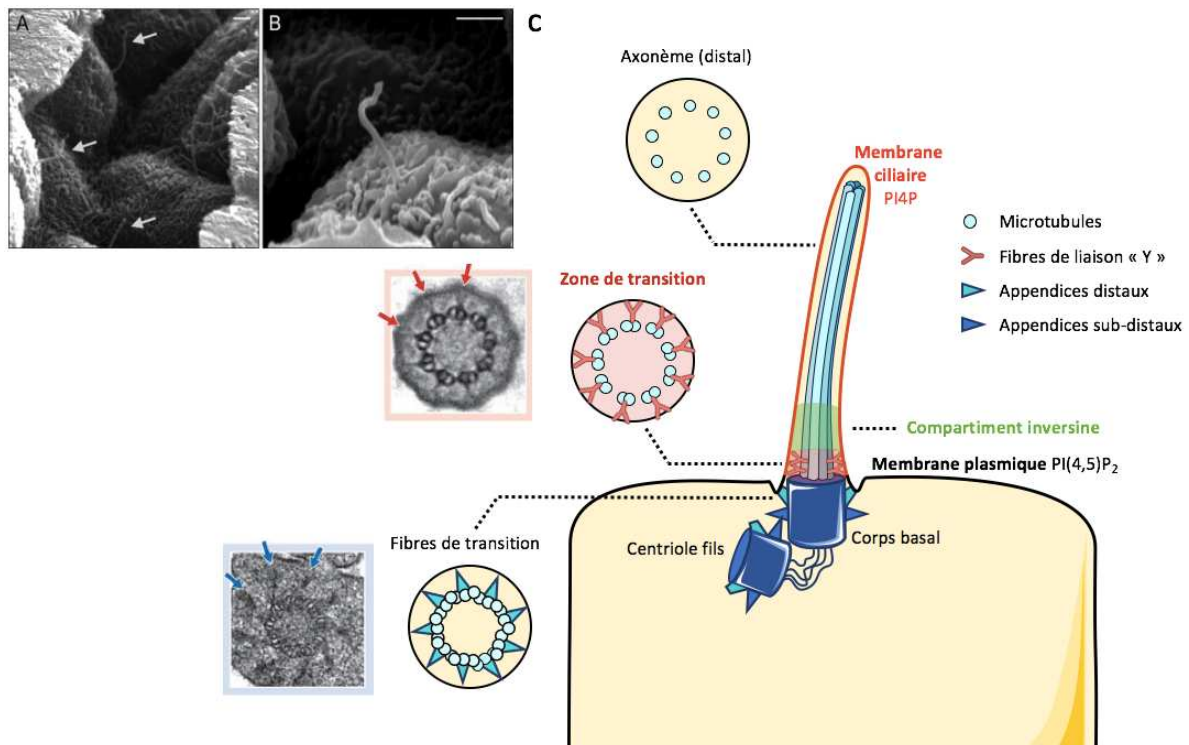


Figure 1 : Structure globale du cil primaire.

(A, B) Cils primaires des cellules épithéliales rénales. Les images de microscopie à balayage sont extraites de Lm et al., 2019. Échelle = 1 μ m. (C) Schéma de la structure du cil primaire. Le corps basal ou centriole père, est composé de neuf triplets de microtubules et s'attache à la membrane basale par ses appendices distaux appelés fibres de transition (Tanos et al., 2013). L'axonème est formé par l'élongation de neuf doublets de microtubules. On retrouve la zone de transition, avec des structures denses en forme de « Y », et le compartiment inversine, qui possède une structure fibrilloïde (Bennett et al., 2020). La partie distale de l'axonème n'est constituée que de neuf singletons de microtubules. Bien que continue avec la membrane plasmique, la membrane ciliaire possède une composition lipidique spécifique avec un enrichissement en PI4P. Les images de microscopie électronique en transmission sont extraites de Reiter et al., 2012.

A la base du cil, l'IFT-B se lie directement à la kinésine-2 pour transporter le long des microtubules les protéines ciliaires, mais également l'IFT-A, la dynéine-2 et le BBSome (Lehtreck, 2015; Funabashi et al., 2018; Kobayashi et al., 2021 ; **Figure 2**). L'IFT-A coopère avec l'IFT-B pour l'entrée des récepteurs couplés aux protéines G (GPCRs) dans le cil (Mukhopadhyay et al., 2010; Kobayashi et al., 2021). Après le relargage des protéines, un remodelage au niveau de l'extrémité du cil permet à l'IFT-A de s'associer à la dynéine-2 pour le transport rétrograde (Mijalkovic et al., 2018). L'IFT-A permet le retour de certaines protéines et de l'IFT-B à la base du cil, ce dernier étant directement réutilisé pour un nouveau transport antérograde (Wingfield et al., 2017). Associé à la β -arrestine 2, le BBSome est nécessaire au passage à travers la TZ et à la sortie du cil des GPCRs activées (Pal et al., 2016; Ye et al., 2018). De manière intéressante, une récente étude a montré que des

protéines, comme la tubuline composant les microtubules axonémaux, pouvaient être directement synthétisées dans les cils motiles (Hao et al., 2021).

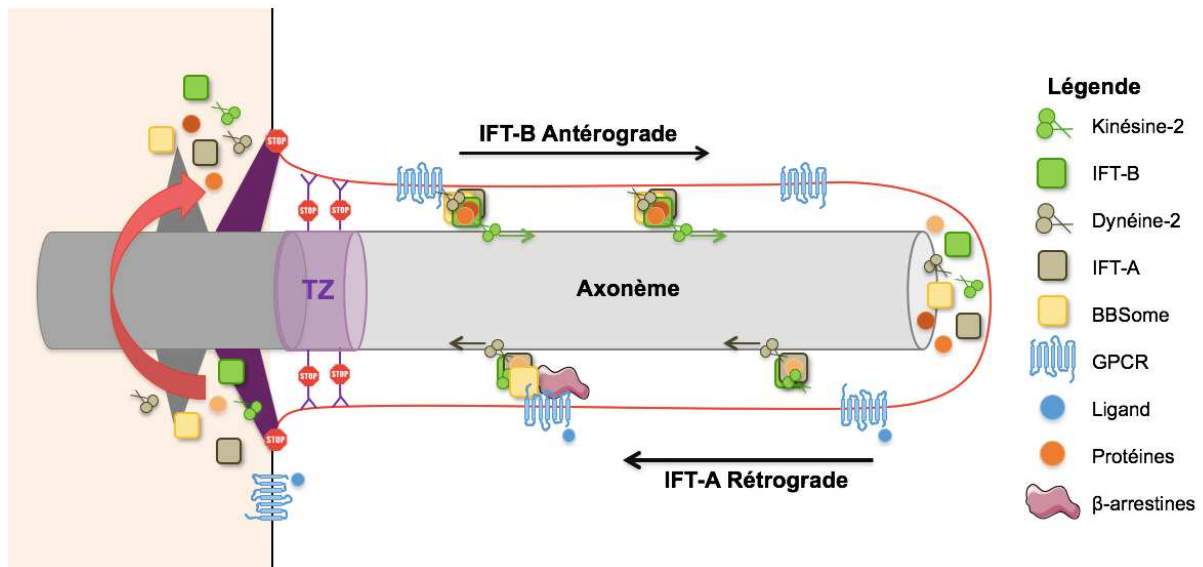


Figure 2 : Import et export des protéines dans le cil primaire.

La zone de diffusion se trouve à la base du cil primaire et restreint la diffusion passive des protéines. Elle est principalement composée de la zone de transition (TZ) avec ses structures denses en forme de « Y » et des fibres de transitions. La machinerie de transport IFT-B permet le transport actif des protéines dans le cil primaire grâce au moteur moléculaire kinésine-2. L'IFT-A interagit avec l'IFT-B pour permettre l'entrée des GPCRs dans le cil. À l'extrémité distale du cil, on observe un réarrangement des machineries, et l'IFT-A transporte les protéines vers la base du cil grâce au moteur moléculaire dynéine-2. Le BBSome et la β-arrestine 2 permettent la sortie des GPCRs activés.

2) La zone de transition (TZ)

La première étude mentionnant la présence d'un compartiment spécialisé à la base du cil remonte aux années 70, avec la description d'un « collier ciliaire », formé par des rangées de particules membranaires encerclant la base de l'axonème (Gilula et Satir, 1972). La notion de barrière de diffusion fonctionnelle apparaît une quinzaine d'années plus tard (Musgrave et al., 1986). La barrière de diffusion est composée des fibres de transition et de la TZ, deux ultrastructures qui séparent le compartiment ciliaire du corps basal et du reste de la cellule (Nachury et Mick, 2019). Les fibres de transition sont en réalité les appendices distaux du centriole père qui permettent l'ancrage du corps basal à la membrane, tandis que la TZ représente l'espace d'environ 0.5µM présentant des structures denses en forme de « Y » qui connectent l'axonème à la membrane (**Figures 1 et 2**). La barrière de diffusion empêche l'entrée et la sortie libre des protéines larges solubles (Breslow et al., 2013). De manière

cohérente, l'absence d'un membre de la TZ résulte en un défaut de composition ciliaire (Ning et al., 2021).

Des études génétiques et d'interaction protéines-protéines ont permis l'identification des nombreux composants de la TZ (Chih et al., 2011; Garcia-Gonzalo et al., 2011; Sang et al., 2011; Williams et al., 2011; Yang et al., 2015; Gonçalves et Pelletier, 2017). Certains de ces composants sont assemblés en modules, les modules MKS et NPHP (NPHP1-4-8 et NPHP5-6), qui se forment de manière indépendante et complémentaire à la TZ (Awata et al., 2014; Li et al., 2016). En effet, la délétion d'un membre des complexes MKS et NPHP simultanément conduit à un phénotype plus grave qu'en l'absence d'un membre du complexe MKS ou NPHP, à la fois chez *C. elegans* et la souris (Yee et al., 2015; Li et al., 2016). Les protéines CEP290 et RPGRIP1L jouent elles aussi un rôle crucial au moment de l'assemblage de la TZ en permettant le recrutement des autres acteurs (Li et al., 2016; Wiegeling et al., 2021). De manière cohérente, un variant dans l'un des gènes codant pour une protéine de la TZ conduit au développement de ciliopathies de gravité variable selon le gène muté ou le type de variant, soulignant l'importance de ce compartiment pour la ciliogenèse et le fonctionnement du cil (Reiter et Leroux, 2017; Shi et al., 2017). Par exemple, un défaut dans l'assemblage du module MKS est à l'origine du syndrome de Meckel (MKS), la forme la plus extrême de ciliopathie syndromique (détaillé dans la **partie 2**).

Associées à la TZ, les fibres de transitions jouent un rôle clé dans la barrière de diffusion. Elles permettent notamment le recrutement des membres de la TZ et l'ancrage des IFTs pour l'assemblage des cargos protéiques (Deane et al., 2001; Schmidt et al., 2012; Wei et al., 2013). Une matrice de protéines est présente entre les fibres de transitions. FBF1, la seule protéine identifiée actuellement, est nécessaire pour l'enrichissement ciliaire de certaines protéines (Yang et al., 2018).

Des mécanismes additionnels permettent le contrôle de la composition ciliaire. Tout d'abord, un anneau de septines, une famille de GTPases pouvant s'assembler sous forme de filaments et faisceaux, est présent à la base du cil et participe à la barrière de diffusion. L'absence de SEPT2 inhibe la ciliogenèse et empêche la localisation ciliaire de protéines membranaires dans les cellules mIMCD3 (Hu et al., 2010). La localisation de SEPT2 et son rôle dans la barrière de diffusion semble cependant dépendre du type cellulaire. En effet, bien que participant toujours à la ciliogenèse, SEPT2 est localisée dans l'axonème de

certaines lignées cellulaires et aucun défaut de composition ciliaire n'a été rapporté en son absence (Ghossoub et al., 2013; Wang et al., 2021). Les nucléoporines, classiquement assemblées en un complexe contrôlant l'entrée des protéines dans le noyau, sont aussi suspectées de jouer un rôle dans la barrière de diffusion. Plusieurs nucléoporines sont localisées au niveau de la TZ, où elles interagissent avec des protéines NPHP. La nucléoporine NUP98 limite la diffusion des protéines supérieures à 70 kDa dans le cil (Endicott et Brueckner, 2018; Blasius et al., 2019).

II. Mécanismes de la ciliogenèse

1) Mécanismes généraux

Plusieurs modèles de ciliogenèse ont été décrits, initialement par Sorokin dans les années 1960 (**Figure 3** ; Sorokin, 1962, 1968). Les cellules non polarisées (ex : fibroblastes) utilisent une initiation intracellulaire via la formation d'une vésicule qui s'ancre aux appendices distaux du centriole père. Elles possèdent une poche ciliaire au niveau de la membrane plasmique. Les cellules polarisées (ex : cellules tubulaires rénales) présentent une initiation à la surface apicale, avec ou non la formation d'une vésicule ciliaire, et un ancrage direct du centriole père à la membrane plasmique (Wu et al., 2018). La majorité des protéines requises pour la ciliogenèse sont communes entre les différents modèles (Hoffman et Prekeris, 2022). L'initiation de la ciliogenèse nécessite l'ancrage des appendices distaux aux membranes, plasmique ou vésiculaire. Ainsi, les protéines des appendices distaux sont requises pour la formation du cil primaire, les principales étant C2CD3, CEP83, CEP89, SCLT1, CEP164 et FBF1 (Graser et al., 2007; Sillibourne et al., 2013; Tanos et al., 2013; Bowler et al., 2019). Une autre étape primordiale consiste en l'inactivation des protéines CP110/CEP97, complexe associé à KIF24 inhibant la polymérisation des microtubules à l'extrémité distale du centriole père (Spektor et al., 2007; Kobayashi et al., 2011). De nombreuses protéines sont impliquées dans cette étape clé. TTBK2 est recrutée au centriole père par CEP164. Elle phosphoryle et induit la dégradation de MMP9, une protéine recrutée par KIF24 qui facilite l'ancrage de CP110/CEP97 (Goetz et al., 2012; Čajánek et Nigg, 2014; Huang et al., 2018). En parallèle, ENKD1 bloque l'interaction entre CP110 et CEP97 en se fixant sur CP110, favorisant son retrait du centriole (Song et al., 2022). MARK4 participe également à l'élimination de CP110 de l'extrémité distale (Kuhns et al., 2013). Bien que les mécanismes exacts ne soient pas toujours connus, l'autophagie et le système ubiquitine-

protéasome (SUP) semblent jouer un rôle important dans la dégradation de CP110 (Liu et al., 2021; Shen et al., 2022).

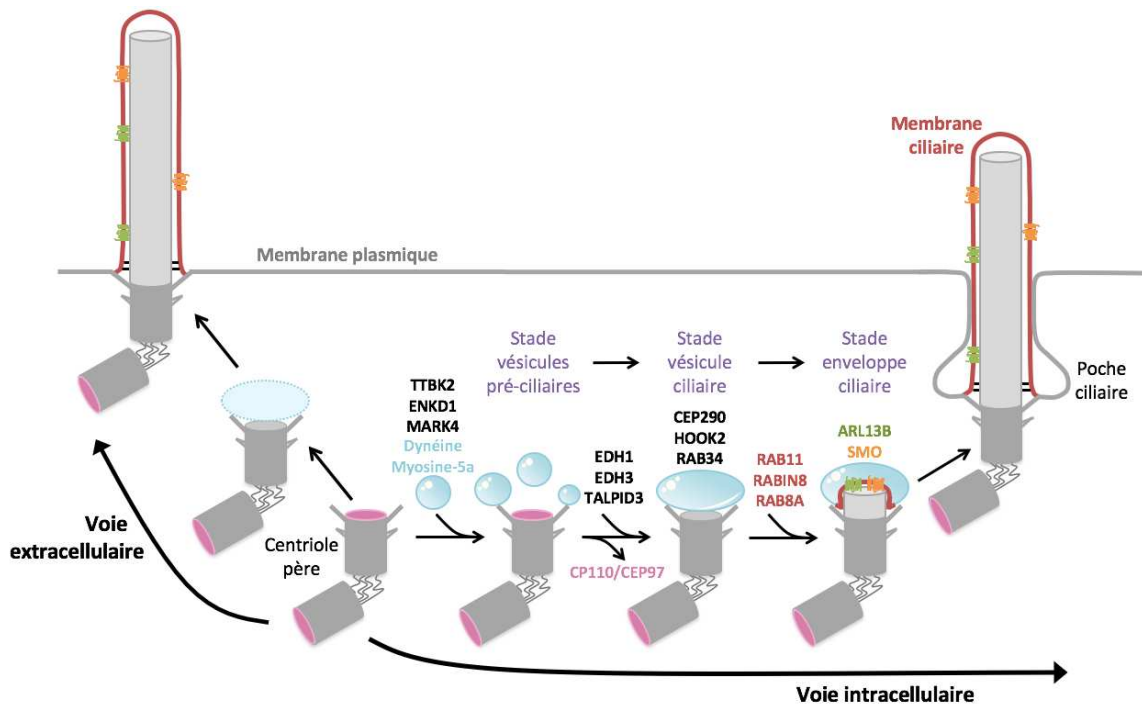


Figure 3 : Mécanisme général de la ciliogenèse.

Le centriole père sert à la formation du cil primaire, par une voie intracellulaire (*partie droite*) ou extracellulaire (*partie gauche*). Les protéines TTBK2, ENKD1 et MARK4 participent à l'élimination du complexe CP110/CEP97 de l'extrémité distale du centriole père. Les vésicules pré-ciliaires transportées par la dynéine et la myosine-5a peuvent alors fusionner, grâce à EDH1, EDH3 et TALPID3, pour former la vésicule ciliaire. CEP290, HOOK2 et RAB34 permettent ensuite la maturation de cette vésicule. Le complexe RAB11-RABIN8-RAB8A permet la formation de la membrane ciliaire au sein de l'enveloppe ciliaire. L'enveloppe fusionne ensuite avec la membrane plasmique et forme la poche ciliaire. Une vésicule ciliaire peut également se former dans la voie extracellulaire. Adapté de Benmerah, 2013 et de Breslow et Holland, 2019.

Le transport des vésicules pré-ciliaires à l'extrémité distale se fait par l'action de la dynéine cytoplasmique et de la myosine-5a (Wu et al., 2018). EDH1 et EDH3 permettent la fusion des vésicules pré-ciliaires pour former la vésicule ciliaire (Lu et al., 2015). A noter qu'EDH1 participe également aux étapes précédentes, puisqu'elle est requise pour l'élimination de CP110 et pour le recrutement de CEP290 (Lu et al., 2015). La ciliogenèse est un mécanisme complexe, et des études ont montré l'implication d'acteurs additionnels dans ces étapes précoces, tels que TALPID3 pour la formation de la vésicule ciliaire, ou HOOK2, RAB34 et CEP290 pour la maturation de la vésicule ciliaire (Baron Gaillard et al., 2011; Kobayashi et al., 2014; Bernabé-Rubio et Alonso, 2017; Breslow et Holland, 2019; Ganga et al., 2021). Par la suite, on observe un enrichissement de protéines au niveau de la vésicule ciliaire, dont ARL13B, Smoothened (Smo) et les composants de la cascade RAB11-RAB8a.

L'interaction de CEP164, RAB11 et RABIN8 active RAB8a et permet la formation de la membrane ciliaire et le trafic des protéines vers celle-ci (Knödler et al., 2010; Westlake et al., 2011; Schmidt et al., 2012; Lu et al., 2015; Mukhopadhyay et al., 2017). La présence d'ARL13B, de Smo et de RAB8a indique que la vésicule contient déjà des cargos destinés au compartiment ciliaire. Ce tri peut être réalisé dans l'appareil de Golgi par IFT20, un membre de l'IFT-B impliqué dans le trafic vésiculaire lors de la formation du cil et interagissant avec CEP83 aux appendices distaux (Follit et al., 2006; Joo et al., 2013).

Il existe autour des centrioles de nombreuses protéines, regroupées sous le nom de satellites centriolaires (SCs), qui participent à l'initiation de la ciliogenèse. PCM-1, la protéine principale des SCs, permet leur assemblage et leur maintenance (Hori et Toda, 2017). PCM-1, CEP290 et le BBSome participent au recrutement de RAB8a à la vésicule ciliaire (Nachury et al., 2007; Kim et al., 2008b). OFD1 est une autre protéine des SCs qui empêche le recrutement au cil de BBS4, un membre du BBSome. La dégradation par autophagie d'OFD1, via l'action de la kinase PKA, est nécessaire pour l'initiation de la ciliogenèse (Tang et al., 2013; Senatore et al., 2021). De manière intéressante, OFD1 est également présente à l'extrémité distale du corps basal où elle recrute IFT88, un membre de l'IFT-B, et promeut la ciliogenèse (Ferrante et al., 2006; Singla et al., 2010). Enfin, les SCs séquestrent MIB1, une protéine du SUP, et empêchent la dégradation de TALPID3 (Wang et al., 2016b).

La ciliogenèse est un mécanisme complexe, médié par un nombre croissant d'acteurs. En plus d'être directement liée à la régulation du cycle cellulaire, elle est contrôlée par de nombreuses voies clés comme la modulation du cytosquelette d'actine ou la voie de l'AMP cyclique (AMPC).

2) Régulation de la ciliogenèse

a) Le cycle cellulaire

Le cil primaire et le cycle cellulaire sont intrinsèquement liés. En effet, le corps basal doit être libéré de la membrane plasmique afin de rejoindre l'appareil mitotique pour la division cellulaire (Dingemans, 1969; Nigg et Stearns, 2011). Le cil s'assemble pendant la phase G0 du cycle cellulaire, et se désassemble progressivement au cours de la transition G1/S pour disparaître au début de la mitose dans la majorité des cas (**Figure 4**; Kobayashi et Dynlacht, 2011; Ford et al., 2018). Des acteurs du cycle cellulaire régulent la formation et le désassemblage du cil.

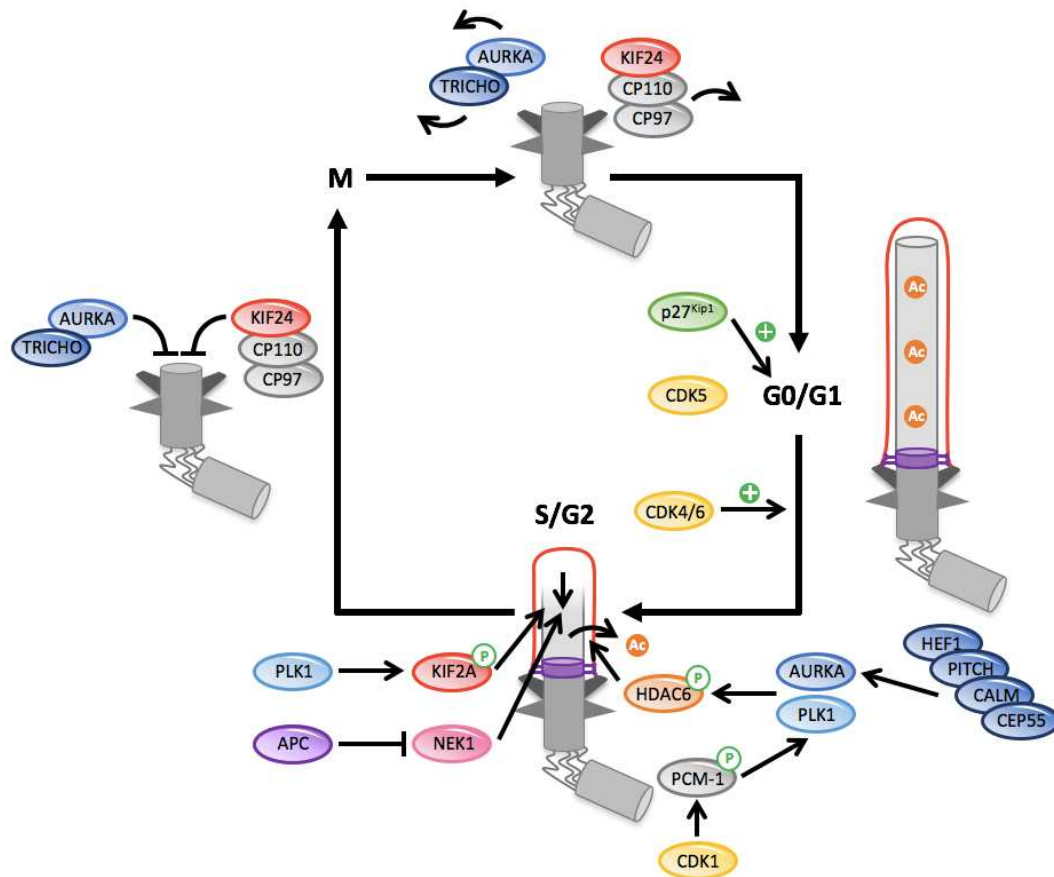


Figure 4 : Ciliogenèse et acteurs du cycle cellulaire.

Le cil est assemblé pendant la phase G0, et est désassemblé progressivement lors de la reprise du cycle cellulaire. p27^{Kip1} promeut l'entrée en quiescence des cellules et le trafic vésiculaire lors de la ciliogenèse. Pendant les phases G0/G1, les microtubules axonémaux sont stabilisés par l'acétylation de la tubuline, et CDK5 participe à la maintenance du cil en inhibant NDE1. CDK4/CDK6 initie la reprise du cycle cellulaire et donc la résorption du cil. Pendant les phases S/G2, les kinases Aurora A (AURKA) et PLK1 activent HDAC6. La perte de l'acétylation déstabilise les microtubules. AURKA peut être activée par HEF1, Pitchfork (PITCH), la calmoduline (CALM) et CEP55. PLK1 est activée par PCM-1 et CDK1. La déstabilisation des microtubules est aussi médiée par l'inhibition de NEK1 par le complexe de promotion de l'anaphase (APC) et l'activation de KIF2A par PLK1. Pendant la division cellulaire, AURKA et KIF24 inhibent l'élongation des microtubules. Au moment de l'entrée des cellules en quiescence, la dégradation de la trichopléine (TRICHO) et de CP110 délocalise AURKA et KIF24 de l'extrémité distale du centriole pour permettre l'élongation des microtubules. Adapté de Malicki et Johnson, 2017.

Assemblage du cil. Les kinases dépendantes des cyclines (CDK) sont des régulateurs majeurs du cycle cellulaire (Łukasik et al., 2021). *Cdk5* est exprimé dans les cellules quiescentes. CDK5 phosphoryle NDE1, un régulateur négatif de la ciliogenèse, et permet sa dégradation par le SUP (Maskey et al., 2015). De manière cohérente, l'inhibition pharmacologique ou génétique de CDK5 diminue la longueur des cils en freinant l'assemblage des microtubules par CRMP2 (Husson et al., 2016). CDK4/CDK6 sont quant à elles impliquées dans la sortie de l'état de quiescence. Leur inhibition augmente la ciliogenèse en stabilisant les microtubules et en augmentant l'expression d'*Ift20* (Lx et al.,

2020). CDK1 phosphoryle PCM-1 pour permettre le recrutement de PLK1 aux centrioles (Wang et al., 2013). PLK1 est une kinase du cycle cellulaire participant au désassemblage du cil primaire (détaillé par la suite). p27^{Kip1} est un inhibiteur des CDK. Il s'accumule en G0 et début de G1, et sa dégradation par le SUP est nécessaire à la reprise du cycle cellulaire (Sherr et Roberts, 1999; Tsvetkov et al., 1999). Ainsi, p27^{Kip1} est associé à l'initiation de la ciliogenèse (Izawa et al., 2015). De plus, une étude récente montre que l'absence de p27^{Kip1} empêche l'ancrage de la vésicule pré-ciliaire aux appendices distaux (Yukimoto et al., 2020). Aurora A est une kinase du cycle cellulaire (Willems et al., 2018). Son activation permet l'entrée des cellules en mitose et la formation du fuseau mitotique. Le maintien d'Aurora A au niveau des centrioles par la trichopléine inhibe la ciliogenèse dans les cellules en prolifération (Inoko et al., 2012). Lors de la sortie du cycle cellulaire, la trichopléine est dégradée par le SUP pour permettre l'extension de l'axonème (Kasahara et al., 2014).

Désassemblage du cil. La tubuline axonémale est acétylée pour stabiliser l'axonème. L'activation de l'histone déacetylase 6 (HDAC6) par Aurora A et PLK1 favorise le désassemblage du cil en G1/S (Pugacheva et al., 2007; Kinzel et al., 2010; Plotnikova et al., 2012; Wang et al., 2013; Zhang et al., 2021). PLK1 promeut également la dépolymérisation des microtubules via l'activation de KIF2A (Miyamoto et al., 2015). Un autre acteur du cycle cellulaire participant désassemblage du cil est le complexe de promotion de l'anaphase (APC). L'APC est impliqué dans le SUP et le contrôle du début de l'anaphase, et induit la dégradation de NEK1, une enzyme favorisant la stabilité des microtubules axonémaux (Wang et al., 2014b). Le désassemblage du cil au moment de l'entrée dans le cycle cellulaire semble se faire en deux temps : le désassemblage principal est essentiellement réalisé par HDAC6 et KIF2A, et la diminution de la taille du cil est ensuite médiée par KIF24, qui dépolymérise les microtubules comme KIF2A (Kobayashi et al., 2011; Kim et al., 2015c). Alors que la première étape de résorption est nécessaire pour la progression du cycle cellulaire, la résorption complète ne l'est pas (Spalluto et al., 2013; Ford et al., 2018).

b) Le cytosquelette d'actine

L'actine est une protéine abondante, exprimée dans tous les types cellulaires. Elle forme un réseau composé de microfilaments d'actine polymérisée (Perrin et Ervasti, 2010). Le cytosquelette d'actine est étroitement lié au cil primaire. En effet, il permet la migration et l'ancrage du corps basal à la membrane via les complexes d'adhésion focaux et sa contraction asymétrique (Antoniades et al., 2014; Pitaval et al., 2017; Hoffman et Prekeris,

2022). De plus, des filaments d'actine sont présents au niveau de l'axonème et de l'extrémité distale du cil primaire (Phua et al., 2017; Kiesel et al., 2020).

Plusieurs études soutiennent le rôle du cytosquelette d'actine dans la modulation de la ciliogenèse et de la longueur du cil. Des protéines favorisant la polymérisation de l'actine, comme la cortactine ou le complexe ARP2/3, ont été identifiées comme régulateur négatif de la ciliogenèse (Bershteyn et al., 2010; Kim et al., 2010; Cao et al., 2012; Failler et al., 2021). De plus, l'utilisation à faibles doses d'un agent dépolymérisant l'actine, la cytochalasine D, augmente la longueur des cils (Kim et al., 2010; Sharma et al., 2011; Rangel et al., 2019). De manière étonnante, la stabilisation de l'actine avec la jasplakinolide peut également augmenter la longueur des cils et la ciliogenèse (Sharma et al., 2011; Nagai et Mizuno, 2017). L'hypothèse principale expliquant ce résultat contre-intuitif est que la jasplakinolide semble désorganiser le cytosquelette d'actine, en créant des agrégats, plutôt que de le stabiliser (Nagai et Mizuno, 2017).

Par la suite, CDC42, MIM et PKC stabilisent la longueur du cil primaire en maintenant la polymérisation du cytosquelette d'actine à la base du cil (Drummond et al., 2018). Ce minimum de polymérisation à la base du cil semble cohérent avec le rôle de l'actine dans le trafic des vésicules pré-ciliaires par la myosine-5a (Wu et al., 2018). En revanche, une trop forte polymérisation de l'actine crée une barrière mécanique bloquant le mouvement des vésicules du compartiment pré-ciliaire péri-centrosomal, source de protéines ciliaires pour la maintenance du cil (Rao et al., 2014; Kim et al., 2015b; Rangel et al., 2019). Le cytosquelette d'actine doit donc être finement régulé pour permettre la maintenance du cil.

Enfin, la polymérisation de l'actine joue un rôle clé lors du désassemblage du cil. En plus de déstabiliser l'axonème, HDAC6 active la cortactine (Ran et al., 2015). CDC42, activé par TCTEX-1, agit sur l'actine et l'endocytose au niveau de la poche ciliaire pour permettre le désassemblage (Saito et al., 2017). Des filaments d'actine sont présents à l'extrémité du cil et leur polymérisation participe à la formation des vésicules extracellulaires ou ectosomes (Nager et al., 2017). Ces vésicules contiennent des protéines ciliaires et participent à la communication paracrine entre les cellules, à l'élimination de protéines et au désassemblage du cil (Garcia et al., 2018). En effet, une étude montre que le désassemblage du cil n'est pas dû qu'à un phénomène de résorption, mais passe également par un mécanisme de décapitation de l'extrémité du cil grâce à la polymérisation de l'actine (Phua et al., 2017).

RhoA est un activateur de ROCK1 et ROCK2, des acteurs clé du remodelage de l'actine favorisant la formation de fibres de stress (Ridley et Hall, 1992). Les défauts ciliaires observés dans les ciliopathies sont dans certains cas associés à des défauts du cytosquelette d'actine et à une augmentation de l'activité de RhoA (Dawe et al., 2009; Valente et al., 2010; Hernandez-Hernandez et al., 2013; Streets et al., 2020). De manière intéressante, l'utilisation d'inhibiteurs de RhoA ou ROCK2, ou de la cytochalasine D, permet d'augmenter le nombre de cellules ciliées dans des modèles cellulaires présentant un défaut de ciliogenèse (Barbelanne et al., 2013; Hernandez-Hernandez et al., 2013; Fan et al., 2020; Lake et al., 2020). Des molécules ciblant cette voie ont été testées avec succès dans des modèles murins de ciliopathie rénale (Cai et al., 2018; Streets et al., 2020).

En étroite collaboration avec l'actine, les microtubules participent à l'homéostasie ciliaire. Bien que le centrosome contrôle l'organisation du cytosquelette de microtubules, il est également un centre organisateur du cytosquelette d'actine et permet la formation de branches d'actine grâce au complexe ARP2/3 (Farina et al., 2016). Ces branchements permettent le trafic des vésicules pré-ciliaires par la myosine-5a, mentionné précédemment (Wu et al., 2018). Le cytosquelette de microtubules participe avec l'actine au positionnement du corps basal pendant la ciliogenèse (Pitaval et al., 2017). Ainsi, l'utilisation du nocodazole, un agent dépolymérisant les microtubules, empêche la migration du corps basal (Pitaval et al., 2017). La présence de tubuline soluble cytoplasmique est essentielle pour pouvoir répondre à un stimulus d'élongation ciliaire ou de ciliogenèse (Sharma et al., 2011). Ainsi, l'effet positif de la cytochalasine D ou la jasplakinolide sur l'élongation des cils est associé à une augmentation de la tubuline soluble, et est inhibé par la stabilisation des microtubules. Dans ce contexte, le traitement au nocodazole augmente la ciliogenèse et la longueur des cils (Sharma et al., 2011). Bien que ce résultat soit contradictoire par rapport aux travaux de Pitaval et al., il est cohérent avec d'autres résultats obtenus dans l'organisme *Tetrahymena pyriformis* (Sharma et al., 2007). L'effet du nocodazole dépend des conditions de culture et de la concentration utilisée. Des études supplémentaires permettront de différencier le rôle des microtubules dans la formation du cil.

Pour terminer, certaines protéines nucléaires en étroite interaction avec le cytosquelette d'actine, notamment les nesprines et les lamines, sont essentielles pour la ciliogenèse (Dawe et al., 2009; Fan et al., 2020).

c) L'AMP cyclique (AMPC)

L'AMPC est un messager secondaire régulant de nombreux processus cellulaires et biologiques via l'activation de la PKA, des EPAC et des canaux calciques (Sutherland et Rall, 1958; Beebe, 1994; de Rooij et al., 1998; Zaccolo et Pozzan, 2003; Newton et al., 2016). La balance d'AMPC dans la cellule est contrôlée par les adénylates cyclases et les phosphodiesterases, augmentant ou diminuant les niveaux d'AMPC respectivement. Ces enzymes sont régulées par un grand nombre de voies de signalisation, dont les GPCRs (Sassone-Corsi, 2012).

L'augmentation de l'AMPC a un effet direct ou indirect sur la ciliogenèse. D'un côté, l'activation de la PKA est corrélée à une augmentation de la vitesse du trafic IFT et de la longueur des cils (Besschetnova et al., 2010; Jin et al., 2014). De l'autre côté, l'AMPC régule des voies de signalisation contrôlant la ciliogenèse, comme le cycle cellulaire ou la modulation du cytosquelette d'actine. En effet, l'activation de la PKA augmente l'expression de *CDKN1B* (p27^{Kip1}) via le facteur de transcription CREB, et favorise l'entrée des cellules en G0/G1 (New et Wong, 2007). De plus, l'activation de la PKA ou d'EPAC1 inhibe RhoA ou les ROCK (Zieba et al., 2011; Oishi et al., 2012; Gerarduzzi et al., 2014). Enfin, la PKA permet la dégradation de protéines inhibitrices de la ciliogenèse localisées aux SCs comme OFD1 (Senatore et al., 2021). Bien que la majorité de la littérature scientifique s'accorde sur le rôle positif de l'AMPC sur la ciliogenèse, la PKA peut également favoriser le désassemblage du cil. La phosphorylation de SEPT7 par la PKA perturbe la dynamique des filaments de septines dans le cil primaire et la ciliogenèse (Wang et al., 2021). De plus, la phosphorylation de NEK10 par la PKA induit sa dégradation par le SUP et le désassemblage du cil (Porpora et al., 2018).

Une diminution de la signalisation AMPC/PKA a été observée dans certains modèles de ciliopathies, avec une perte de la localisation ciliaire de l'adénylate cyclase III (Halbritter et al., 2013a; Bizet et al., 2015; Ryan et al., 2018; Molinari et al., 2019). De manière intéressante, l'augmentation des niveaux d'AMPC par la forskoline, un activateur des adénylates cyclases, restaure la ciliogenèse dans les fibroblastes de patients *CEP290* (Molinari et al., 2019).

d) Autres voies de régulation

Le **système ubiquitine-protéasome** (SUP) permet la dégradation par le protéasome des protéines ubiquitinées. Il s'agit d'un mécanisme important de régulation intracellulaire, et qui est impliqué dans la ciliogenèse. Comme décrit précédemment, le SUP dégrade de nombreux acteurs inhibant la ciliogenèse au moment de la formation du cil, comme CP110 (Shen et al., 2022) ou la trichopléine (Kasahara et al., 2014). Le SUP dégrade aussi des acteurs favorisant la ciliogenèse au moment de la reprise du cycle cellulaire comme p27^{Kip1} (Tsvetkov et al., 1999). Différentes ubiquitines ligases E3 participent à la formation et la résorption du cil, comme VHL, NEK1 et NDE1 (Xu et al., 2010; Wang et al., 2014b; Maskey et al., 2015).

L'**autophagie** est un mécanisme qui permet de dégrader les protéines et les organelles. Bien qu'initialement connue comme étant non-sélective, l'autophagie peut être sélective et s'apparente alors au SUP (Khaminets et al., 2016). La relation entre l'autophagie et la ciliogenèse est bidirectionnelle, l'un pouvant réguler l'autre et inversement (Pampliega et Cuervo, 2016). L'augmentation de l'autophagie semble promouvoir la ciliogenèse via plusieurs mécanismes comme la dégradation d'OFD1 des SCs ou de MYH9, un antagoniste de MYH10, facilitant le remodelage de l'actine (Tang et al., 2013; Kim et al., 2015a; Liu et al., 2018b; Yamamoto et al., 2021). La relation entre l'autophagie et la ciliogenèse est cependant complexe, puisqu'elle peut également inhiber la formation du cil (Pampliega et Cuervo, 2016).

Une étude a montré l'effet bénéfique de **divers stress** sur la ciliogenèse, comme l'irradiation par les rayons UV ou le blocage de la transcription, et ce même dans les cellules en prolifération (Villumsen et al., 2013). Le **stress énergétique** peut lui aussi induire la formation du cil. mTOR, composant les complexes mTORC1 et mTORC2, est une kinase jouant un rôle central dans la transduction des signaux nutritifs et influe sur la croissance, le métabolisme ou la prolifération (Saxton et Sabatini, 2017). L'effet de mTOR sur le cil est complexe. D'un côté, l'inhibition de mTORC1 diminue la taille des cils en réduisant la synthèse protéique, et de l'autre son inhibition induit un état de quiescence qui augmente la ciliogenèse (Takahashi et al., 2018). mTORC1 peut aussi influencer le cil primaire via l'inhibition de l'autophagie (Neufeld, 2010).

En plus de toutes les voies de régulation citées, un récent criblage utilisant des ARNi a mis en évidence le rôle des **protéines de la matrice extracellulaire** et des **régulateurs de la migration et de l'adhésion cellulaire dépendants des intégrines** (Failler et al., 2021). Cette découverte est cohérente avec le rôle déjà connu du cytosquelette d'actine.

Pour conclure, la régulation de la ciliogenèse résulte de l'interaction complexe de nombreuses voies de signalisation intrinsèquement liées les unes aux autres, notamment le cycle cellulaire, l'organisation du cytosquelette ou le métabolisme. Une fois le cil présent à la surface de la cellule, il peut jouer son rôle de mécanosenseur, chémosenseur et réguler les voies de signalisation intracellulaires.

III. Rôle du cil primaire

1) Mécanosenseur

La mécanotransduction consiste en la conversion d'un stimulus mécanique en une signalisation intracellulaire. Le cil primaire est capable de sentir les mouvements fluidiques, notamment du sang, de la bile et de l'urine (Nauli et al., 2003, 2008; Masyuk et al., 2006).

Le cil primaire est localisé au pôle apical des **cellules épithéliales rénales**, dans la lumière tubulaire, où il est soumis au flux urinaire (Latta et al., 1961; Bulger et al., 1974; Schwartz et al., 1997). Le flux augmente la concentration intracellulaire de Ca^{2+} de manière dépendante du cil primaire grâce aux polycystine-1 (PC1) et polycystine-2 (PC2 ; Praetorius et Spring, 2001, 2003; Nauli et al., 2003; Liu et al., 2005). Ces protéines s'associent au niveau du cil pour former un complexe récepteur-canal calcique (Salehi-Najafabadi et al., 2017). Des variants dans les gènes codant ces protéines, *PKD1* et *PKD2* respectivement, sont à l'origine de la polykystose rénale autosomique dominante (ADPKD), une ciliopathie rénale (The International Polycystic Kidney Disease Consortium, 1995; Mochizuki et al., 1996). L'augmentation du Ca^{2+} médiée par PC1 et PC2 semble avoir lieu dans le cytoplasme plutôt que dans le cil primaire directement (Delling et al., 2016). La réponse au flux du cil primaire contrôle la taille cellulaire, via la voie mTOR et l'autophagie (Boehlke et al., 2010; Orhon et al., 2016; Zemirli et al., 2019) et le métabolisme énergétique (Miceli et al., 2020). Enfin, le cil primaire semble être le médiateur du « feedback » tubulo-glomérulaire au niveau de la macula densa (Sipos et al., 2010; Wang et al., 2015). Cette boucle de rétro-contrôle permet au rein d'ajuster la filtration glomérulaire et la réabsorption du sodium (détaillé dans la

partie 2). Il est important de préciser que le cil primaire ne régule qu'une petite partie des voies de signalisation sensibles au flux dans le rein, et n'impacte notamment pas le transport d'ions pour la balance en électrolytes, le relargage de l'ATP ou le remodelage du cytosquelette (Mohammed et al., 2018; Verschuren et al., 2020).

Le cil primaire est également présent à la surface de certaines **cellules endothéliales** du système cardiovasculaire et leur permet de sentir le flux sanguin (Hierck et al., 2008; Nauli et al., 2008). *In vitro*, PC1 y est localisé et permet la production de Ca^{2+} en réponse au flux (Nauli 2008). Dans le poisson-zèbre, l'augmentation du Ca^{2+} en réponse au flux, grâce au cil primaire et à PC2, participe à l'angiogenèse embryonnaire (Goetz et al., 2014). Les **cholangiocytes** sont les cellules des voies biliaires. Tout comme pour les cellules rénales et endothéliales, la présence de PC1 et PC2 au cil primaire permet de moduler le Ca^{2+} en réponse au flux (Masyuk et al., 2006).

Le cil primaire est capable de sentir d'autres stress mécaniques que le flux. Les **ostéoblastes** sont les cellules souches du tissu osseux. Les vibrations de faible magnitude à haute fréquence stimulent la formation des os et sont utilisées comme traitement dans l'ostéoporose (Rubin et al., 2001; Oliveira et al., 2016). Le cil primaire joue un rôle essentiel dans la mécanotransduction de ces vibrations. En effet, l'absence de cil inhibe la maturation, la différenciation et la minéralisation des ostéoblastes (Li et al., 2020, 2021b). Les **chondrocytes** sont les cellules du cartilage. On observe une augmentation de l'ATP et du Ca^{2+} après compression des chondrocytes. Bien que le cil primaire ne soit pas essentiel pour la production de l'ATP, il est essentiel pour la production de Ca^{2+} et la mécanotransduction du signal (Wann et al., 2012). De plus, le cil primaire joue un rôle dans la différenciation des chondrocytes, l'autophagie et l'inflammation en réponse à un stress mécanique (Deren et al., 2016; Fu et al., 2019; Xiang et al., 2019).

2) Chémosenseur

En plus de ses propriétés de mécanosensation, le cil primaire est sensible aux molécules de son environnement. Cette sensibilité est permise par l'enrichissement spécifique au cil de nombreux récepteurs, et notamment des récepteurs à activité tyrosine kinase (Christensen et al., 2012), des canaux ioniques (Jones et Nauli, 2012), des récepteurs Notch (Ezratty et al., 2011), des récepteurs de la matrice extracellulaire comme les intégrines (Seeger-Nukpezah et Golemis, 2012) et des GPCRs (Schou et al., 2015).

a) Récepteurs couplés aux protéines G (GPCRs)

Les GPCRs constituent une large et diverse famille de récepteurs à sept domaines transmembranaires qui induisent différentes voies de signalisation. Ils peuvent être activés par les lipides, les photons, les molécules odorantes, les ions, les nucléotides, les hormones, les neurotransmetteurs et autres ligands (Marinissen et Gutkind, 2001). La fixation du ligand sur son récepteur provoque l'échange du GDP en GTP au niveau de la sous-unité $G\alpha$, qui se dissocie alors des sous-unités $G\beta\gamma$. Il existe seize sous-unités $G\alpha$, cinq sous-unités $G\beta$ et treize sous-unités $G\gamma$ (Wootten et al., 2018). Les quatre grandes familles de $G\alpha$ ($G\alpha_s$, $G\alpha_i$, $G\alpha_q$ et $G\alpha_{12/13}$) régulent des effecteurs cellulaires clés (adénylates cyclases, phospholipase C, etc) et génèrent des messagers secondaires ($AMPc$, Ca^{2+} , $GMPc$, DAG, IP_3) qui sont détaillés dans la **Figure 5**. Bien que la signalisation des $G\alpha$ soit souvent mise en avant, les sous-unités $G\beta\gamma$ sont aussi à l'origine d'une signalisation intracellulaire passant principalement par la phospholipase C, les adénylates cyclases et les canaux ioniques (Khan et al., 2016).

Les β -arrestines font partie intégrante de la signalisation des GPCRs. Leur liaison aux GPCRs les empêchent de se recoupler aux protéines G. De plus, elles permettent l'internalisation des récepteurs activés au niveau de la membrane plasmique, ainsi que leur trafic intracellulaire dans les endosomes (Peterson et Luttrell, 2017). Dans le cil primaire, la β -arrestine 2 s'associe au BBSome pour permettre la sortie des GPCRs activés (Pal et al., 2016). Les voies de signalisation induites par les β -arrestines sont multiples et s'ajoutent à celles des protéines G (**Figure 5**). Parmi les principales, on retrouve la signalisation Src, impliquée dans la prolifération cellulaire et le remodelage du cytosquelette, et la signalisation MAPK (ERK1/2, JNK, p38) également impliquée dans la prolifération et la survie des cellules (Mykityn et Askwith, 2017; Peterson et Luttrell, 2017). On retrouve aussi d'autres signalisations telles qu'Akt, FAK ou p53 (Peterson et Luttrell, 2017; Alexander et al., 2020; Blondel-Tepaz et al., 2021).

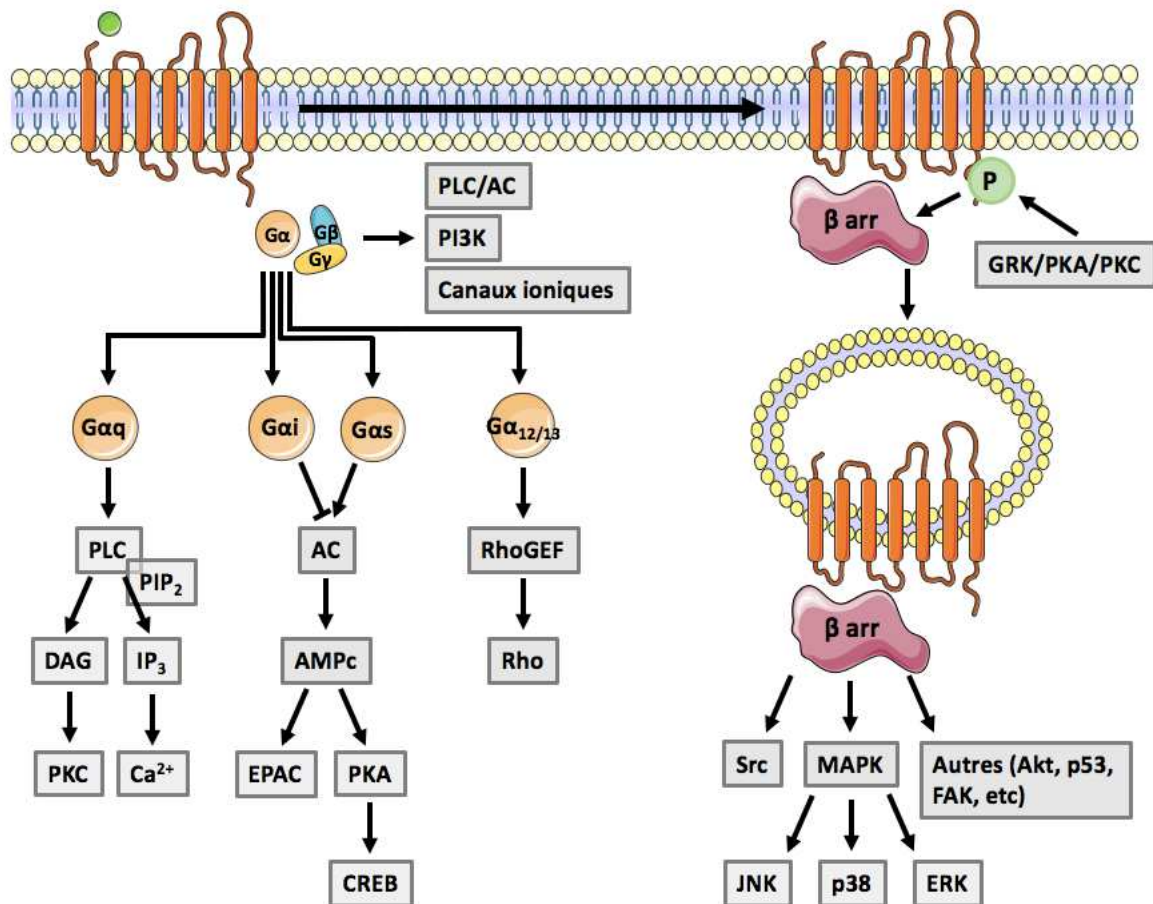


Figure 5 : Voies de signalisation des GPCRs.

Après fixation du ligand, les sous-unités $G\alpha$, $G\beta$ et $G\gamma$ se séparent et activent des voies de signalisation. Les protéines de la famille $G\alpha_q$ activent la phospholipase C (PLC), qui peut cliver le phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP_2) en diacylglycérol (DAG) et en inositol 1,4,5-trisphosphate (IP_3). Ces messagers secondaires activent respectivement la protéine kinase C (PKC) et les canaux calciques du réticulum endoplasmique. Les protéines de la famille $G\alpha_s$ activent les adénylates cyclases (AC), produisant de l'AMPc à partir d'ATP. L'AMPc active ensuite les protéines EPAC-1 et -2 et/ou la protéine kinase A (PKA). La PKA phosphoryle et active le facteur de transcription CREB. Les protéines de la famille $G\alpha_i$ inhibent cette signalisation. Enfin, les protéines de la famille $G\alpha_{12/13}$ activent les RhoGEF, des protéines activant les GTPases de la famille Rho. Les sous-unités $G\beta$ et $G\gamma$ peuvent activer la PLC, la PKA, une signalisation PI3K/Akt et/ou des canaux ioniques. Après activation, le GPCR est peut être phosphorylé par les protéines GRK, PKA ou PKC, permettant la fixation des β -arrestines (β arr) et l'internalisation du récepteur. Les β -arrestines peuvent initier de nombreuses voies de signalisation. Les sous-unités $G\alpha$ et $G\beta$ sont rattachées à la membrane plasmique (non représenté dans le schéma).

Plus d'une vingtaine de GPCRs différents ont été localisés au cil primaire (Anvarian et al., 2019). La transduction de leurs voies de signalisation est possible grâce à l'enrichissement en effecteurs dans le cil. A titre d'exemple, les acteurs de la voie AMPc tels que les adénylates cyclases ou la PKA sont présents dans le cil primaire ou à sa base (Mick et al., 2015; Hansen et al., 2022). Plusieurs études récentes montrent que les cellules régulent et interprètent différemment la production d'AMPc dans le cil primaire ou le cytoplasme (Sherpa et al., 2019; Truong et al., 2021; Hansen et al., 2022). Notamment, la production ciliaire d'AMPc,

mais pas cytoplasmique, permet d'inhiber la voie Hedgehog (Hh) ou d'induire la kystogénèse (Truong et al., 2021; Hansen et al., 2022).

b) Les voies de signalisation ciliaires

Le cil primaire a tout d'abord été connu comme un centre de transduction des messages lumineux et olfactifs (Bloom, 1954; De Robertis, 1956). Le segment externe des photorécepteurs est considéré comme un cil primaire spécialisé et est rattaché au segment interne par une zone de transition spécialisée, ou cil connecteur (Bachmann-Gagescu et Neuhaus, 2019). Il est enrichi en rhodopsine, un GPCR associé à une protéine $G\alpha_t$ ($G\alpha_i$) aussi appelée transducine. Après détection des photons, la rhodopsine active les phosphodiesterases GMPc. Suite à la dégradation du GMPc, l'hyperpolarisation de la cellule aboutit à la transduction du signal lumineux par les synapses (Okada et al., 2001; Mykytyn et Askwith, 2017). L'inactivation des récepteurs est réalisée par les arrestines visuelles, à différencier des β -arrestines mentionnées précédemment (Peterson et Luttrell, 2017). La perception des odeurs est quant à elle médiée par la liaison de molécules odorantes sur les récepteurs olfactifs, des GPCRs couplés à une protéine $G\alpha_{olf}$ ($G\alpha_s$) présents aux cils sensoriels des neurones olfactifs (Kato et Touhara, 2009). La production d'AMPC dans le cil augmente les niveaux de Ca^{2+} et promeut la dépolarisation des neurones. Les β -arrestines sont ensuite recrutées pour inactiver les récepteurs olfactifs (Mykytyn et Askwith, 2017).

L'une des voies de signalisation ciliaire les plus importantes est la voie Hh, dont la cascade de signalisation dépend du cil primaire et des GPCRs Smo et GPR161 (Huangfu et al., 2003; Bangs et Anderson, 2017). Cette voie est le parfait exemple des mécanismes mis en place dans le cil primaire pour la signalisation des GPCRs. La voie Hh est impliquée dans l'homéostasie tissulaire et le développement embryonnaire, notamment pendant la formation du squelette, des membres et du système nerveux central (Briscoe et Théron, 2013). En l'absence du ligand Hh, les protéines Patched et GPR161 sont localisées à la membrane ciliaire. Comme pour les autres GPCRs, GPR161 est importée dans le cil par l'IFT-A et son adaptateur TULP3 (Mukhopadhyay et al., 2013). GPR161 est couplée à une $G\alpha_s$ qui augmente l'AMPC intra-ciliaire et active la PKA à la base du cil pour réprimer les facteurs de transcription GLI (Tuson et al., 2011; Mukhopadhyay et al., 2013). Après liaison de Hh à Patched, Smo et GPR175 entrent dans le cil tandis que GPR161 en sort grâce à la β -arrestine 2 (Pal et al. 2016). Leur activité $G\alpha_i$ inhibe la PKA (Singh et al., 2015) et lève la répression des facteurs GLI. D'autres voies de signalisation sont associées au cil primaire (Anvarian et al.

2019). On peut citer les voies Wnt (Gerdes et al., 2007), Notch (Ezratty et al. 2011), PDGFR α (Schneider et al., 2005) et TGF β (Clement et al., 2013).

Le cil primaire est une plateforme de signalisation complexe, percevant autant les messages mécaniques que chimiques de son environnement. Les défauts structurels ou fonctionnels des cils sont à l'origine des ciliopathies.

IV. Les ciliopathies

Plus d'une trentaine de ciliopathies ont été rapportées, avec presque 200 gènes causaux identifiés (Reiter et Leroux, 2017). De par la présence quasi-ubiquitaire des cils, le nombre d'organes et de tissus pouvant être affectés est élevé, et dépend du gène muté et du type de variant (**Figure 6**). Les ciliopathies peuvent se présenter sous une forme isolée ou syndromique. Une atteinte du cil primaire ou des cils motiles conduit à un large spectre de manifestations cliniques parfois chevauchantes.

La ciliopathie motile la plus répandue est la dyskinésie ciliaire primitive. L'évacuation du mucus ne peut se faire normalement en raison des défauts des cils motiles de l'épithélium respiratoire, et résulte en de fréquentes infections respiratoires (sinusite, bronchite, pneumonie, etc ; Wallmeier et al., 2020). L'association de la dyskinésie ciliaire primitive et de l'hétérotaxie forme le syndrome de Kartagener. L'hétérotaxie correspond un défaut de placement des organes. Le *situs inversus* en est une version extrême, avec une inversion totale du placement des organes, en miroir par rapport à leur disposition normale dans le corps humain.

Les ciliopathies du cil primaire touchent un plus grand nombre d'organes. Les manifestations rénales font parties des plus fréquentes. L'intérêt pour le cil primaire a d'ailleurs émergé au début des années 2000, quand une étude a fait le lien entre le dysfonctionnement du cil et le développement des maladies génétiques rénales polykystiques (PKD ; Pazour et al., 2000). Par la suite, d'autres études chez la souris ont confirmé le rôle essentiel du cil primaire dans le développement rénal. Les souris *Kif3a*, présentant une ablation du cil spécifiquement dans le rein, développent une PKD à partir de cinq jours, et une insuffisance rénale terminale (IRT) à vingt et un jours (Lin et al., 2003). En revanche, l'ablation du cil dans le rein des souris à l'âge adulte ne conduit pas en un phénotype aussi drastique. Les souris *Kif3a* ou *Ift88* développent une PKD tardivement,

environ un an après l'inactivation de ces gènes à un ou deux mois après la naissance (Davenport et al., 2007; Hu et al., 2022).

Les ciliopathies rénales regroupent la néphronophtise (NPH) et les PKD, dysplasiques ou non. La NPH ainsi que les formes syndromiques qui lui sont associées sont détaillées dans la **partie 2**.

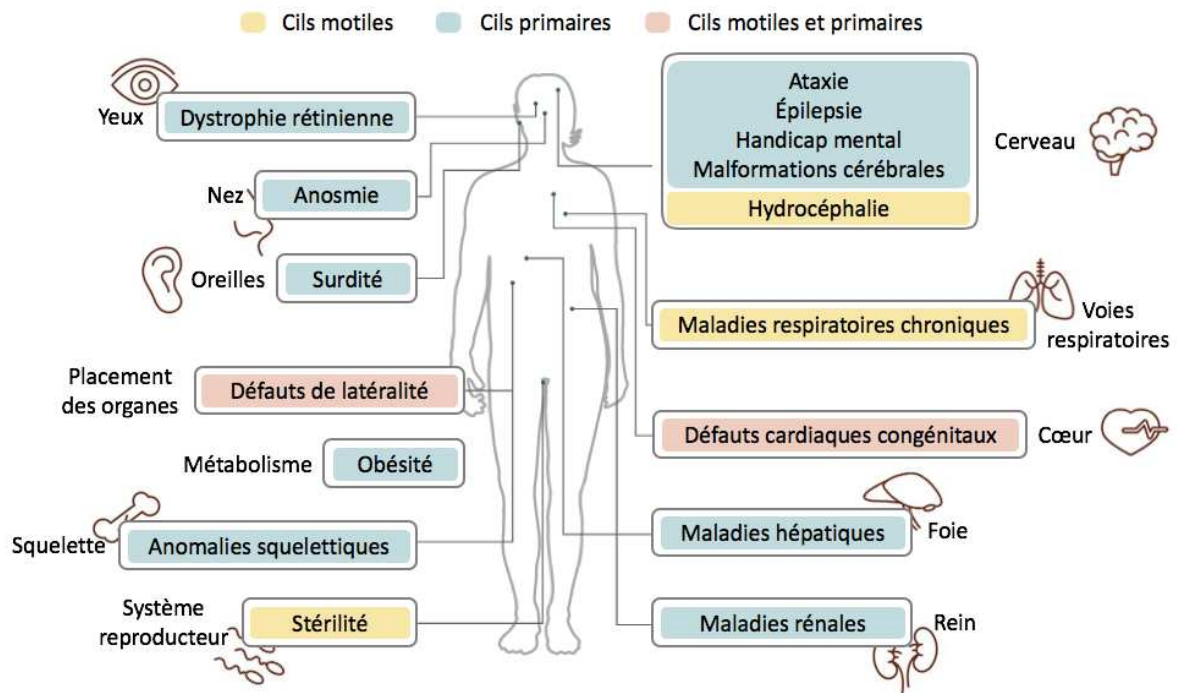


Figure 6 : Manifestations cliniques principales des ciliopathies.

Des défauts des cils motiles (jaune) peuvent impacter le système reproducteur (stérilité chez l'homme et la femme), l'appareil respiratoire (sinusite, bronchite, pneumonie) et le cerveau (hydrocéphalie). Des défauts du cil primaire (bleu) peuvent impacter la vision (dystrophie rétinienne), l'odorat (anosmie), l'ou ie (surdité), le métabolisme (ob sitt ), le squelette (polydactylie, malformations de la cage thoracique et du visage, etc), le cerveau (ataxie, épilepsie, handicap mental, malformations cérébrales), le foie (fibrose hépatique) et le rein (maladie rénale kystique et néphronophtise). Enfin, des défauts de latéralité des organes (hétérotaxie/*situs inversus*) et des maladies cardiaques congénitaux (souvent d  à une hétérotaxie) peuvent être observés avec des défauts des cils motiles et primaires (rose). Adapté de Reiter et Leroux, 2017.

Concernant les PKD, il existe une forme autosomique dominante (ADPKD) se développant chez l'adulte, et une forme plus rare autosomique récessive (ARPKD) se manifestant de manière plus ou moins précoce dans l'enfance (Bergmann et al., 2018). Comme mentionné précédemment, l'ADPKD est causée par des variants dans les gènes codant pour PC1 et PC2. Les principaux médiateurs de la formation des kystes dans l'ADPKD sont la diminution de la production de Ca^{2+} , l'augmentation des niveaux d'AMPc et la sur-

activation de la voie RAS-RAF-ERK. Il en résulte une augmentation de la prolifération cellulaire et de la sécrétion des fluides, ainsi qu'une altération de la polarité des cellules tubulaires (Sweeney et Avner, 2014; Bergmann et al., 2018). L'ablation du cil dans des modèles murins de PKD empêche la formation des kystes, soulignant le rôle des polycystines dans la répression d'une voie ciliaire pro-kystogénique (Ma et al., 2013). L'ARPKD est causée par des variants dans le gène *PKDH1* codant pour la fibrocystine (Onuchic et al., 2002). Bien que peu d'éléments soient connus sur la fonction de cette protéine ciliaire, les voies de signalisation menant à la formation des kystes semblent être comparables à celles de l'ADPKD (Sweeney et Avner, 2014). Pour terminer, la dysplasie rénale kystique, bien moins étudiée que l'ADPKD ou l'ARPKD, se caractérise par une anomalie de développement du rein comme dans le MKS, avec des reins kystiques élargis chez le fœtus (Arts et Knoers, 2013).

PARTIE 2 : LA NEPHRONOPHTISE (NPH)

I. Le rein

Le rein est un organe vital, responsable de la filtration du sang, l'élimination des déchets métaboliques et l'homéostasie de l'organisme (régulation de la pression sanguine, balance du pH et des électrolytes) à travers le néphron, l'unité fonctionnelle du rein (Schnell et al., 2022). Un rein humain adulte est composé d'en moyenne un million de néphrons (Bertram et al., 2011).

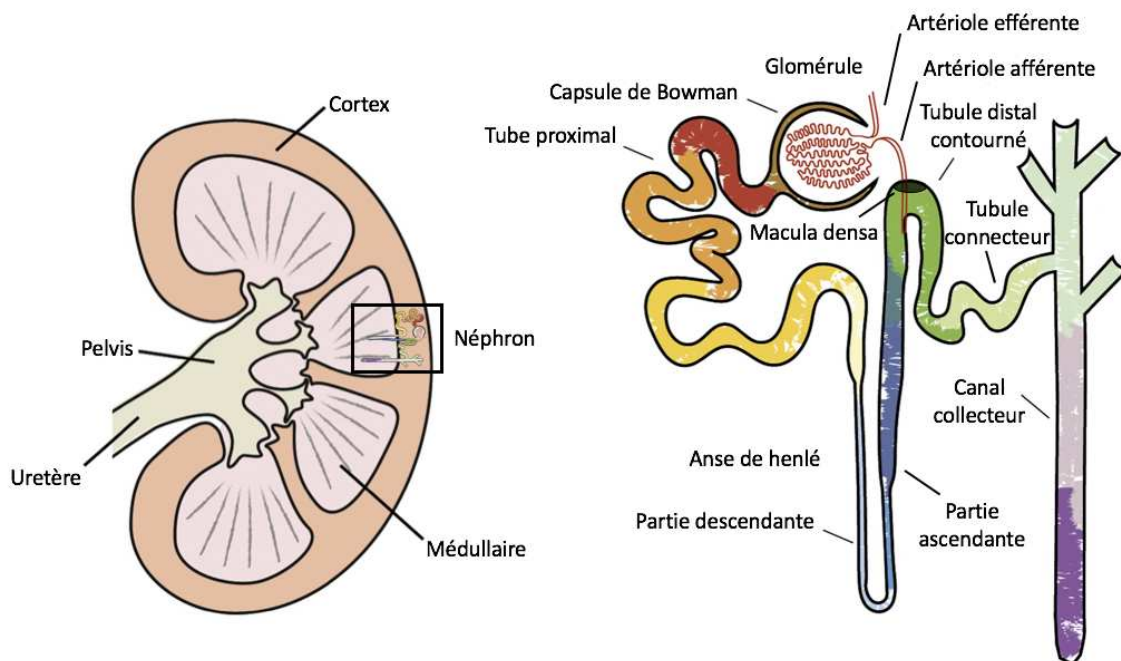


Figure 7 : Structure du rein et du néphron.

Le rein est composé du cortex et de la médullaire rénale, entourés par une capsule fibreuse. Le corpuscule rénal est composé du glomérule (pôle vasculaire) et de la capsule de Bowman (pôle urinaire). Le néphron est composé du tubule proximal, de l'anse de Henlé, du tubule distal et du canal collecteur. Hormis l'artériole afférente et efférente, le réseau vasculaire n'est pas représenté. Adapté de Lindgren et al., 2018.

Le néphron est composé du corpuscule rénal, qui filtre le sang, et du tubule rénal, en charge de la réabsorption de l'eau et des molécules. Le corpuscule rénal est composé du glomérule et de la capsule de Bowman (**Figure 7**). Les podocytes sont des cellules présentes dans la capsule de Bowman possédant des prolongements cytoplasmiques, appelés « pieds », qui entourent les capillaires. Ils participent à la barrière de filtration glomérulaire, empêchant le passage de la plupart des protéines dans l'urine primaire (Neal, 2015). L'urine primaire traverse le tubule proximal (réabsorption de l'eau, du sodium, des protéines de

faible poids moléculaire, du glucose et de divers ions), l'anse de Henlé (réabsorption de l'eau dans la partie descendante (DTL) et du sodium et de divers ions dans la partie ascendante (TAL) ; établissement d'un gradient osmotique), le tubule distal composé du tubule contourné et du tubule connecteur (DCT et CNT, balance finale du sodium et du chlorure, régulation de H^+ et HCO_3^- assurant l'équilibre du pH), et s'écoule enfin dans les canaux collecteurs (CD, réabsorption de l'eau ; concentration de l'urine) jusque dans la vessie (**Figure 7** ; Knepper et Burg, 1983; Verschuren et al., 2020). Le rein est un organe hautement vascularisé (Apelt et al., 2021). Le sang arrive dans le rein par l'artère rénale qui se divise ensuite en artérioles pour former le réseau de capillaires glomérulaires. Le sang filtré quitte le glomérule par l'artériole efférente et rejoint un réseau dense de capillaires. Au niveau de la médulla rénale, ce réseau s'appelle la vasa recta. La macula densa est un groupe de cellules tubulaires spécialisées du DCT en contact avec l'artériole afférente et les cellules juxtaglomérulaires. Les cellules de la macula densa permettent d'ajuster le débit de filtration glomérulaire et la réabsorption du sodium via le système rénine-angiotensine. Ce mécanisme s'appelle le feedback tubulo-glomérulaire (Ito et al., 1992; Castrop, 2007). Les mécanismes régulant l'homéostasie rénale sont détaillés dans la **partie 3**.

II. Aspects cliniques de la NPH

1) Généralités

La NPH a été décrite pour la première fois en 1945, mais le terme « Néphronoptise juvénile » n'est apparu qu'en 1951 (Smith et Graham, 1945; Fanconi et al., 1951). Le nom « Néphronoptise » provient du grec et signifie « désintégration des néphrons ».

La NPH est une néphropathie tubulo-interstitielle autosomique récessive. Cette pathologie est l'une des principales causes d'IRT chez l'enfant. La NPH juvénile (NPHj) est la forme principale et est associée à un âge médian d'apparition de l'IRT de treize ans (Hildebrandt et al., 1997b; Stokman et al., 2018; König et al., 2022; Tang et al., 2022). Deux formes supplémentaires existent : la NPH infantile (NPHi) et la NPH adolescente/adulte (NPHa). La NPHi fut décrite pour la première fois en 1989 et se distingue de la NPHj par des reins de taille élargie avec la présence de kystes rénaux corticaux et une IRT avant l'âge de cinq ans (Gagnadoux et al., 1989; König et al., 2022). Les premiers cas de NPHa ont été reportés dans les années 2000, avec des lésions histologiques similaires à la NPHj et un âge médian d'IRT de dix-neuf ans (Georges et al., 2000; Omran et al., 2000; Snoek et al., 2018).

2) Symptômes cliniques et aspect histologique

Les patients NPH présentent un défaut de concentration des urines résultant en une polyurie (augmentation du volume urinaire), une polydipsie (soif excessive) et dans certains cas une énurésie (émission d'urine involontaire et inconsciente, généralement la nuit chez l'enfant). Ces symptômes sont parfois associés à une anémie et un retard de croissance (Ala-Mello et al., 1999). Une protéinurie et une augmentation de la créatinine plasmatique peuvent être observés chez certains patients (Larsen et al., 2018; Abo El Fotoh et Al-Fiky, 2020; König et al., 2022; Tang et al., 2022).

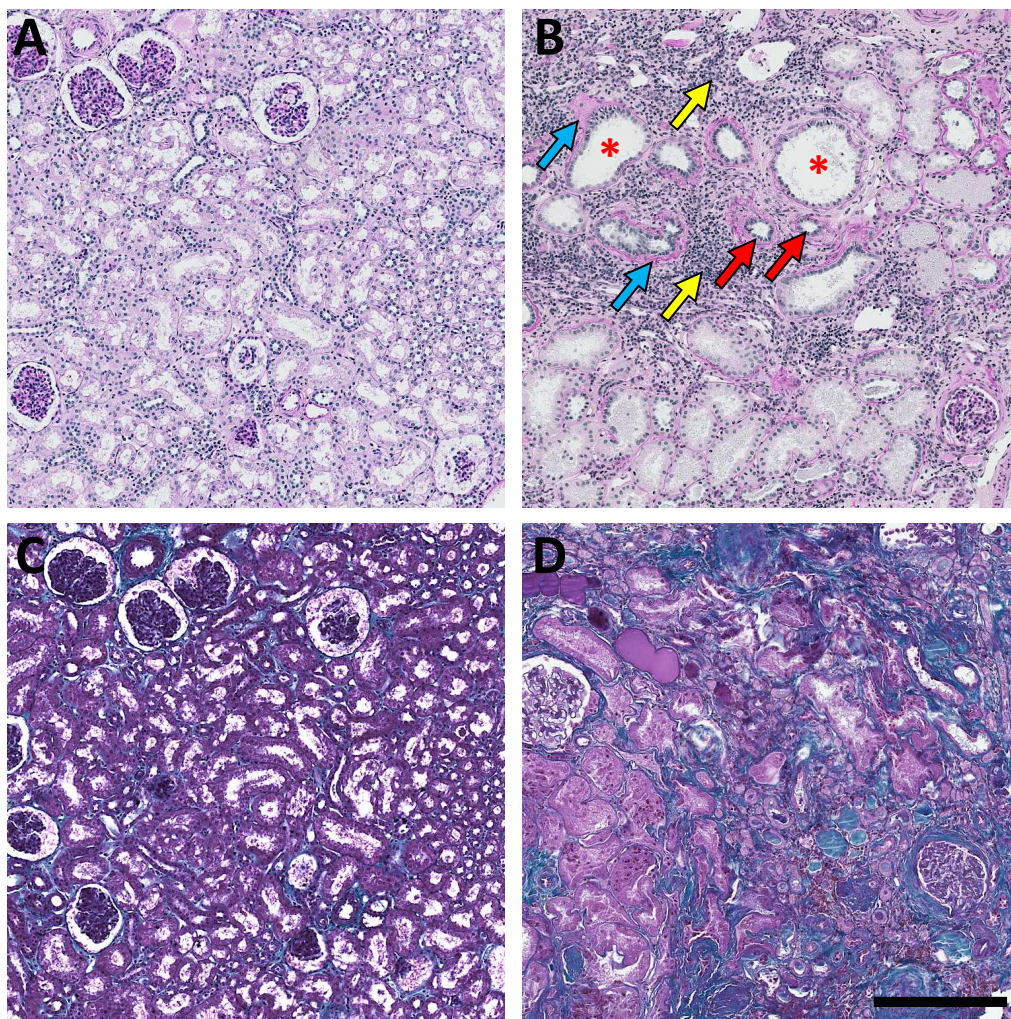


Figure 8 : Lésions histologiques de la NPH.

(A, B) PAS d'un rein contrôlé (A) et d'un patient porteur d'un variant dans le gène *NPHP4* (B). On observe des tubules dilatés (étoile rouge) et atrophiés (flèche rouge), un épaissement de la lame basale (flèche bleue) et des infiltrats de cellules immunitaires (flèche jaune). **(C, D)** Coloration au trichrome de Masson d'un rein contrôlé (C) et d'un patient porteur d'un variant dans le gène *NPHP4* (D). On observe de la fibrose tubulo-interstitielle (coloration verte/bleue). Échelle = 250µm.

Les reins sont atrophiques ou de taille normale, à la différence des maladies rénales kystiques et de la NPHi. Une échographie rénale montre généralement une augmentation de l'échogénicité avec perte de la différenciation cortico-médullaire et la présence de petits kystes à la jonction cortico-médullaire aux stades les plus tardifs (Blowey et al., 1996; Tang et al., 2022).

D'un point de vue histologique, on observe une atrophie et une dilatation tubulaire associées à une désorganisation des membranes basales (épaississement, amincissement, duplication) et une fibrose interstitielle massive (**Figure 8**). La présence de kystes à la jonction cortico-médullaire est variable (Zollinger et al., 1980; Wolf et Hildebrandt, 2011; Fujimaru et al., 2021). Une récente étude a mis en avant d'autres signes histologiques plus caractéristiques de la NPH, notamment des agrégats interstitiels de la protéine Tamm-Horsfall, des changements morphologiques des cellules tubulaires, qui deviennent alors semblables à celles de la macula densa (petites cellules avec un gros noyau hyperchromatique), ou de la fibrose péri-glomérulaire (Larsen et al., 2018). La composante inflammatoire de la NPH a été démontrée récemment par le laboratoire, avec une infiltration de cellules immunitaires dans le rein (**Figure 8**; Quatredeniens et al., 2021). On observe également une augmentation de l'apoptose des cellules tubulaires (Wodarczyk et al., 2010).

Les manifestations cliniques, biologiques et histologiques décrites sont classiquement observées dans les maladies rénales chroniques, rendant le diagnostic de la NPH difficile. Un séquençage d'exome réalisé sur une cohorte de patients présentant une hyper-échogénicité rénale a permis de diagnostiquer une NPH à 45% d'entre eux (Braun et al., 2016). Une étude de 2018, réalisée sur une large cohorte d'adultes avec une maladie rénale chronique, montre que 0.5% des patients ont une délétion homozygote de *NPHP1*. Seulement 12% de ces patients avaient été correctement diagnostiqués au préalable (Snoek et al., 2018). Le test génétique aide donc au diagnostic de la NPH. Au vu du nombre grandissant de gènes causaux ou potentiellement causaux, le séquençage d'exome total a remplacé les panels de gènes de séquençage (Halbritter et al., 2012, 2013b).

3) Génétique de la NPH

La NPH est une maladie monogénique récessive présentant une large hétérogénéité génétique. L'identification des premiers gènes a été réalisée par clonage positionnel et

analyse de liaison suivie de séquençage Sanger (Saunier et al., 1997; Haider et al., 1998; Omran et al., 2000; Mollet et al., 2002; Otto et al., 2005, 2008, 2009; Sayer et al., 2006; Attanasio et al., 2007; Delous et al., 2007). Par la suite, les nouvelles stratégies de séquençage d'exons ciblés ou d'exome total et les analyses protéomiques (partenaires NPHP et protéome ciliaire) ont permis d'augmenter le nombre de gènes candidats (Otto et al., 2010; Bredrup et al., 2011; Davis et al., 2011; Chaki et al., 2012; Perrault et al., 2012; Halbritter et al., 2013a; Hoff et al., 2013; Failler et al., 2014; Bizet et al., 2015; Schueler et al., 2015; Macia et al., 2017; Choi et al., 2019). Au total, vingt-trois gènes *NPHP* ont été officiellement identifiés. La majorité d'entre eux codent pour des protéines localisées au cil primaire ou au corps basal (**Figure 9, Annexe 1**). Ils forment ou participent au fonctionnement de différents sous-domaines et machineries ciliaires : le compartiment inversine (*INVS/NPHP2, NPHP3, NEK8/NPHP9, ANSK6/NPHP16*), la zone de transition (*NPHP1, NPHP4, IQCB1/NPHP5, CEP290/NPHP6, RPGRIP1L/NPHP8, TMEM67/NPHP11*), le corps basal et les centrosomes (*SDCCAG8/NPHP10, CEP164/NPHP14, CEP83/NPHP18*), le complexe IFT-A (*TTC21B/IFT139/NPHP12, WDR19/IFT144/NPHP13, IFT140*) et le complexe IFT-B (*IFT172/NPHP17, TRAF3IP1/IFT54*). A noter qu'*IFT54* et *IFT140* sont les seuls gènes à ne pas posséder d'alias *NPHP* car ils ont été identifiés dans des formes syndromiques. Certaines protéines *NPHP* localisées au niveau de l'axonème sont impliquées dans la signalisation ciliaire, comme *GLIS2/NPHP7* dans la voie Hh (Attanasio et al., 2007) ou *DCDC2/NPHP19* dans la voie Wnt (Schueler et al., 2015).

La protéine *ADAMTS9/NPHP21* est une métalloprotéase, localisée à proximité du corps basal et impliquée dans le trafic des vésicules vers le cil primaire pendant la ciliogenèse (Nandadasa et al., 2019). Pour terminer, les protéines *ZNF423/NPHP14* et *MAPKBP1/NPHP20* n'ont pas de localisation ciliaire démontrée. A noter que *MAPKBP1* est observée aux centrioles pendant la mitose, mais pas dans les cellules quiescentes (Macia et al., 2017). Ces protéines sont impliquées respectivement dans la transcription de gènes ciliaires et la signalisation Hh (Hong et Hamilton, 2016), et dans plusieurs voies de signalisation dont la voie JNK (Koyano et al., 1999). Ces deux protéines, ainsi que d'autres comme *CEP290/NPHP6, RPGRIP1L/NPHP8* ou *SDCCAG8/NPHP10*, sont impliquées dans la réponse aux dommages à l'ADN (Chaki et al., 2012; Choi et al., 2013; Airik et al., 2014; Slaats et al., 2015; Macia et al., 2017), soulignant l'importance de cette voie de signalisation, et le contrôle du cycle cellulaire qui en résulte, dans la NPH.

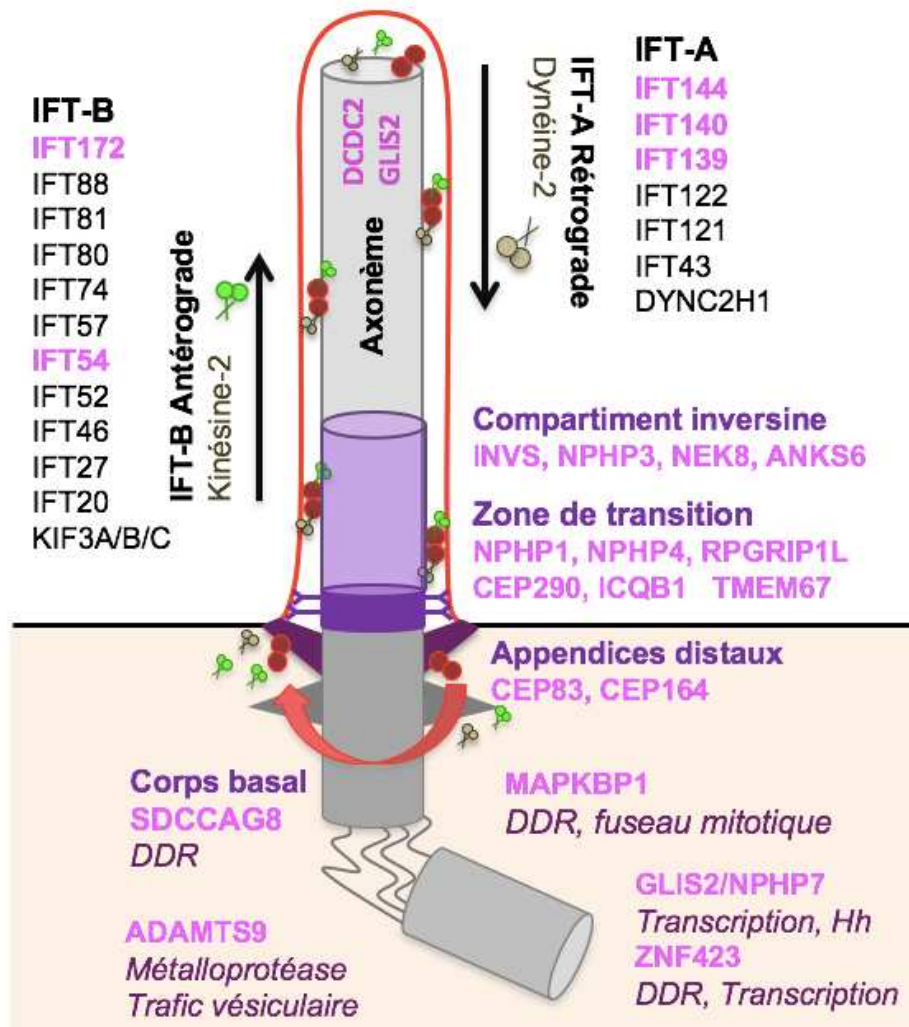


Figure 9 : Localisation des protéines NPHP dans les différents compartiments ciliaires.

Les protéines NPHP officielles sont indiquées en rose. Aucune localisation ciliaire n'a été montrée pour ZNF423 et MAPKBP1. Adapté de Stokman et al., 2021.

Des variations bi-alléliques dans ces vingt-trois gènes ont été identifiées dans 25% à 50% des cas de NPH en fonction des cohortes (Otto et al., 2011; Halbritter et al., 2013b; cohorte Necker). L'autre partie des patients ne possède pas de diagnostic génétique. *NPHP1* est le gène le plus fréquemment muté, chez environ 50% des patients diagnostiqués (**Figure 10**). Des variations pathogènes dans d'autres gènes de ciliopathies, ne faisant pas partie de la liste officielle des gènes *NPHP*, sont associées au développement de maladies rénales de type néphropathie tubulo-interstitielle plus ou moins kystique, similaires à la NPH. On peut notamment citer *AHI1* (Utsch et al., 2006) ou *XPNEP3* (O'Toole et al., 2010).

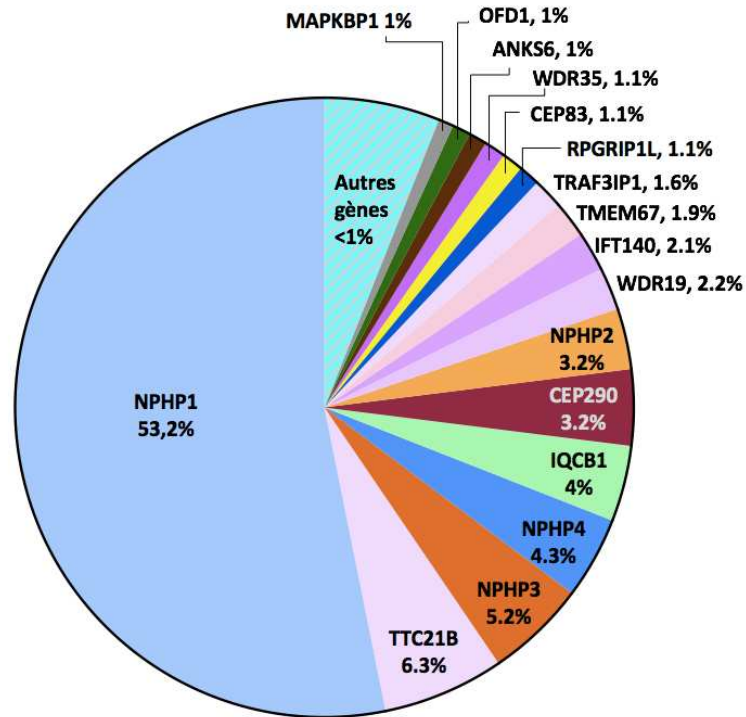


Figure 10 : Proportion des gènes mutés dans la NPH.

Figure réalisée à partir des données de 601 patients de la cohorte de l'hôpital Necker à Paris (manuscrit en préparation).

4) Atteintes extra-rénales associées à la NPH

En accord avec le rôle connu du cil primaire, la NPH est associée à des symptômes extra-rénaux dans 10 à 15% des cas, avec un risque variable selon le gène *NPHP* muté (Wolf, 2015). Une liste exhaustive des atteintes extra-rénales associées à la NPH est disponible dans l'**Annexe 2**.

Rétinite pigmentaire (syndrome de Senior-Løken). L'association de la NPH à une dégénérescence rétinienne, également appelée rétinite pigmentaire, est appelée syndrome de Senior-Løken (Senior et al., 1961; Levy et Feingold, 2000). Les formes précoces de dégénérescence rétinienne conduisent à une cécité rapide semblable à l'Amaurose congénitale de Leber, tandis que les formes tardives résultent en une cécité nocturne et une perte progressive de la vision. La rétinite pigmentaire est observée dans moins de 10% des patients *NPHP1* alors qu'elle est observée dans 100% des patients *IQCB1/NPHP5* et *CEP290/NPHP6* (Braun et Hildebrandt, 2017).

Apraxie oculomotrice. L'apraxie oculomotrice résulte en une incapacité pour les patients à effectuer des mouvements oculaires horizontaux. Cette maladie peut dans de rares cas être associée à une NPH causée par des variants dans les gènes *NPHP1* et *NPHP4* (Betz et al., 2000; Hoefele et al., 2005). Elle est également associée au syndrome de Joubert (JBTS).

Ataxie cérébelleuse (JBTS). Le JBTS est une maladie neurologique autosomique récessive, caractérisée par une hypoplasie du cervelet (« signe de la molaire » à l'IRM). Le JBTS associe une ataxie cérébelleuse (manque de coordination des mouvements musculaires), une apraxie oculomotrice, une hypotonie, un retard de croissance et une respiration anormale (Parisi et al., 2007). Il peut également être accompagné d'une NPH, d'une dégénérescence rétinienne, d'une polydactylie ou d'une fibrose hépatique. Des variants dans les gènes *NPHP1*, *CEP290/NPHP6*, *RPGRIP1L/NPHP8*, *TMEM67/NPHP11* et *AHI1* peuvent conduire à une NPH associée au JBTS (Parisi et al., 2004, 2006; Valente et al., 2006; Delous et al., 2007; Otto et al., 2009).

Situs inversus. Ce défaut de latéralité des organes peut être associé à une NPH dans le cadre de variants dans les gènes codant les protéines du compartiment inversine, à savoir *INVS/NPHP2*, *NPHP3*, *NEK8/NPHP9* et *ANSK6/NPHP16* (Otto et al., 2003; Bergmann et al., 2008; Frank et al., 2013; Hoff et al., 2013).

Fibrose hépatique. Les atteintes hépatiques associées à la NPH sont caractérisées par une hépatomégalie, une fibrose et une prolifération des canalicules biliaires (Braun et Hildebrandt, 2017). Les atteintes hépatiques peuvent être observées dans plusieurs syndromes, dont le JBTS et le MKS. Une atteinte hépatique est souvent associée à des variants dans les gènes *NPHP3* (Olbrich et al., 2003; Halbritter et al., 2013a; König et al., 2017) et *TMEM67/NPHP11* (Otto et al., 2009; Chaki et al., 2011; König et al., 2017).

Atteinte squelettique. L'association d'une NPH et de défauts squelettiques est principalement observée dans les syndromes de Jeune (cage thoracique dysplasique et autres anomalies squelettiques, maladie rénale chronique), de Mainzer-Saldino (épiphyses des phalanges en cônes, dégénérescence rétinienne, maladie rénale chronique), et de Sensenbrenner (anomalies squelettiques et ectodermiques nombreuses, maladie rénale chronique, fibrose hépatique, dégénérescence rétinienne ; Handa et al., 2020). Les défauts du squelette résultent de variants dans les gènes codants pour les protéines IFTs,

notamment *TTC21B/IFT139/NPHP12*, *IFT140*, *WDR19/IFT144/NPHP13* et *IFT172/NPHP17* (Bredrup et al., 2011; Perrault et al., 2012; Halbritter et al., 2013a).

Autres formes syndromiques. Les gènes *NPHP* peuvent également être responsables d'autres ciliopathies syndromiques comportant une atteinte rénale, bien que celle-ci diffère de la NPH classique. Des variants dans les gènes *NPHP6/CEP290*, *SDCCAG8/NPHP10* et *IFT172/NPHP17* sont retrouvés dans des patients atteints du syndrome de Bardet-Biedl (BBS ; Leitch et al., 2008; Schaefer et al., 2011, 2016). Les symptômes classiques de ce syndrome sont une dégénérescence rétinienne, une polydactylie et une obésité, pouvant être associés à une déficience mentale, une insuffisance rénale et de l'hypogonadisme (Priya et al., 2016). Une partie des gènes causaux du BBS codent pour des protéines du BBSome. Le MKS est la forme la plus sévère de ciliopathie. Il mène à une mort embryonnaire ou périnatale et résulte en des malformations du système nerveux central, une maladie rénale polykystique dysplasique, une fibrose hépatique, des malformations squelettiques, etc. (Parelkar et al., 2013). Des variants causaux dans les gènes *NPHP3*, *CEP290/NPHP6*, *RPGRIP1L/NPHP8* et *TMEM67/NPHP11* ont été identifiés dans des patients MKS (Smith et al., 2006; Delous et al., 2007; Bergmann et al., 2008; Frank et al., 2008). Ce syndrome est également causé par des variants dans les gènes du module MKS de la TZ.

5) Corrélation génotype-phénotype

La NPH est donc une maladie rénale avec une large hétérogénéité génétique et phénotypique. L'hétérogénéité phénotypique s'observe au niveau de la NPH elle-même, avec les différentes formes (NPHi, NPHj et NPHa) et âges d'IRT, et au niveau des atteintes extra-rénales.

Comme détaillé dans la section précédente, certains gènes sont préférentiellement associés à une/des **atteinte(s) extra-rénale(s)**. Les gènes codants pour des composants des IFTs sont souvent associés à des défauts squelettiques, tandis que le compartiment inversine est associé à des défauts de latéralité. *NPHP1* et *NPHP4* sont préférentiellement associés à des formes isolées de NPH (König et al., 2017).

La **pénétrance du phénotype de NPH** est variable en fonction des gènes. Ainsi, des variants dans le gène *NPHP1* résulteront toujours en une NPH, tandis que des variants dans *CEP290/NPHP6* peuvent être à la fois à l'origine d'une Amaurose congénitale de Leber sans

atteinte rénale, d'un JBTS avec une NPHj, ou d'un MKS avec une maladie rénale polykystique dysplasique (Coppieters et al., 2010). Certains gènes comme *NPHP4* ou *GLIS2/NPHP7* sont toujours à l'origine d'une NPHj, tandis que *NPHP3* peut donner une NPHi, une NPHj ou une NPHa (Olbrich et al., 2003; Tory et al., 2009; Stokman et al., 2021). Les variants dans les gènes des protéines du compartiment inversine sont préférentiellement associés à une NPHi (Stokman et al., 2021).

Pour certains gènes, la **nature de la variation génétique** est directement associée à l'âge d'IRT. Ainsi, les variants résultants en une protéine tronquée ou une perte de fonction sont associés à une IRT plus précoce que les variants faux-sens pour les gènes *NPHP3*, *NPHP4* et *TMEM67/NPHP11* (Iannicelli et al., 2010; König et al., 2022). Pour *Nphp3*, cette corrélation est aussi observée dans les modèles murins : les mutations faux-sens résultent en un phénotype rénal kystique à progression lente (les souris *pcy*), tandis que les mutations tronquantes sont à l'origine de formes sévères type MKS (Bergmann et al., 2008). En revanche, une délétion homozygote du gène *NPHP1* peut mener à une NPHj ou NPHa (Bollée et al., 2006; Snoek et al., 2018), et à une NPH isolée ou une forme syndromique (Braun et Hildebrandt, 2017). La corrélation génotype-phénotype en fonction du variant est donc dépendante du gène. De manière intéressante, des fratries (incluant ou non des jumeaux) présentant une délétion homozygote de *NPHP1* ont un âge d'IRT différent, suggérant le rôle de facteurs génétiques plus qu'environnementaux dans la variabilité du phénotype (Hoefele et al., 2011; Oki et al., 2022).

Cette variabilité peut être expliquée par la présence de **gènes modificateurs**. Il s'agit de variants additionnels interagissant génétiquement avec les variants casaux et modulant le phénotype. Ainsi, un variant supplémentaire dans le gène *AHI1* a été associé à des lésions neurologiques plus sévères dans les patients avec une délétion homozygote de *NPHP1* (Tory et al., 2007). Cette relation épistatique est aussi observée chez la souris, où une mutation dans *AHI1* aggrave la dégénérescence rétinienne des souris *Nphp1^{gt}* (Louie et al., 2010). Des variants additionnels dans *NPHP1* contribuent à l'aggravation du phénotype du BBS, à la fois dans un modèle de poisson-zèbre et chez les patients (Lindstrand et al., 2014). Certains variants peuvent être protecteurs, comme un variant hétérozygote de *PKD1* trouvé chez un patient porteur d'une délétion homozygote *NPHP1* avec une IRT tardive (Watanabe et al., 2019). Enfin, des études montrent la présence de plusieurs variants délétères dans des gènes *NPHP* chez un même patient, suggérant que la NPH n'est peut-être pas toujours une maladie monogénique (Hoefele et al., 2007; Penchev et al., 2017). Les variations

phénotypiques peuvent aussi être associées à des **facteurs environnementaux**. Par exemple, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, utilisés dans le traitement de l'hypertension artérielle, sont associés à un âge plus jeune d'IRT dans des patients *NPHP1* (König et al., 2022).

III. Les modèles d'étude de la NPH

1) Les modèles *in vitro*

De très nombreux modèles d'études *in vitro* existent pour étudier les mécanismes physiopathologiques de la NPH. Des cellules épithéliales rénales de lignées commerciales peuvent être invalidées pour les gènes *Nphp* via l'utilisation de siRNA, de shRNA ou de la technique de CRISPR-Cas9. Les lignées les plus couramment utilisées sont les cellules MDCK et mIMCD3. L'inactivation de gènes *Nphp* entraîne de nombreux phénotypes, comme des défauts de ciliogenèse, de longueur des cils, de composition ciliaire, d'établissement des jonctions cellulaires et de formation de structures 3D (Delous et al., 2009; Sang et al., 2011; Ghosh et al., 2012; Bizet et al., 2015). Il est également possible de récupérer du matériel cellulaire directement des patients, notamment des fibroblastes à partir d'une biopsie de peau ou des cellules épithéliales rénales dans les urines (URECs). Ces dernières sont particulièrement intéressantes : leur recueil est non invasif, permet de travailler sur des cellules rénales et d'étudier l'impact fonctionnel de variants candidats (Ajzenberg et al., 2015; Molinari et al., 2020; Ziegler et al., 2022).

Les organoïdes rénaux (OR) représentent un autre modèle *in vitro* de plus en plus utilisé. Ils sont établis à partir des cellules souches pluripotentes induites (iPSCs), provenant de cellules somatiques comme les cellules sanguines ou les URECs. Après induction de la différenciation, les iPSCs peuvent générer une structure rénale organisée s'apparentant au rein fœtal, avec des cellules glomérulaires et tubulaires proximales et distales (Takasato et al., 2016; Yousef Yengej et al., 2020). Les limites principales à l'utilisation des OR sont leur manque de reproductibilité et l'absence de maturation complète (Nishinakamura, 2019; Yousef Yengej et al., 2020). De nouveaux protocoles permettent cependant de vasculariser les OR, en les soumettant au flux ou en les greffant sur des reins de souris (Homan et al., 2019; Low et al., 2019; Ryan et al., 2021). Alors que les premiers protocoles ne permettaient d'obtenir que des cellules tubulaires proximales et distales, il est maintenant possible de générer des cellules du CD (Uchimura et al., 2020). L'utilisation des OR permet d'étudier le

développement rénal et de modéliser des pathologies. Ainsi, une étude montre que le cil primaire est requis pour la signalisation Hh et la différenciation des OR. Son absence diminue drastiquement le nombre d'organoïdes, et ceux restants développent des kystes (Cruz et al., 2022). Ce résultat est en accord avec le développement d'une PKD dans les souris *Kif3a* (Lin et al., 2003). Un criblage CRISPR-Cas9 réalisé dans les OR a permis de mettre en évidence des gènes impliqués dans le développement du rein et les ciliopathies rénales (Ungricht et al., 2022). De plus, les iPSCs n'exprimant pas *PKD1*, *PKD2* ou *PKHD1* génèrent des OR kystiques spontanément ou après stimulation de la voie AMPc, comme observé l'ADPKD et l'ARPKD (Freedman et al., 2015; Cruz et al., 2017; Low et al., 2019; Kuraoka et al., 2020). Les cellules tubulaires issues des OR *IFT140*, un membre de l'IFT-B, possèdent des cils plus courts et ont un défaut de polarité (Forbes et al., 2018). Enfin, les OR permettent de modéliser la fibrose rénale. Une stimulation avec 11β reproduit les changements mitochondriaux observés dans les maladies rénales chroniques et augmente le dépôt de matrice extracellulaire (Lemos et al., 2018). Sous réserve de présenter des phénotypes robustes, les OR mutants pourront être utilisés pour tester des molécules pharmacologiques dans un système plus complexe que les cellules 2D. Parce qu'ils peuvent être générés directement à partir des cellules somatiques des patients, ils permettent d'envisager une médecine personnalisée. Ces utilisations sont pour le moment limitées dans la NPH puisqu'aucun modèle d'OR avec un phénotype robuste n'a encore été publié.

2) Les modèles chez le poisson-zèbre (ZF)

Le poisson-zèbre (ZF) *Danio rerio* est un organisme modèle utilisé dans de nombreux domaines de recherche dont celui des ciliopathies (Pickart et Klee, 2014; Song et al., 2016). Les études sont majoritairement réalisées sur les stades larvaires, entre 24 et 72h après fertilisation. L'utilisation de ce modèle est simple, économique et rapide. La transparence des larves permet de réaliser de l'imagerie *in vivo*. De plus, les études fonctionnelles et le criblage de molécules thérapeutiques peuvent se faire facilement sur de larges cohortes (Gehrig et al., 2018). L'injection de morpholinos (MO) dans les embryons permet d'étudier l'impact de l'expression des gènes sur les phénotypes ciliaires et rénaux. On observe dans la dizaine de modèles MO *nphp* la présence de kystes dans la partie proximale du pronéphros (rein primitif), et une courbure de l'axe du corps (Elmonem et al., 2018). Ces phénotypes sont typiques des ciliopathies et peuvent être associés à d'autres défauts développementaux. La présence de phénotypes facilement identifiables chez les larves est un avantage certain pour la validation de gènes candidats (Chaki et al., 2012; Halbritter et

al., 2013a), pour vérifier la pathogénicité de certains variants en réinjectant l'ARNm du gène WT ou muté dans les embryons traités aux MO (Bizet et al., 2015; Schueler et al., 2015), et pour le criblage de molécules thérapeutiques (Cao et al., 2009). Les technologies TALEN et CRISPR-Cas9 permettent de générer des modèles de ZF adulte. Ils sont cependant peu nombreux. Cela est majoritairement dû à une absence de phénotype chez l'adulte ou à des phénotypes larvaires trop dommageables pour le développement. L'unique modèle de NPH chez le ZF adulte a été décrit récemment. Il s'agit des ZF *tmem67/nphp11* qui présentent des défauts ciliaires et des kystes rénaux au niveau des tubules du mésonéphros (Zhu et al., 2021).

3) Les modèles murins

a) Modèles murins orthologues

La souris *Mus musculus* est l'animal le plus utilisé pour modéliser les pathologies humaines et tester des molécules thérapeutiques, notamment dans le cadre des ciliopathies (Norris et Grimes, 2012; Rydell-Törmänen et Johnson, 2019). Bien qu'il existe une grande homologie génétique entre l'Homme et la souris, l'effet de certains variants délétères humains n'est pas toujours transposable dans le modèle murin. Les souris *Nphp1* (Jiang et al., 2008; Louie et al., 2010), *Nphp4* (Won et al., 2011), *Iqcb1/Nphp5* (Ronquillo et al., 2016), *Mapkbp1/Nphp20* (Macia et al., 2017) et certains modèles *Cep290/Nphp6* (Chang et al., 2006) n'ont pas de fonction rénale altérée et ne développent pas de lésions rénales ni de fibrose. Tous ces modèles à l'exception des souris *Mapkbp1/Nphp20* développent pourtant une rétinopathie. Seules les souris *Glis2/Nphp7* modélisent la NPHj, avec une polyurie, une augmentation de la créatinine plasmatique, des reins plus petits associés à de la fibrose, de l'inflammation, un épaississement des membranes basales et des dilatations tubulaires (Attanasio et al., 2007; Kim et al., 2008c). *GLIS2* est néanmoins rarement muté dans la NPH, seules deux familles ont été identifiées à l'échelle mondiale (Attanasio et al., 2007; Halbritter et al., 2013b).

Parallèlement, les mutations dans les gènes codant les protéines du compartiment inversine modélisent correctement la NPHi. Ainsi, les souris *Invs/Nphp2* (Phillips et al., 2004), *pcy/Nphp3* (Takahashi et al., 1991; Olbrich et al., 2003), *jck/Nek8/Nphp9* (Atala et al., 1993; Liu et al., 2002; Manning et al., 2013) et *Anks6/Nphp16* (Bailey et al., 2015) développent des reins kystiques, avec une vitesse de progression du phénotype variable. Ces modèles présentent plus de ressemblances avec l'ADPKD que la NPHj. Tous les autres modèles murins

de NPH disponibles développent un phénotype kystique : les souris *Rrprip1/Nphp8* (Delous et al., 2007), *Sdccag8/Nphp10* (Airik et al., 2014; Ren et al., 2022), *Tmem67/Nphp11* (Cook et al., 2009), *Ttc21b/Nphp12* (Tran et al., 2008, 2014) et *Cep164/Nphp15* (Airik et al., 2019). Chez l'Homme, des variants dans ces gènes peuvent causer une NPH infantile, juvénile ou adulte, excepté pour *CEP164* qui n'est retrouvé que dans les formes juvéniles.

Bien que très utilisé, le modèle murin peine donc à reproduire correctement les caractéristiques de la NPHj. Le fond génétique des souris peut impacter la sévérité du phénotype et notamment la fibrose (Ma et Fogo, 2003; Walkin et al., 2013; Ramsbottom et al., 2015). Le type de mutation (perte de fonction, faux-sens) diffère fréquemment entre les patients et les modèles murins. Les modèles KO sont souvent privilégiés bien qu'ils mènent parfois à une létalité embryonnaire non observée chez l'Homme, excepté pour le MKS (Stottmann et al., 2009; Berbari et al., 2011). Des modèles KO conditionnels ou spécifiques du rein sont alors créés pour palier à ce problème (Jacobs et al., 2016; Gupta et al., 2018).

b) Modèles murins non orthologues

Il existe cependant des modèles murins non orthologues mimant la NPHj. La délétion de *Lkb1* dans les cellules épithéliales rénales des souris résulte en un défaut de concentration des urines et des reins plus petits, associés à de la fibrose, de l'inflammation, un épaissement de la membrane basale des tubules et des kystes à la jonction cortico-glomérulaire (Viau et al., 2018). *LKB1* est une kinase ciliaire connue pour réguler la sécrétion dépendante du cil de *CCL2*, une cytokine pro-inflammatoire augmentée dans les maladies rénales chroniques (Viau et al., 2018). Les souris *Lkb1* exhibent le même panel de cytokines pro-inflammatoires que les URECs *NPHP1* (Quatredeniens et al., 2022). Bien que *LKB1* ne soit pas un gène causal dans la NPH chez l'Homme, cette protéine interagit avec plusieurs protéines NPHP dont *NPHP1* (Viau et al., 2018). De manière similaire, un des modèles murins *Ahi1* développe un phénotype de NPHj (Lancaster et al., 2009). *AHI1* n'est pas classifiée comme une protéine NPHP mais elle interagit avec *NPHP1* et est mutée dans le JBTS (Parisi et al., 2007). Enfin, les modèles murins *Prkar1a*, codant une sous-unité régulatrice de la PKA, et *Aatf*, codant un régulateur de p53 durant la réponse aux dommages à l'ADN, développent également un phénotype de NPHj (Ye et al., 2017; Jain et al., 2019). Ces résultats montrent l'importance de la voie AMPc/PKA, qui ici conduit à un phénotype fibrotique et non kystique comme dans l'ADPKD, et de la réponse aux dommages à l'ADN dans le maintien de l'intégrité rénale. Bien que non orthologues, ces modèles permettent d'étudier les mécanismes

pathophysiologiques de la NPHj et d'apporter une alternative pour la recherche de pistes thérapeutiques.

4) Autres modèles mammifères

Bien que les rongeurs soient les modèles mammifères les plus fréquemment utilisés dans le domaine de la recherche, des études chez le chat et le chien ont permis l'identification de variants dans les gènes *NPHP*. Une dégénérescence rétinienne est observée dans les chats domestiques abyssins (*Felis catus*) *Cep290/Nphp6* et les chats sauvages africains (*Felis nigripes*) *Iqcb1/Nphp5* (Menotti-Raymond et al., 2007; Oh et al., 2017). De la même manière, une dégénérescence rétinienne est associée à des variants dans les gènes *Nphp4* et *Iqcb1/Nphp5* chez le chien (*Canis lupus familiaris*), dans les teckels à poil dur et les races de type terrier respectivement (Wiik et al., 2008; Goldstein et al., 2013). Aucun de ces modèles ne développe de lésions rénales, illustrant une nouvelle fois la différence entre l'Homme et les modèles animaux, et la complexité de modéliser la NPHj.

IV. Les pistes thérapeutiques

Il n'existe actuellement pas de traitement curatif pour la NPH. Les traitements existants visent à soigner les effets secondaires de la destruction progressive du rein, comme l'anémie, l'hypertension artérielle ou les retards de croissance (Braun et Hildebrandt, 2017). Une fois le stade d'IRT atteint, les seules solutions sont la dialyse et la transplantation rénale (Hamiwka et al., 2008; Braun et Hildebrandt, 2017). Ainsi, des études ont eu pour objectif d'identifier des molécules thérapeutiques pour la NPH et plus globalement les ciliopathies rénales (Stokman et al., 2021).

La seule molécule utilisée en clinique dans le traitement des ciliopathies rénales est le Tolvaptan. Il a été identifié dans les souris *pcy* modélisant la NPHi (Gattone et al., 2003). Le Tolvaptan est un antagoniste spécifique du récepteur à l'arginine vasopressine (AVP), aujourd'hui utilisé dans le traitement de l'ADPKD (Torres et al., 2012, 2017). Il n'est pas prescrit dans le traitement de la NPHi à cause de la trop courte fenêtre thérapeutique. Le récepteur 2 à l'AVP (V2R) joue un rôle clé dans l'adressage de l'aquaporine-2 (AQP2) à la membrane apicale des cellules du CD, via la production d'AMPc, et promeut la réabsorption de l'eau (Juul et al., 2014). Le Tolvaptan ralentit le déclin de la fonction rénale en inhibant la voie AMPc. Comme décrit précédemment, cette voie est suractivée dans l'ADPKD et est

responsable de la kystogénèse via l'augmentation de la prolifération cellulaire (Sussman et al., 2020). Le Tolvaptan diminue également le grossissement des kystes via l'augmentation d'excrétion d'eau (Torres et al., 2012). Cette molécule induit des effets secondaires importants comme une polyurie, une polydipsie, une xérostomie (sécheresse buccale) et des lésions hépatiques (Torres et al., 2012; Gansevoort et al., 2016).

Concernant la NPHj, la recherche de molécules thérapeutiques est limitée par l'absence de modèle murin orthologue récapitulant correctement la forme juvénile. La plupart des études sont réalisées dans des modèles d'ADPKD ou de NPHi. Ces modèles ne présentent pas un phénotype rénal fibrotique mais kystique (Stokman et al., 2021). Les études des mécanismes pathophysiologiques de la NPHj permettent cependant l'émergence de quelques pistes thérapeutiques.

La voie de réponse aux dommages à l'ADN est impactée dans plusieurs modèles de NPH (Chaki et al., 2012; Choi et al., 2013; Airik et al., 2014; Slaats et al., 2015; Macia et al., 2017). Notamment, une étude sur les cellules primaires rénales des souris *Cep290* montre une augmentation des cassures double brins, du stress réplicatif et de l'expression des CDKs *in vitro*. De manière intéressante, l'utilisation d'inhibiteurs des CDKs a permis d'améliorer ces phénotypes et d'augmenter la ciliogénèse (Slaats et al., 2015). De plus, l'administration de la Roscovitine, un inhibiteur des CDKs, dans les modèles murins de NPHi *jck/Nek8/Nphp9* et *Cep164/Nphp14* a permis d'inhiber la kystogénèse via un arrêt du cycle cellulaire et une inhibition de l'apoptose (Bukanov et al., 2006; Airik et al., 2019). Enfin, une autre étude montre que l'inhibition des CDKs restaure le phénotype ciliaire et la différenciation tubulaire dans les souris *jck/Nek8/Nphp9* (Husson et al., 2016). Cibler la réponse aux dommages à l'ADN et le cycle cellulaire pourrait donc être une option thérapeutique envisageable dans le traitement de la NPHi et NPHj, même si aucune étude n'a été réalisée *in vivo* dans un modèle de NPHj.

Le rôle de la sénescence a été récemment mis à jour dans la NPH grâce au modèle murin *Glis2/Nphp7* (Jin et al., 2020). De manière cohérente, l'expression de *p21^{Cip1}*, un régulateur du cycle cellulaire exprimé dans les cellules sénescents, est augmentée dans les souris *Nphp4* (Billot et al., 2018). Le traitement des souris *Glis2/Nphp7* avec un agent sénolytique permet de diminuer l'inflammation et la fibrose interstitielle tout en préservant la fonction rénale (Jin et al., 2020). L'augmentation de la sénescence n'a cependant pas encore été démontrée dans les biopsies de patients. Elle serait cohérente avec l'inflammation et la

fibrose observées. Les cellules sénescentes sécrètent en effet des molécules pro-inflammatoires et pro-fibrotiques et participent à la progression des maladies rénales chroniques (Acosta et al., 2013; Birch et Gil, 2020; Xu et al., 2020).

Tout comme dans les modèles d'ADPKD, l'inhibition de l'AMPc montre des effets bénéfiques sur les kystes, *in vitro* et *in vivo*, dans des modèles de NPHi (Chen et al., 2011; Ghosh et al., 2012). Cet effet est cohérent avec la suractivation de la voie de l'AMPc dans les PKD. Elle est cependant diminuée dans un modèle murin de fibrose rénale (Ding et al., 2018). De manière cohérente, les activateurs de la voie AMPc sont connus pour diminuer la fibrose rénale (Schinner et al., 2015). Au vu du profil fibrotique des reins dans la NPHj, il pourrait donc être intéressant de tester des activateurs de la voie AMPc.

Un récent criblage de molécules thérapeutiques a mis en avant la capacité de l'eupatiline à restaurer la ciliogenèse défectueuse des cellules RPE1 *CEP290* (Kim et al., 2018). L'eupatiline inhibe la liaison de NPHP5 à la calmoduline et le recrutement de NPHP5 à la TZ, même en l'absence de son partenaire *CEP290*. De manière intéressante, l'eupatiline accroît la sensibilité à la lumière des souris *Cep290* et le transport de l'opsine dans les photorécepteurs (Kim et al., 2018). Cette molécule n'a cependant pas été testée sur le rein.

Des molécules ciblant de nombreuses autres voies de signalisation, comme les voies Hh, Hippo, Wnt ou encore la dynamique du cytosquelette, ont été étudiées *in vitro* et dans des modèles rongeurs de NPHi. Il pourrait être intéressant de les tester dans des modèles de NPHj (Stokman et al., 2021).

Il existe également des approches génétiques, en plus de celles pharmacologiques évoquées précédemment. La thérapie génique consiste en l'apport de matériel génétique (ARNm, ADN) pour traiter des maladies. Elle a été utilisée avec succès dans le contexte des déficits immunitaires, du lymphome de Hodgkin, de la dégénérescence rétinienne et des maladies neuromusculaires (Cavazzana-Calvo et al., 2000; Jain et al., 2018; Rodrigues et al., 2018; Ali et al., 2021). La difficulté pour les différents vecteurs (lentivirus, adénovirus) d'accéder aux cellules rénales est cependant un frein à l'utilisation de la thérapie génique dans le rein (Davis et Park, 2019). Les oligonucléotides antisens (OAs) font partie des thérapies émergentes dans le cadre des maladies monogéniques comme les ciliopathies (Kim et Kim, 2019; Quemener et al., 2022). Ils sont utilisés pour inhiber l'expression d'un gène, corriger un événement d'épissage ou retirer un exon délétère. Les OAs peuvent passer

la barrière glomérulaire et être délivrés aux cellules rénales (Gökirmak et al., 2021). L'utilisation d'OAs a permis de restaurer l'expression de *CEP290/NPHP6*, la ciliogenèse et la composition ciliaire dans des cellules de patients. Les OAs ont également diminué la kystogenèse dans les reins des souris *Cep290* (Ramsbottom et al., 2018; Molinari et al., 2019). Ces résultats chez la souris sont prometteurs quant à son utilisation future pour le rein. Les OAs pourraient être utilisés pour d'autres variants, excepté les délétions homozygotes de *NPHP1*, ou pour corriger des voies de signalisation dérégulées dans la NPH, comme cela a été démontré dans les souris ADPKD (Saigusa et al., 2016). Les OAs ont déjà été testés chez l'Homme dans le cadre des ciliopathies rétiniennes. Ils améliorent la vision des patients *CEP290* présentant une Amaurose congénitale de Leber (Cideciyan et al., 2019).

Bien que des pistes émergent, la recherche de traitements pour la NPHj est encore un sujet d'actualité et aucune molécule candidate n'a encore été envisagée pour des essais cliniques. Cette recherche est pourtant d'une importance significative puisque la NPH est la première cause génétique d'IRT avant l'âge adulte. Elle nécessite cependant le développement de nouveaux modèles murins de NPHj. Actuellement, la NPH est majoritairement diagnostiquée à un stade très tardif de pré-IRT, rendant la fenêtre thérapeutique courte. La recherche de traitement doit donc se faire en parallèle de la recherche de biomarqueurs précoces et spécifiques de la maladie. De nouvelles pistes ont émergées récemment, comme l'étude des vésicules extracellulaires dans les urines (Stokman et al., 2019).

V. NPHP1

Parmi l'ensemble des gènes impliqués dans la NPH, *NPHP1*, codant pour la néphrocystine-1, est le gène le plus fréquemment muté. Il représente la moitié des patients atteints de NPH.

1) Découverte du gène et évènements mutationnels

NPHP1 a été le premier gène identifié parmi les vingt-trois gènes *NPHP* aujourd'hui connus. La région du chromosome 2q13 comportant *NPHP1* a été premièrement décrite en 1993 (Antignac et al., 1993), avant que le gène ne soit identifié par clonage positionnel en 1997 (Hildebrandt et al., 1997a; Saunier et al., 1997). Une délétion homozygote du gène, due à la présence de séquences répétées inversées de part et d'autre menant à des

réarrangements complexes, est retrouvée dans la majorité des patients *NPHP1* (Konrad et al., 1996; Saunier et al., 2000). Ce type de délétion est spécifique du locus *NPHP1* et n'est pas retrouvé pour les autres gènes *NPHP*. Il est à noter que des variants faux-sens et non-sens de *NPHP1* ont également été identifiés (Halbritter et al., 2013b; Schueler et al., 2016; cohorte Necker). Comme détaillé précédemment, la délétion homozygote du gène *NPHP1* illustre le manque de corrélation génotype-phénotype parfois observé dans la NPH. Ici, un même événement peut conduire à une NPHj ou NPHa (Bollée et al., 2006; Snoek et al., 2018), et à une NPH isolée ou une forme syndromique (Braun et Hildebrandt 2017).

2) Expression de *NPHP1*

NPHP1 est exprimé dans la majorité des tissus et des types cellulaires, notamment les cellules tubulaires rénales (Uhlén et al., 2015; Karlsson et al., 2021). Sur des coupes de rein humain, *NPHP1* est majoritairement observée dans les cellules du CD (Eley et al., 2008b). Chez la souris, des études de RNA-seq sur des segments rénaux micro-disséqués, ou des études de single cell RNA-seq, ont montré une expression moyenne de *Nphp1* dans tous les segments du néphron (Ransick et al., 2019; Chen et al., 2021a).

3) Localisation et fonction ciliaire

NPHP1 a été localisée pour la première fois au cil primaire en 2003 (Otto et al., 2003). Elle est localisée à la TZ, où elle interagit avec directement avec *NPHP4* et indirectement avec *RPGRIP1L* qui est responsable leur recrutement, formant le module *NPHP1-4-8* (Sang et al., 2011; Li et al., 2016). Les cellules MDCK *shNphp1* présentent un défaut de ciliogenèse et de la taille des cils (Delous et al., 2009), ce qui n'est en revanche pas le cas des cellules mIMCD3 *shNphp1* (Sang et al., 2011). L'analyse des reins d'un patient *NPHP1* montre également une diminution de la ciliogenèse et de la taille des cils (Ning et al., 2021). Alors que la quantité de *RPGRIP1L* n'est pas impactée par l'absence de *NPHP1*, *NPHP4* est augmentée dans le compartiment ciliaire, confirmant la perturbation de la TZ (Ning et al., 2021). De manière cohérente, on observe un défaut de composition ciliaire avec la diminution d'*INPP5E* dans le cil (Ning et al., 2021). *INPP5E* participe à la composition spécifique en phosphoinositides du compartiment ciliaire et à la transduction des voies de signalisation (Zhang et al., 2022). Enfin, la présence de *NPHP1* à la TZ est également nécessaire au bon développement et maintien des photorécepteurs (Fliegau et al., 2006; Datta et al., 2021).

En plus de NPHP4, NPHP1 interagit avec NPHP5, montrant la proximité entre les modules NPHP1-4-8 et NPHP5-6 à la TZ (Sang et al., 2011). NPHP1 interagit aussi avec des protéines du compartiment inversine, NPHP2 et NPHP3 (Otto et al., 2003; Olbrich et al., 2003). De plus, la protéine ANKS3 interagit à la fois avec NPHP1 et ANKS6 dans le compartiment inversine, et son absence résulte en un phénotype de ciliopathie chez le ZF (Yakulov et al., 2015). Le compartiment inversine est situé juste au-dessus de la TZ. Ces données suggèrent un ancrage du compartiment inversine à la TZ, possiblement via NPHP1. Enfin, NPHP1 interagit avec la kinase LKB1, connue pour réguler la sécrétion dépendante du cil de CCL2 dans les maladies rénales chroniques et la NPH (Viau et al., 2018; Quatredeniens et al., 2022).

4) Localisation et fonction non ciliaire

Historiquement, NPHP1 a tout d'abord été localisée aux jonctions cellulaires où elle forme un complexe avec NPHP4 qui y permet son recrutement (Donaldson et al., 2002; Mollet et al., 2005). De manière cohérente, NPHP1 interagit avec des protéines participant à la formation des jonctions cellulaires serrées et à la polarité apico-basale comme PALS1, PATJ et Par6 (Delous et al., 2009). Bien que la présence du complexe NPHP1-4 aux points d'adhésion focaux n'ait jamais été observée, ils interagissent avec des protéines impliquées dans la régulation des adhésions focales comme p130Cas (Donaldson et al., 2000), Pyk2 (Benzing et al., 2001) et ACK1 (Eley et al., 2008a). Enfin, NPHP1 interagit avec des protéines associées au cytosquelette d'actine comme la tensine (Benzing et al., 2001) et les filamines (Donaldson et al., 2002). Ainsi, l'absence de NPHP1 ou NPHP4 dans des cellules MDCK résulte en un retard de formation des jonctions cellulaires serrées, une perte de polarité et conduit à la formation de structures 3D désorganisées avec plusieurs lumières (Delous et al., 2009). Le défaut de formation des sphéroïdes est aussi observé dans les mIMCD3 (Sang et al., 2011).

Enfin, l'interaction de NPHP1 avec PC1 confère une résistance à l'apoptose aux cellules épithéliales rénales (Wodarczyk et al., 2010). De manière cohérente, une augmentation de l'apoptose est détectée dans les biopsies des patients NPHP1 (Wodarczyk et al., 2010). Il n'a pas été clairement établi si cette interaction tient place dans le cil primaire ou dans le cytoplasme, PC1 et NPHP1 pouvant être tous les deux aussi localisés aux jonctions.

5) Modèles animaux

Modèles chez *Caenorhabditis elegans*. Le nématode *C. elegans* est un organisme modèle largement utilisé, notamment dans l'étude des ciliopathies (Molinari et Sayer, 2020). Le rôle de NPHP1 dans l'assemblage de la TZ a premièrement été déterminé chez *C. elegans* (Williams et al., 2011; Li et al., 2016). Aucun phénotype n'est observé dans les nématodes *nphp-1* (Yee et al., 2015). Cependant, la délétion simultanée de *nphp-1* et *nphp-4* ou des gènes du complexe MKS a un effet synergique et perturbe la structure du cil (intégrité de la TZ, longueur du cil, ciliogenèse, positionnement du corps basal ; Jauregui et Barr, 2005; Yee et al., 2015; Li et al., 2016).

Modèles dans le ZF. Les modèles de ZF peuvent être générés avec des MO ou par édition du génome. Deux modèles de MO *nphp1* sont décrits dans la littérature. Dans le premier, on observe des kystes rénaux, une courbure du corps mais pas de malformation du cloaque, là où se rejoignent les deux pronéphros (Slanchev et al., 2011). Dans le deuxième modèle, on constate des défauts de gastrulation et une atrophie du pronéphros proximal (Lindstrand et al., 2014). Des ZF *nphp1* générés par CRISPR présentent un défaut d'espacement des cellules gliales dans la rétine (Charlton-Perkins et al., 2019). Plus récemment, un autre modèle *nphp1* créé par CRISPR développe des kystes rénaux et une malformation du cloaque (Kayser et al., 2022). La perte d'expression de *nphp1* résulte donc en des défauts de la rétine, du rein et de la courbure du corps chez le ZF. Les phénotypes sont variables en fonction des modèles. Le développement de ZF *nphp1* reste cependant complexe. Au sein du laboratoire, les mutants *nphp1* créés par TALEN n'ont pas développé de phénotype, et les MO publiés se sont avérés toxiques pour le développement des embryons (données non publiées).

Modèles murins. Plusieurs modèles murins ont été générés. Le premier, publié en 2008, a été créé par la délétion de l'exon 20 de *Nphp1* (Jiang et al., 2008). Les souris mâles *Nphp1^{del20}* sont stériles dû à un défaut de maturation des spermatozoïdes et développent une rétinopathie. Les premiers défauts dans les couches de photorécepteurs apparaissent vingt et un jours après la naissance, et la perte totale des photorécepteurs est observée à huit mois (Jiang et al., 2009). Le phénotype est moins sévère dans un autre modèle créé par l'insertion d'une cassette dans l'exon 4 de *Nphp1*. En effet, on observe une légère diminution du nombre de photorécepteurs dans la rétine des souris *Nphp1^{gt}* à partir de dix-huit jours, mais la rétinopathie ne progresse plus après un mois (Louie et al., 2010). Environ

70% des photorécepteurs sont encore présents à quatre mois (Datta et al., 2021). Aucun de ces modèles ne développe une NPH.

6) Approche thérapeutique

NPHP1 est le gène le plus fréquemment muté et est responsable des formes les plus fréquentes de NPH, les formes juvéniles et adolescentes/adultes. Malgré cela, aucune approche thérapeutique dans un contexte *NPHP1*, *in vitro* ou *in vivo*, n'a encore été envisagée. De plus, la thérapie génique dans le rein et l'utilisation des OAs pour corriger la délétion du locus *NPHP1* ne sont pas encore envisageables. Le laboratoire a donc effectué un crible d'une banque de molécules approuvées par la « Food and Drug Administration » (FDA) sur des lignées cellulaires invalidées pour *Nphp1*. Ce criblage a mis en lumière l'effet bénéfique d'un analogue de la prostaglandine E2 dans le sauvetage des phénotypes cellulaires associés à la perte *NPHP1*.

PARTIE 3 : LES PROSTAGLANDINES (PGs) ET LA PGE₂

I. Généralités

La découverte des prostaglandines (PGs) remonte aux années 1930, où une substance vasodilatatrice et stimulant la contraction musculaire est identifiée dans le liquide séminal (von Euler, 1936). Par la suite, d'autres études ont permis d'isoler les différents types de PGs, de comprendre leur structure, leur voie de biosynthèse ainsi que leurs rôles. Un prix Nobel de biologie et de médecine a été attribué en 1982 à B. Samuelsson, J. Vane et S. Bergström pour leurs travaux sur les PGs.

1) Biosynthèse des PGs

Les principales PGs sont la prostaglandine E₂ (PGE₂), D₂ (PGD₂) F₂ (PGF₂) et la prostacycline I₂ (PGI₂). Avec la thromboxane A₂ (TXA₂), elles font partie du groupe des prostanoïdes. La PGE₂ est la PG la plus abondante et la plus étudiée (Miller, 2006).

Les PGs proviennent de la voie de biosynthèse de l'acide arachidonique (**Figure 11**). Cet acide gras insaturé est libéré des phospholipides de la membrane plasmique par l'action de la phospholipase A₂ principalement. Il est ensuite métabolisé par les cyclooxygénases COX-1 et COX-2, codées par les gènes *PTGS1* et *PTGS2*, pour former le PGG₂ puis le PGH₂. Bien qu'ayant une structure proche, ces deux isoformes n'ont pas un rôle redondant dans la cellule (Yu et al., 2007). *PTGS1* est exprimé de manière ubiquitaire et assure la production basale de PGs, au contraire de *PTGS2* dont l'expression est augmentée suite à des stimuli inflammatoires ou prolifératifs (Kang et al., 2007; Ricciotti et FitzGerald, 2011; Hashemi Goradel et al., 2019). Des subtilités sont cependant à apporter à cette règle. Par exemple, *PTGS2* est constitutivement exprimé dans certains organes comme le rein, via des voies de régulation différentes de celles en réponse à un stimulus inflammatoire, et COX-1 peut également médier une réponse inflammatoire (Ricciotti et FitzGerald, 2011; Kirkby et al., 2016; Mitchell et Kirkby, 2019). Il existe un troisième isoforme, COX-3, qui est en réalité un variant d'épissage de COX-1 (Chandrasekharan et al., 2002).

Les différents prostanoïdes sont produits par la thromboxane synthase et les PGs synthases à partir du PGH₂ (**Figure 11**). La synthèse de la PGE₂ peut être réalisée par trois enzymes : les PGs microsomaux E synthases-1 et -2 (mPGES-1 et -2), codées respectivement

par les gènes *PTGES* et *PTGES2*, et la PG cytosolique E synthase (cPGES), codée par le gène *PTGES3*. *PTGES2* et *PTGES3* sont exprimés constitutivement tandis que l'expression de *PTGES* est induite. Elle est d'ailleurs corrélée à l'induction de COX-2 dans la réponse inflammatoire (Murakami et al., 2000). cPGES synthétise la PGE₂ à partir du PGH₂ préférentiellement produit par COX-1, mPGES-1 celui produit par COX-2 et mPGES-2 les deux (Smith et al., 2011). La production d'un type de PG donné dépend de l'expression des différentes synthases, variant en fonction du type cellulaire (Miller, 2006; Uhlén et al., 2015; Karlsson et al., 2021).

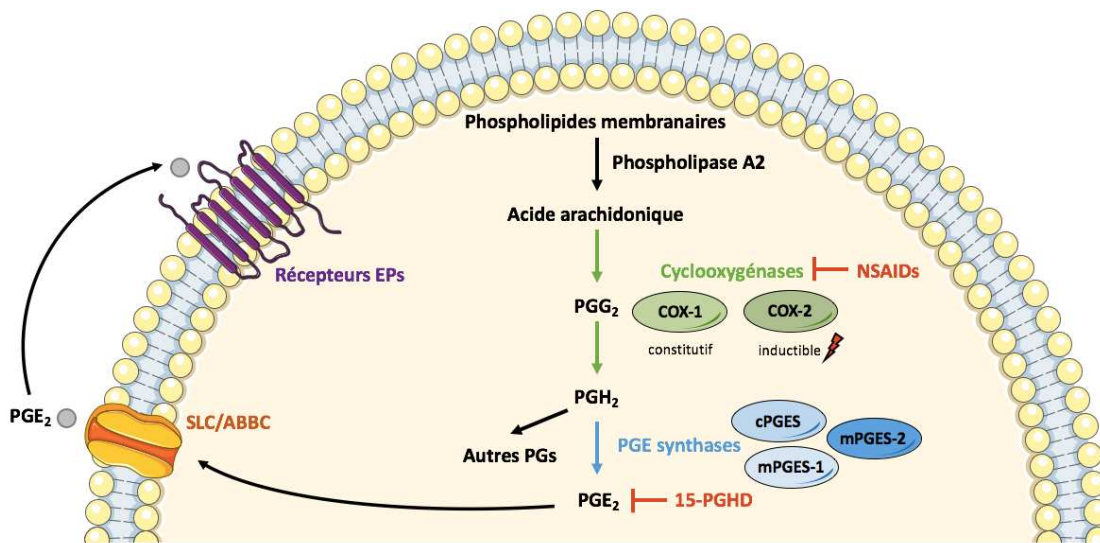


Figure 11 : Voie de synthèse de la PGE2.

Les phospholipides de la membrane plasmique sont utilisés par la phospholipase A2 pour produire l'acide arachidonique. COX-1 et COX-2 permettent ensuite sa conversion en PGG₂ puis PGH₂. Les enzymes prostaglandine (PG)-E synthase (PGES) permettent la production de la PGE₂. D'autres synthases synthétisent les différentes classes de PGs. L'enzyme 15-hydroxyprostaglandine déshydrogénase (15-PGDH) dégrade la PGE₂. La PGE₂ est exportée hors de la cellule par les transporteurs SLC et ABCC. Elle peut ainsi activer les récepteurs EPs de manière autocrine ou paracrine.

Plusieurs transporteurs permettent la sortie de la PGE₂ dans l'environnement extracellulaire. La majorité d'entre eux appartiennent à la superfamille des transporteurs SLC. Ils sont une vingtaine chez l'Homme et six chez la souris (Nakamura et al., 2018). Deux membres de la sous famille des transporteurs ABCC peuvent également avoir la PGE₂ comme substrat : les protéines ABCC2/MRP2 et ABCC4/MRP4 (Reid et al., 2003; de Waart et al., 2006). L'expression des différents transporteurs dépend des organes (Nakamura et al., 2018). Ces médiateurs lipidiques agissent ensuite de manière autocrine ou paracrine pour maintenir l'homéostasie cellulaire et tissulaire en se fixant sur leurs récepteurs.

2) Les récepteurs EPs

Toutes les PGs réalisent leur fonction biologique via la stimulation de GPCRs (Woodward et al., 2011). La PGE2 possède quatre récepteurs EP1, EP2, EP3 et EP4, codés par les gènes *PTGER1* à *PTGER4*. Les autres prostanoides peuvent également activer ces récepteurs, notamment PGD2 et PGI2, même si leur affinité est moindre par rapport à la PGE2 (Abramovitz et al., 2000). Les récepteurs EPs partagent peu de séquence d'homologie, et induisent des signalisations cellulaires distinctes voire opposées (**Figure 12** ; Woodward et al., 2011; Markovič et al., 2017).

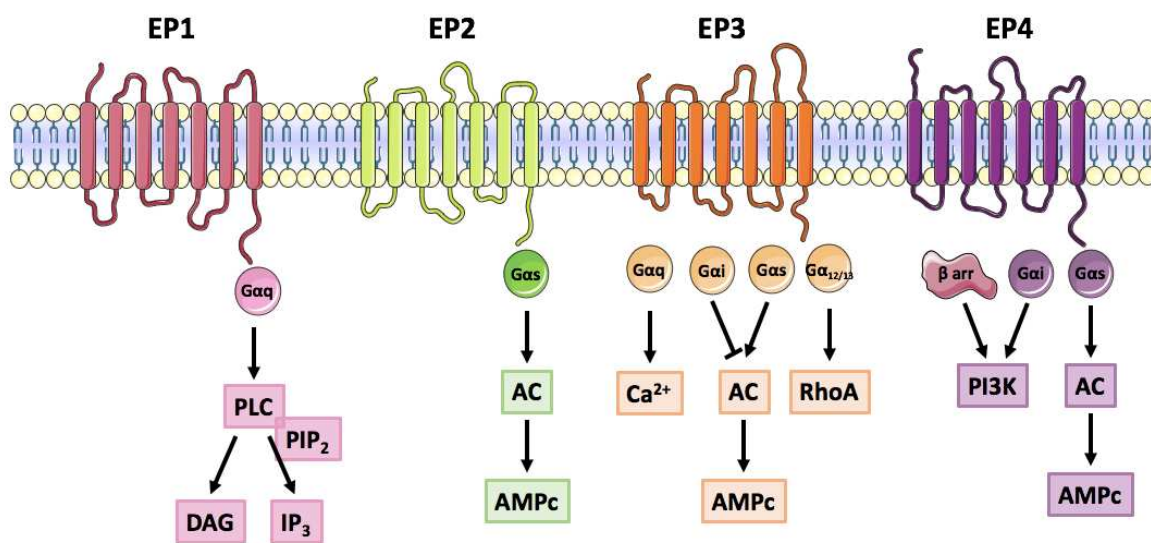


Figure 12 : Voies de signalisation principales des récepteurs EPs.

Le récepteur EP1 est couplé à une protéine Gαq qui augmente la quantité de Ca²⁺ et active la protéine kinase C via la production des messagers secondaires DAG et IP₃ par la phospholipase C (PLC). Le récepteur EP2 est couplé à une protéine Gαs qui active les adénylates cyclases (AC) pour produire de l'AMPc. Les différents isoformes d'EP3 sont couplés à toutes les familles de protéines Gα. Ce récepteur peut donc moduler la quantité d'AMPc via les protéines Gαs et Gαi, augmenter le Ca²⁺ via la protéine Gαq et activer RhoA via la protéine Gα_{12/13}. Le récepteur EP4 est couplé à une protéine Gαs. De plus, son couplage à une Gαi et son internalisation par les β-arrestines active une signalisation PI3K/ERK/AKT. Les sous-unités Gβ et Gγ ne sont pas représentées.

Le récepteur EP1 augmente la concentration intracellulaire de Ca²⁺ via son activité Gαq et l'activation de la phospholipase C (Woodward et al., 2011). Une étude mentionne également qu'EP1 peut être couplé à une Gαi et activer la voie PI3K/Akt (Ji et al., 2010).

Le récepteur EP3 est le plus complexe des EPs. Il existe trois isoformes chez la souris, qui diffèrent par leur couplage aux protéines G et leur dynamique intracellulaire (Negishi et al.,

1993, 1996; Hasegawa et al., 2000). De la même manière, on retrouve huit isoformes chez l'Homme (Kotani et al., 1995, 1997; Bilson et al., 2004). Ainsi, même si EP3 utilise majoritairement une signalisation $G\alpha_i$, il peut également augmenter l'AMPc et le Ca^{2+} intracellulaire via une activité $G\alpha_s$ et $G\alpha_q$ respectivement, et activer les Rho via une activité $G\alpha_{12/13}$ (Woodward et al., 2011).

EP2 et EP4 sont couplés à une $G\alpha_s$ et augmentent la production d'AMPc (Woodward et al., 2011; Konya et al., 2013). EP4 peut également être couplé à une $G\alpha_i$ et activer une signalisation PI3K/AKT ou PI3K/PKC (Fujino et Regan, 2006; Luschnig-Schratl et al., 2011; Yokoyama et al., 2013). L'orientation vers une voie de signalisation ou une autre dépend du ligand. La PGE₂, le ligand biologique d'EP4, active ainsi dix fois plus l'unité $G\alpha_s$ que $G\alpha_i$ (Leduc et al., 2009). D'autres paramètres différencient EP2 et EP4. Il est depuis longtemps établi qu'EP4 est internalisé par les β -arrestines et promeut une voie de signalisation s-Src/EGFR/PI3K/ERK/AKT (Desai et Ashby, 2001; Buchanan et al., 2006). Plus récemment, il a été montré que cela pouvait aussi être le cas pour EP2 (Chun et al., 2009; Yun et al., 2011; Chu et al., 2015). Malgré tout, la désensibilisation d'EP4 est beaucoup plus rapide que celle d'EP2 (Bastepe et Ashby, 1999; Desai et al., 2000; Penn et al., 2001). Cela conduit à une dynamique de production d'AMPc différente entre les deux récepteurs : l'augmentation est transitoire après une stimulation avec un agoniste spécifique d'EP4 tandis qu'elle dure dans le temps après utilisation d'un agoniste EP2 (Vleeshouwers et al., 2020). Cette rapide inactivation d'EP4 peut s'avérer problématique dans l'éventualité d'un traitement, et l'administration d'un agoniste d'EP4 dans un modèle murin de diabète insipide a pu montrer un effet bénéfique sur le long terme grâce à l'installation d'une micro-pompe (Li et al., 2009).

Cette signalisation cellulaire complexe permet à la PGE₂ de réguler de nombreux mécanismes physiologiques et pathologiques.

3) Rôles des PGs et de la PGE₂

Homéostasie tissulaire. Bien qu'elle soit impliquée dans le développement de pathologies comme le cancer (Wang et Dubois, 2010), la voie des PGs est responsable de la maintenance des nombreux organes (Legler et al., 2010; Calder, 2020). On peut notamment citer le cerveau (Barreiro-Iglesias, 2021), les yeux (Doucette et Walter, 2017), le système gastro-intestinal (Takeuchi et Amagase, 2018; Wallace, 2019), le système reproducteur

(Niringiyumukiza et al., 2018) et les os (Li et al., 2007; Lisowska et al., 2018). La PGE2 est primordiale pour la réparation et la régénération tissulaire de plusieurs organes, dont le foie, le rein et le muscle (Cheng et al., 2021). De plus, elle exerce une action anti-fibrotique (Bozyk et Moore, 2011; Elwakeel et al., 2019 ; détaillé la sous-partie II).

Inflammation et système immunitaire. Le principal rôle connu des PGs est la régulation de l'inflammation. L'effet de l'aspirine et des autres médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) est dû à l'inhibition des COXs (Vane, 1971). A noter que le paracétamol n'est pas un AINS bien qu'il exerce son effet par le même mécanisme. Bien que COX-2 semble être la source principale de production de PGs dans l'inflammation, les deux isoformes participent à la réponse inflammatoire via la production de la PGE2 (Trebino et al., 2003; Ricciotti et FitzGerald, 2011). La PGE2 est impliquée dans tous les signes classiques de l'inflammation, à savoir la rougeur, le gonflement et la douleur (Funk, 2001). De plus, elle amplifie la production de cytokines pro-inflammatoires via son récepteur EP4, et a un effet direct sur la migration des cellules dendritiques et la différenciation des lymphocytes T pro-inflammatoires (Legler et al., 2006; Yao et al., 2009). Paradoxalement, certaines études montrent que la PGE2 peut avoir un rôle anti-inflammatoire, dans le cadre des infections bactériennes ou de la réparation tissulaire (Duffin et al., 2016; Cheng et al., 2021). La voie des PGs est impliquée dans le développement et l'évolution de maladies inflammatoires telles que l'allergie (Lee et al., 2020), certaines maladies auto-immunes comme l'arthrite rhumatoïde (Ma et al., 2021) ou la sclérose multiple (Gulla et al., 2020) et les maladies neurodégénératives (Lima et al., 2012).

Douleur. Comme le montre l'effet anti-douleur des AINS, les PGs jouent un rôle dans l'activation du système nerveux somatosensoriel. Plusieurs études ont démontré le rôle des COXs au niveau des nocicepteurs, les récepteurs sensoriels de la douleur (Jang et al., 2020). La médiation de cette dernière est au moins en partie due à la PGE2, puisque l'absence de mPGES-1 diminue la sensibilité à la douleur de modèles murins (Trebino et al., 2003; Kamei et al., 2004; Mabuchi et al., 2004). Cette médiation passe par les récepteurs EP1, EP2 et EP4 (Nakayama et al., 2004; Reinold et al., 2005; Lin et al., 2006), faisant de la PGE2 une molécule centrale dans la transmission des signaux dans les nocicepteurs (Jang et al., 2020).

Système cardiovasculaire. La voie des PGs est essentielle dans la régulation du système cardiovasculaire et de la pression sanguine, en témoignent les effets indésirables des AINS comme l'hypertension, les arrêts cardiaques et les AVC (Mitchell et Kirkby, 2019). La PGI2 est

la principale PG dans les tissus vasculaires. Elle est produite par les cellules endothéliales pour permettre la vasodilatation et l'inhibition de l'agrégation plaquettaire (Crescente et al., 2019). D'un autre côté, la TXA2 est produite par les plaquettes et joue un rôle antagoniste à la PGI2, avec un effet vasoconstricteur et d'agrégation plaquettaire. La balance entre ces deux molécules est primordiale pour l'homéostasie cardiovasculaire, notamment pendant la grossesse et chez le nouveau-né, sous peine de développement de pathologies cardiovasculaires (Majed et Khalil, 2012). La PGE2 joue un rôle au niveau de l'agrégation plaquettaire, l'inhibant ou la favorisant en fonction de sa concentration et du récepteur EP stimulé (Friedman et al., 2015). Concernant les cellules cardiaques, la PGE2 semble protectrice après un infarctus (Cheng et al., 2021), possiblement via un effet sur les cellules souches cardiaques (Hsueh et al., 2014).

La PGE2 régule la pression sanguine. Elle peut à la fois avoir un effet hypotenseur ou hypertenseur en fonction du contexte et du récepteur stimulé (Yang et Du, 2012; Wang et al., 2022). Dans le rein, la PGE2 a un effet vasodilatateur, en augmentant le diamètre de l'artériole afférente et en inhibant la constriction des cellules vasculaires pré-glomérulaires (Purdy et Arendshorst, 1999; Imig et al., 2002). Généralement, la stimulation d'EP1 et d'EP3 augmente la vasoconstriction et la pression sanguine, tandis que celle d'EP2 et d'EP4 augmente la vasodilatation et diminue la pression sanguine (Wang et al., 2022). La pression sanguine et la balance hydrique sont intrinsèquement liées et sont coordonnées de manière fine par le système cardiovasculaire et le rein (Prieto et al., 2014). Tout comme pour le système cardiovasculaire, la PGE2 joue un rôle essentiel dans l'homéostasie rénale.

II. La PGE₂ et le rein

La PGE2 et ses récepteurs jouent un rôle clé dans la réabsorption de l'eau et du sodium dans le rein. Les EPs représentent également une piste intéressante dans le traitement des pathologies rénales.

1) Expression de la voie PGE₂ dans le rein

Le rein est particulièrement riche en PGE2 (Nørregaard et al., 2015). Les cellules rénales expriment les différentes protéines de la voie de synthèse de la PGE2, permettant sa production localement (**Tableau 1**). De nombreuses études ont analysé la distribution des récepteurs EPs le long du néphron (**Tableau 2**). Les résultats diffèrent parfois d'une étude à

l'autre, et la variabilité découle du modèle étudié (rongeur, Homme) ou de la méthode de détection (ARNm, protéines).

| Référence | Localisation | | | ARNm ou protéines | Espèce |
|---------------|--|---|---|-------------------|--------------------|
| | COX-1 | COX-2 | mPGES | | |
| Komhoff 1997 | Vaisseaux sanguins glomérulaires, CD, cellules interstitielles | Vaisseaux sanguins glomérulaires, glomérule | / | ARNm et protéines | Homme |
| Komhoff 1997 | Glomérule, CD | Glomérule | / | ARNm et protéines | Homme, rein foetal |
| Yang 1998 | Glomérule, CD | Macula densa, TAL, IMCD (faible) | | ARNm | Rat |
| Cârpean 2003 | Glomérule, DCT, CNT, CD | Macula densa, TAL | Macula densa, TAL, DCT, CNT | Protéines | Souris |
| Therland 2004 | CD | Vaisseaux sanguins glomérulaires | Macula densa, CD | Protéines | Homme |
| Therland 2004 | / | Vaisseaux sanguins glomérulaires, macula densa, TAL | / | Protéines | Homme, rein foetal |
| Karger 2018 | / | Macula densa | / | Protéines | Souris |
| Ransick 2019 | CNT, CCD, OMCD, IMCD | Macula densa | CNT, CCD, IMCD (mPGES-1) / Tous les segments sauf glomérule et IMCD (mPGES-2) | ARNm | Souris |
| Chen 2021 | DTL, DCT, CNT, CCD, OMCD, IMCD | Non détecté | DCT, CNT, CCD, OMCD, IMCD (mPGES-1) / Tous (mPGES-2) | ARNm | Souris |

| BILAN | COX-1 | COX-2 | mPGES | Méthode |
|---------|--------------------------------------|-------------------|--|-------------------|
| Rongeur | Glomérule, DCT, CNT, CCD, IMCD, OMCD | Macula densa, TAL | DCT, CNT, CCD, OMCD, IMCD (mPGES-1) / Tous (mPGES-2) | ARNm et protéines |
| Homme | Glomérule, CD | Glomérule | Macula densa, CD | Protéines |

Tableau 1 : Expression des membres de la voie de biosynthèse de la PGE2 dans le rein.

DTL : anse de Henlé descendante ; TAL : anse de Henlé ascendante ; DCT : tubule contourné distal ; CNT ; tubule connecteur ; CCD : canal collecteur cortical ; OMCD : canal collecteur de la médullaire externe ; IMCD : canal collecteur de la médullaire interne ; CD : canal collecteur ; / : non étudié.

Le récepteur EP1 est présent dans le CD chez la souris et l'Homme. Chez l'Homme, il semble être également exprimé dans le CNT. Le récepteur EP2 est détecté dans le glomérule, la macula densa, les tissus vasculaires et la DTL chez la souris. Il est présent dans les tissus vasculaires, la TAL et le DCT chez l'Homme. Le récepteur EP3 est localisé dans la TAL, le CNT et le CD chez la souris. Chez l'Homme il semble aussi être exprimé dans le glomérule. Enfin, le récepteur EP4 est présent au niveau du glomérule, de la macula densa, des tissus vasculaires et dans le tubule distal chez la souris. En revanche, EP2 et EP4 ne sont pas détectés dans la macula densa chez l'Homme.

L'utilisation des agonistes/antagonistes des récepteurs EPs semble indiquer des localisations supplémentaires. Ainsi les cellules proximales murines semblent exprimer *Ptger1* (EP1) et *Ptger4* (EP4 ; Nasrallah et al., 2015). Bien qu'il n'ait jamais été directement détecté dans les cellules épithéliales du CD, EP2 participe à la physiologie de ce segment (détaillé dans la **sous-partie 3**). Il est en revanche exprimé par les cellules interstitielles et par les tissus vasculaires du rein (**Tableau 2**). On peut donc émettre l'hypothèse que l'activation d'EP2 par la PGE2 dans les cellules endothéliales et interstitielles exerce un effet

paracrine sur les cellules épithéliales rénales. Il est à noter que *Ptger2* (EP2) est exprimé par certaines lignées cellulaires du CD comme les MDCK (Taub et al., 2014).

| Référence | Localisation | | | | ARNm ou protéines | Espèce |
|---------------|--|--|---|--|-------------------|--------------------|
| | EP1 | EP2 | EP3 | EP4 | | |
| Sugimoto 1994 | CCD, OMCD, IMCD | Glomérule | CNT, CCD, OMCD, IMCD | / | ARNm | Souris |
| Batschke 1995 | CD | / | / | / | ARNm | Souris |
| Breyer 1996 | CCD, OMCD, IMCD | Non détecté | TAL, CCD, OMCD | Glomérule | ARNm | Homme |
| Morath 1999 | CNT, CCD, OMCD, IMCD, artère, artérioles | Artère, artérioles | Glomérule, DTL, CNT, CCD, OMCD, IMCD, artère, artériole | Glomérule, artère | Protéines | Homme |
| Bek 1999 | Glomérule | / | Glomérule | Glomérule | ARNm | Souris |
| Jensen 2001 | / | Vasa recta médullaire, DTL | / | DTL, CCD, vaisseaux sanguins péri-glomérulaires, vasa recta médullaire | ARNm | Rat |
| Therland 2004 | / | TAL, DCT | / | Vaisseaux sanguins péri-glomérulaires | Protéines | Humain |
| Vio 2012 | Tissus vasculaire | / | TAL | / | Protéines | Rat |
| Karger 2018 | / | Macula densa | / | Macula densa | ARNm | Souris |
| Ransick 2019 | OMCD, IMCD | DTL | TAL | Glomérule | ARNm | Souris |
| Lannoy 2020 | / | / | / | DTL, TAL, CNT | Protéines | Souris |
| Chen 2021 | CNT, CCD, OMCD, IMCD | DTL (faible) | TAL, CNT, CCD | DTL (faible), CCD (faible) | ARNm | Souris |
| Fuchs 2022 | CD | Glomérule et macula densa, cellules interstitielles | DCT, CNT | Glomérule et macula densa, cellules intestieilles | ARNm | Souris, Nouveau né |
| Fuchs 2022 | / | Cellules mésangiales extra-glomérulaires (macula densa), cellules intersitielles | / | Glomérule, cellules mésangiales extra-glomérulaires (macula densa), cellules interstitielles | ARNm | Souris, Adulte |

| BILAN | EP1 | EP2 | EP3 | EP4 | Méthode |
|---------|----------------------|--|---|--|-------------------|
| Rongeur | CCD, OMCD, IMCD | Glomérule, macula densa, tissus vasculaires, DTL | TAL, CNT, CCD, OMCD, IMCD | Glomérule, macula densa, tissus vasculaires, DTL, CNT, CCD | ARNm |
| Homme | CNT, CCD, OMCD, IMCD | Tissus vasculaires, TAL, DCT | Glomérule, DTL, TAL, CNT, CCD, OMCD, IMCD | Glomérule, tissus vasculaire | ARNm et protéines |

Tableau 2 : Expression des récepteurs EPs dans le rein.

DTL : anse de Henlé descendante ; TAL : anse de Henlé ascendante ; DCT : tubule contourné distal ; CNT ; tubule connecteur ; CCD : canal collecteur cortical ; OMCD : canal collecteur de la médullaire externe ; IMCD : canal collecteur de la médullaire interne ; CD : canal collecteur ; / : non étudié.

2) Rôle de la PGE₂ dans le développement rénal

Quelques études se sont intéressées à l’expression et au rôle de la voie de la PGE₂ pendant le développement rénal (**Tableau 1**). Chez l’Homme, *PTGS1* (COX-1) et *PTGS2* (COX-2) sont exprimés dans le rein fœtal. L’exposition à des AINS pendant le développement embryonnaire est associé à des défauts de développement rénal et une IRT chez le nouveau-né (Kaplan et al., 1994; van der Heijden et al., 1994). De manière cohérente, l’absence de COX-2 chez la souris provoque des défauts de développement rénal, avec des glomérules immatures et hypoplasiques, peu de différenciation tubulaire et la formation de kystes (Dinchuk et al., 1995; Morham et al., 1995; Norwood et al., 2000). *Ptges* (mPGES1) et *Ptgs2* sont rapidement exprimés dans le rein murin après la naissance (Frölich et al., 2012). L’inhibition pharmacologique de COX-2 durant les dix premiers jours après la naissance

altère le développement des glomérules. Après cette période, les inhibiteurs de COX-2 provoquent des défauts de développement et de différenciation tubulaire (Frölich et al., 2012). COX-2 est donc essentiel au développement rénal, et ce de manière dose-dépendante (Dinchuk et al., 1995; Slattery et al., 2016). À l'inverse, les souris *Ptgs1*^{-/-} ne développent pas de phénotype rénal, et l'inhibition pharmacologique de COX-1 après la naissance est également sans effet sur le rein (Langenbach et al., 1995; Frölich et al., 2012).

Les glomérules des souris *Ptger1*^{-/-} (EP1), *Ptger2*^{-/-} (EP2), et *Ptger4*^{-/-} (EP4) ont une taille inférieure à ceux des souris contrôles, signe que le développement glomérulaire passe par une activation de ces récepteurs (Frölich et al., 2012). Une autre étude montre que la délétion de *Ptger2* ou *Ptger4* dans les cellules stromales progénitrices n'impacte pas le développement rénal, tandis que la délétion des deux récepteurs simultanément dans les mêmes cellules diminue le nombre et la taille des glomérules, augmente la fibrose péri-glomérulaire et diminue la taille du cortex rénal (Fuchs et al., 2022). De manière cohérente, la PGE2 régule la proportion de tubule proximal et distal pendant le développement embryonnaire du ZF, via les récepteurs EP2 et EP4 et la modulation de l'expression de facteurs de transcription clés dans la segmentation rénale (Poureetezadi et al., 2016). De plus, la PGE2 promeut la différenciation des cellules multi-ciliées dans le tubule proximal du pronéphros des larves de ZF (Marra et al., 2019; Chambers et al., 2020).

La PGE2 est donc essentielle pour le développement du rein. Elle joue également un rôle primordial dans le rein adulte, en modulant la réabsorption de l'eau et du sodium.

3) Rôle des EPs dans la physiologie rénale

a) Les bases de la physiologie rénale

Les mécanismes principaux permettant la réabsorption de l'eau et du sodium le long du néphron sont résumés dans la **Figure 13**.

La réabsorption de l'eau par les aquaporines (AQP). Chez l'Homme plus de 99% de l'eau issue de la filtration glomérulaire est réabsorbée par les cellules rénales, ce qui représente en moyenne cent cinquante litres par jour pour un adulte (Kleta et Bockenhauer, 2018). Le 1% restant forme l'urine. Le tubule proximal réabsorbe 70% de l'eau filtrée, l'anse de Henlé environ 15% et la partie distale dont le CD les 15% restants. Cette réabsorption est permise par les neuf types d'AQPs exprimées dans les cellules tubulaires (Su et al., 2020). AQP1 est

localisée dans le tubule proximal et la DTL (**Figure 13A,B**). Elle est la principale AQP réabsorbant l'eau dans la partie proximale du rein et permet l'établissement d'un gradient osmotique (Schnermann et al., 1998; Pallone et al., 2000; Verkman, 2008). AQP2 permet la concentration des urines dans le CNT et le CD (**Figure 13F,G**). Son absence dans le CD conduit à une mortalité postnatale rapide chez la souris (Rojek et al., 2006). AQP3 et AQP4 sont localisées à la membrane baso-latérale des cellules du CNT et du CD pour AQP3, du CD uniquement pour AQP4 (**Figure 13F,G**). Elles permettent l'évacuation cellulaire de l'eau réabsorbée par AQP2 (Noda et al., 2010). Les autres AQPs jouent un rôle mineur dans la balance hydrique rénale, mais peuvent transporter d'autres molécules comme le glycérol (Su et al., 2020).

L'arginine vasopressine (AVP) est l'hormone principale régulant la réabsorption fine de l'eau dans le CD. Sa production par l'hypothalamus est augmentée en réponse à une restriction en eau et une augmentation de l'osmolalité plasmatique (El Faza et al., 2000; Prager-Khoutorsky et Bourque, 2010). Elle se fixe à son récepteur V2R, un GPCR couplé à une $G_{\alpha s}$ qui active la voie AMPc/PKA. V2R est localisé aux membranes baso-latérales et au cil primaire des cellules tubulaires (**Figure 13F,G**; Raychowdhury et al., 2009; Marion et al., 2011). La phosphorylation d'AQP2 par la PKA permet son adressage à la membrane apicale et la réabsorption de l'eau à partir de l'urine primaire. En cas de stimulation prolongée par l'AVP, le facteur de transcription CREB, activé par la PKA, augmente l'expression d'AQP2 (Su et al., 2020). Des variants dans les gènes *AVPR2*, codant pour V2R, et *AQP2* sont à l'origine du diabète insipide chez l'Homme (Bichet et al., 1993; van Os et Deen, 1998; Bichet, 2009). Il en résulte une incapacité pour les patients à réabsorber l'eau et à concentrer leurs urines. Le diabète insipide ne doit pas être confondu avec la néphropathie diabétique, qui se développe chez certains patients diabétiques et est une conséquence des changements métaboliques provoqués par le diabète (Zoja et al., 2020).

La réabsorption du sodium par les transporteurs ioniques. Tout comme l'eau, la quasi-totalité du sodium filtré par le glomérule est réabsorbé par le rein, l'équivalent de 1.2kg de sel de cuisine par jour pour un adulte en moyenne (Kleta et Bockenhauer, 2018). La majorité de la réabsorption est réalisée par le tubule proximal et la TAL. La partie distale du rein permet la régulation fine de la balance en sodium. Dans le tubule proximal, la majorité de la réabsorption du sodium est réalisée par le transporteur NHE3 (**Figure 13A**). Dans la TAL, le sodium est réabsorbé en même temps que le potassium et le chlorure grâce au transporteur NKCC2 (**Figure 13C**). Dans le DCT, la réabsorption du sodium et du chlorure est permise par

le transporteur NCC (**Figure 13E**). Enfin, les ENaC réabsorbent le sodium dans le CD (**Figure 13G,H**). Dans tous les segments, le passage du sodium réabsorbé dans la circulation sanguine est réalisé par les Na-K-ATPase situées au niveau du pôle basal (Kleta et Bockenhauer, 2018). D'autres transporteurs sont présents au niveau apical ou basal pour le maintien de la balance ionique corporelle.

En plus de la régulation du transport de l'eau, la vasopressine est impliquée dans le transport de l'urée dans le CD via le transporteur UT-A1 (Fenton, 2009) et dans la réabsorption du sodium au niveau de la TAL, en stimulant l'adressage de NKCC2 à la membrane apicale (**Figure 13C** ; Ares et al., 2011).

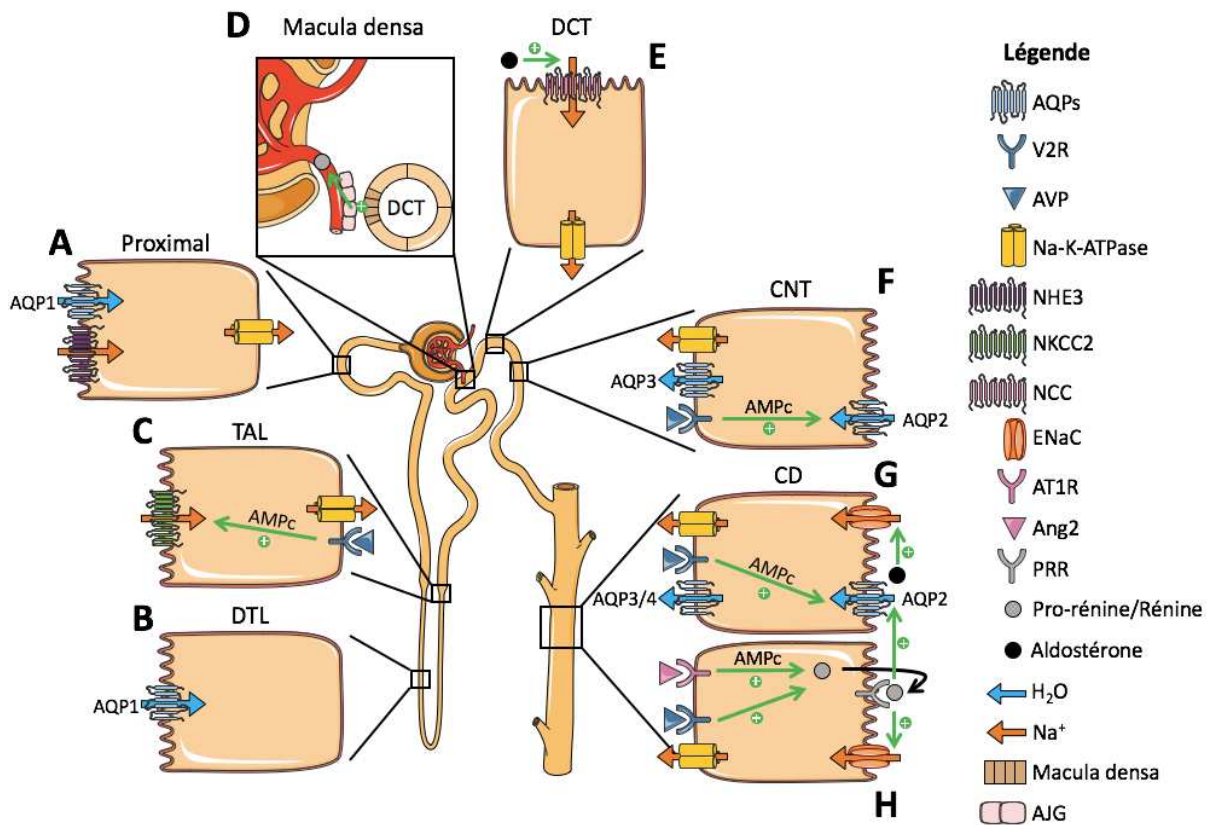


Figure 13 : Mécanismes de la réabsorption de l'eau et du sodium le long du néphron.

(A) Dans le tubule proximal, AQP1 permet la réabsorption de l'eau (H₂O), et NHE3 la réabsorption du sodium (Na⁺). (B) Dans la partie descendante de l'anse de Henlé (DTL), AQP1 permet la réabsorption de l'eau. (C) Dans la partie ascendante de l'anse de Henlé (TAL), la fixation de l'arginine vasopressine (AVP) sur son récepteur V2R active une signalisation AMPc et stimule la réabsorption du sodium par NKCC2. (D) Dans le tubule contourné distal (DCT), les cellules spécialisées de la macula densa envoient un signal aux cellules de l'appareil juxtaglomérulaire (AJG) pour produire la pro-rénine/rénine. (E) L'activation du système rénine-angiotensine conduit à la production d'aldostérone, qui active NCC dans le DCT pour réabsorber le sodium. (F,G) Dans le tubule connecteur (CNT) et le canal collecteur (CD), l'AVP stimule la réabsorption de l'eau via AQP2. Du côté basolatéral, AQP3 dans le CNT et AQP3/4 dans le CD permettent la sortie de l'eau de la cellule. (G) L'aldostérone augmente la réabsorption du sodium en activant les

ENaCs dans le CD. **(H)** L'AVP et l'angiotensine 2 (Ang2) produisent la pro-rénine/rénine dans le CD via une voie AMPc/CREB. La pro-rénine/rénine produite localement se fixe sur le récepteur à la pro-rénine (PRR) et augmente la réabsorption du sodium via les ENaCs et de l'eau via AQP2. **(A,C,E-H)** Dans tous les segments, la Na-K-ATPase permet la sortie du sodium de la cellule. D'autres localisations peuvent exister pour les récepteurs (V2R est également localisé au cil primaire et AT1R au pôle apical). Adapté de Olesen et Fenton, 2013.

Le système rénine-angiotensine (SRA). Le SRA est essentiel pour la régulation de la pression sanguine et la réabsorption du sodium. Son hyper-activation peut causer de l'hypertension, de l'inflammation et de la fibrose dans le rein (Prieto et al., 2021). Dans le rein, la pro-rénine est classiquement produite par les cellules juxtaglomérulaires de la macula densa (**Figure 13D**). Après avoir été clivée et relarguée dans le milieu extracellulaire, la rénine peut cliver l'angiotensinogène sécrétée par le foie pour former l'angiotensine I, elle-même clivée par l'enzyme de conversion de l'angiotensine pour former l'angiotensine II. Cette protéine promeut la production d'aldostérone, au niveau de la glande surrénale, qui contrôle la réabsorption du sodium en activant les canaux NCC dans le DCT et ENaC dans le CD (**Figure 13E,G**; Prieto et al., 2021). Un autre mécanisme de régulation existe dans les cellules du CD. Cette voie de signalisation alternative est permise par la synthèse rénale des composants du SRA (Kobori et al., 2001; Prieto-Carrasquero et al., 2004; Redublo Quinto et al., 2008). La production de la pro-rénine par les cellules du CD est régulée par plusieurs hormones, plutôt que par la pression sanguine ou la concentration en sodium comme dans la macula densa (Prieto-Carrasquero et al., 2008; Gonzalez et al., 2016; Lara et al., 2017). L'angiotensine II se fixe sur les récepteurs AT1R et active la production de la pro-rénine par une voie PKC/AMPc/PKA/CREB (**Figure 13H**). La pro-rénine est ensuite métabolisée en rénine par le récepteur à la pro-rénine qui active les ENaCs et AQP2 dans le CD (Mamenko et al., 2012; Prieto et al., 2021). Contrairement au rétrocontrôle négatif qu'exerce l'angiotensine II au niveau de la macula densa, elle augmente ici à la production de rénine (Gonzalez et al., 2015).

b) Rôle des EPs dans la réabsorption de l'eau

La PGE2 participe à la régulation de ces différents acteurs pour maintenir la balance hydrique et sodique. Elle a des rôles antagonistes en fonction des récepteurs stimulés et des conditions physiologiques (**Figure 14**). L'utilisation d'agonistes/antagonistes des EPs ou de modèles murins invalidés pour un des récepteurs a permis de décortiquer le rôle de la PGE2 dans les différents segments.

Les souris *Ptger1^{-/-}* (EP1) ne développent pas de défaut de la fonction rénale ou de concentration des urines (Kennedy et al., 2007; Nasrallah et al., 2018). La PGE2 inhibe la réabsorption de l'eau médiée par l'AVP dans des segments du CD micro-disséqués puis micro-perfusés (Nasrallah et al., 2018, 2020). Cet effet n'est cependant pas observé dans les segments provenant des souris *Ptger1^{-/-}* (Nasrallah et al., 2018, 2020). Aucune étude n'a détecté la présence d'EP1 au niveau du tubule proximal, bien qu'il semble être exprimé par les cellules rénales proximales *in vitro* et qu'il participe à la réponse physiologique des tubules proximaux *ex vivo* (Nasrallah et al., 2015). En effet, la réabsorption de l'eau induite par la PGE2 dans des tubules proximaux micro-perfusés n'est pas observée dans ceux provenant des souris *Ptger1^{-/-}* (Nasrallah et al., 2015). Bien que n'étant pas essentiel pour la physiologie rénale en condition basale, EP1 peut donc moduler la réabsorption de l'eau dans le tubule proximal et le CD (**Figure 14A,D**).

Les souris *Ptger3^{-/-}* (EP3) ne présentent pas de défaut de la fonction rénale ou de concentration des urines, même après une période de restriction en eau (Fleming et al., 1998). De manière similaire, la délétion de *Ptger3* dans les cellules tubulaires rénales chez le rat ne semble pas avoir d'impact sur la balance hydrique (Esteva-Font et al., 2021). Dans des modèles cellulaires de CD, EP3 inhibe la production d'AMPc par son activité $G\alpha_i$ et joue sur la contractilité du cytosquelette d'actine via Rho par son activité $G\alpha_{12/13}$. Ces deux mécanismes inhibent la localisation d'AQP2 à la membrane apicale après stimulation avec l'AVP (**Figure 14D**; Hébert, 1994; Klussmann et al., 2001; Tamma et al., 2003). Ce rôle a été confirmé plus récemment *in vivo* (Hassouneh et al., 2016). Ainsi, EP3 n'exerce pas de fonction dans la physiologie rénale en condition basale mais peut contrecarrer l'effet de l'AVP sur la réabsorption de l'eau.

Les souris *Ptger2^{-/-}* (EP2) ne développent pas de défaut de la fonction rénale (Kennedy et al., 1999). En revanche, des modèles murins n'exprimant pas *Ptger4* (EP4) dans l'ensemble des cellules épithéliales rénales ou spécifiquement dans les cellules du CD développent un défaut de concentration des urines (Gao et al., 2015). EP2 et EP4 peuvent stimuler l'adressage d'AQP2 à la membrane plasmique apicale *in vitro* dans les MDCK grâce à leur activité $G\alpha_s$ (**Figure 14D**; Olesen et al., 2011). La stimulation individuelle de ces deux récepteurs résulte en des phosphorylations d'AQP2 différentes. Ceci peut être expliqué par une signalisation intracellulaire différente entre les deux récepteurs. Tandis qu'EP2 et EP4 augmentent l'expression et la translocation d'AQP2 à la membrane apicale via la voie AMPc, EP4 permet en plus l'adressage d'AQP2 à la membrane apicale par une signalisation Erk *in*

in vitro dans les cellules mIMCD3 (Gao et al., 2015). *In vivo* chez la souris, des agonistes spécifiques d'EP2 et d'EP4 permettent d'augmenter la concentration des urines et de compenser l'inhibition pharmacologie ou génétique de V2R (Li et al., 2009; Olesen et al., 2011). Ainsi, de manière similaire à l'action de l'AVP, l'activation d'EP2 et d'EP4 augmente la réabsorption de l'eau dans les cellules du CD.

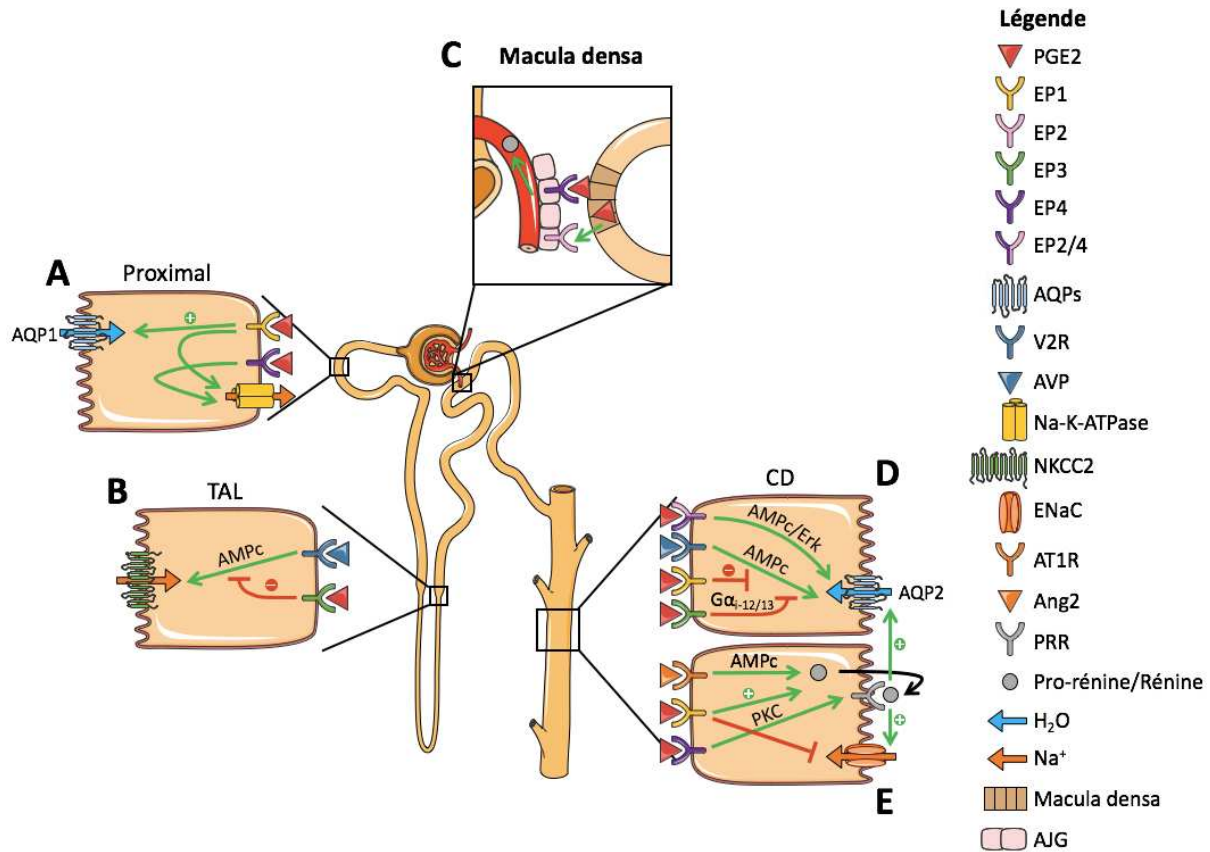


Figure 14 : Régulation du transport rénal de l'eau et du sodium par la PGE2.

(A) Dans le tubule proximal, EP1 stimule la réabsorption de l'eau (H₂O) via AQP1. EP1 et EP4 augmentent l'expression et l'adressage à la membrane basolatérale de la Na-K-ATPase. (B) Dans la partie ascendante de l'anse de Henlé (TAL), la PGE2 inhibe la réabsorption du sodium (Na⁺) médiée par l'arginine vasopressine (AVP), probablement via EP3. (C) Les cellules de la macula densa produisent de la PGE2, qui se fixe sur EP2 et EP4 exprimés par les cellules de l'appareil juxtaglomérulaire (AJG) pour produire la rénine par une signalisation AMPc. (D) Dans le canal collecteur (CD), EP2 et EP4 augmentent la réabsorption de l'eau via une signalisation AMPc (EP2 et EP4) et Erk (EP4 uniquement) et une action sur AQP2, similairement à l'AVP. EP1 et EP3 inhibent la réabsorption de l'eau médiée par l'AVP. (E) EP1 inhibe les ENaCs réabsorbant le sodium. Enfin, EP1 augmente à la production de la rénine dans les cellules du CD, et EP4 l'expression du récepteur à la pro-rénine (PRR). Le PRR augmente la réabsorption de l'eau via AQP2 et du sodium via les ENaCs. Adapté de Olesen et Fenton, 2013.

c) Rôle des EPs dans la réabsorption du sodium

Le lieu de production de la PGE2 détermine son impact sur la balance hydrique et sodique de l'organisme. Un régime pauvre en sel augmente la production de PGE2 dans la

macula densa pour favoriser la réabsorption du sodium grâce au SRA (Yang et al., 2000). En revanche, après un régime riche en sel ou l'ingestion d'un diurétique, l'augmentation des niveaux de PGE₂, de manière dépendant de COX-2, se fait au niveau de la médullaire et permet l'élimination du sodium et de l'eau (Yang et al., 1998; Mann et al., 2001; Chen et al., 2008).

Effet de la PGE₂ dans le SRA. La voie de la PGE₂ joue un rôle dans la régulation du SRA qui augmente la réabsorption du sodium. En effet, la synthèse de la rénine dans les cellules juxtaglomérulaires dépend de la stimulation des récepteurs EP₂ et EP₄ par la PGE₂, qui est sécrétée par les cellules de la macula densa (**Figure 14C** ; Jensen et al., 1996; Schweda et al., 2004). L'activation de la voie AMPc/PKA/CREB induit l'expression du gène codant pour la pro-rénine. En parallèle de la macula densa, la PGE₂ stimule la synthèse de la pro-rénine dans les cellules principales du CD via son récepteur EP₁ (**Figure 14E** ; Gonzalez et al., 2017). L'augmentation de la rénine au niveau de la médullaire dépend aussi d'EP₄, qui augmente l'expression du récepteur à la pro-rénine (**Figure 14E** ; Wang et al., 2014a). La rénine produite localement augmente, via le récepteur à la pro-rénine, la réabsorption de l'eau par AQP2 et du sodium par les ENaCs (Wang et al., 2016a).

Effet de la PGE₂ dans le tubule rénal. Les premières études sur le rôle de la PGE₂ dans le transport du sodium ont été réalisées sur des segments rénaux micro-perfusés et montrent une variabilité de réponse à la PGE₂ en fonction du segment étudié (Bonvalet et al., 1987). La PGE₂ augmente l'expression et l'adressage à la membrane basolatérale de la Na-K-ATPase dans les cellules proximales *in vitro*, potentiellement via EP₁ et EP₄ (**Figure 14A** ; Herman et al., 2010; Nasrallah et al., 2015). Parallèlement, la PGE₂ inhibe l'activité du transporteur NKCC2 dans les cellules de la TAL *in vitro* (**Figure 14B** ; Kaji et al., 1996). De manière cohérente, l'utilisation d'un inhibiteur de COX-2 dans un modèle rongeur de diabète insipide augmente la quantité de NKCC2 dans la TAL et la réabsorption du sodium (Kim et al., 2008a). Le blocage de la réabsorption du sodium par la PGE₂ dans la TAL passe possiblement par EP₃, qui peut bloquer l'effet de la production d'AMPc par l'AVP dans ce segment comme vu précédemment. Pour terminer, l'activation d'EP₁ inhibe la réabsorption du sodium dans le CD. Une première étude montre qu'un antagoniste d'EP₁ bloque l'inhibition de la réabsorption du sodium par la PGE₂ dans des segments micro-perfusés du CD (**Figure 14E** ; Guan et al., 1998). Une étude plus récente confirme cet effet dans les segments micro-perfusés des souris *Ptger1*^{-/-} (EP₁ ; Nasrallah et al., 2018). De plus, l'utilisation d'un agoniste d'EP₁ bloque l'augmentation de l'expression des ENaCs après traitement à l'aldostérone

chez le rat (González et al., 2009). L'utilisation d'un inhibiteur des ENaCs *in vitro* confirme le rôle de ces transporteurs dans l'inhibition de réabsorption du sodium par la PGE2 (Nasrallah et al., 2018). Bien que l'expression d'EP2 par les cellules épithéliales rénales soit parfois débattue, ce récepteur est nécessaire pour l'élimination du sodium par la PGE2 après un régime riche en sel (Chen et al., 2008). Le mécanisme n'est en revanche pas encore connu. En accord avec cette étude, les souris *Ptger2^{-/-}* (EP2) développent de l'hypertension après un régime riche en sodium (Kennedy et al., 1999).

Pour conclure sur le rôle de la PGE2 dans la balance sodique : i) EP1 et EP3 semble favoriser le transport du sodium à travers les cellules proximales via une action sur les Na-K-ATPases, ii) EP3 semble réguler négativement la réabsorption du sodium médiée par l'AVP dans la TAL, iii) EP2 et EP4 sont essentiels pour l'activation du SRA au niveau de la macula densa, permettant la synthèse de la pro-rénine/rénine puis de l'aldostérone pour réabsorber le sodium dans le DCT (NCC) et dans le CD (ENaCs), iv) EP1 et EP4 participent à l'activation du SRA au niveau du CD pour favoriser la réabsorption du sodium via les ENaCs, v) d'autres études montrent en revanche qu'EP1 peut inhiber les ENaCs dans le CD.

d) Complexité de l'effet de la PGE₂ sur la physiologie rénale

La régulation de la physiologie rénale par la PGE2 est complexe, et parfois contradictoire. Plusieurs études montrent que le rôle de la PGE2 varie selon le contexte. Tout d'abord, des études *in vitro* montrent que la PGE2 n'a pas le même effet après pré-stimulation à l'AVP. En effet, la PGE2 seule augmente la perméabilité hydrique des cellules du CD, alors qu'elle inhibe la réabsorption de l'eau dans les cellules pré-stimulées avec l'AVP (Grantham et Orloff, 1968; Sonnenburg et al., 1990). Un autre exemple concerne EP3. Nous avons précédemment montré que ce récepteur inhibe la réabsorption de l'eau après stimulation à l'AVP. En revanche, dans le cadre d'un régime riche en sodium, un agoniste d'EP3 diminue le volume urinaire en augmentant la réabsorption de l'eau, au contraire d'un antagoniste qui augmente l'excrétion d'eau (Hao et al., 2016). Cet effet est au moins en partie dû au rôle d'EP3 dans la TAL, où il est à l'origine d'un rétrocontrôle négatif de l'expression de *Ptgs2* (COX-2; Vio et al., 2012; Hao et al., 2014, 2016). Comme écrit précédemment, le lieu de production de la PGE2 dans le rein varie en fonction de la teneur en sel de l'alimentation et détermine si la PGE2 promeut ou inhibe la réabsorption de l'eau et du sodium. Enfin, l'effet de la PGE2 dépend de la dose (Schweda et al., 2004) et de la durée d'exposition (Sauvant et al., 2003, 2006; Herman et al., 2010).

4) Cible thérapeutique dans le traitement des maladies rénales

Les pathologies rénales regroupent les lésions rénales aiguës et les maladies rénales chroniques. Les lésions rénales aiguës sont définies par une diminution rapide de la fonction rénale pouvant provenir d'une infection, d'une prise de médicaments, d'un traumatisme ou d'une chirurgie. Si le défaut de la fonction rénale dure plus de trois mois, on parle alors de maladie rénale chronique (Kellum et al., 2021). Elles ont une prévalence de 13,4% à l'échelle mondiale et sont un important facteur de morbidité (Hill et al., 2016). La fibrose est un élément clé dans le développement des maladies rénales chroniques. Elle est caractérisée par un dépôt excessif de matrice extracellulaire par les myofibroblastes et contribue à la perte de l'architecture rénale et au déclin de la fonction rénale (Yuan et al., 2019). La voie du TGF β est la principale voie pro-fibrogénique (Meng et al., 2015). Les facteurs pro-fibrotiques sont sécrétés par les cellules épithéliales lésées et par les cellules immunitaires infiltrées (Huang et al., 2020).

Des essais cliniques ont démontré l'effet bénéfique des inhibiteurs du SRA et de SGLT2, un transporteur du glucose, dans le maintien du taux de filtration glomérulaire sur le long terme. Cependant, aucune stratégie ne permet de diminuer l'inflammation ou la fibrose (Shabaka et al., 2021). La voie de la PGE2 fait partie des voies intéressantes dans le traitement des maladies rénales. La NPH étant une maladie rénale chronique, nous ne nous concentrerons pas sur la modulation de la voie de la PGE2 dans le traitement des lésions rénales aiguës, qui impliquent d'autres mécanismes pathologiques. L'ensemble des études publiées est néanmoins résumé dans l'**Annexe 3**.

a) Approches in vitro

Afin d'évaluer le potentiel thérapeutique de la PGE2 et d'en comprendre les mécanismes, de nombreuses études ont été réalisées *in vitro*. Ces études se concentrent majoritairement sur le processus fibrotique, élément clé dans les maladies rénales chroniques. La PGE2 inhibe la différenciation des fibroblastes en myofibroblastes en bloquant le remodelage du cytosquelette induit par le TGF β (Thomas et al., 2007). Les antagonistes d'EP1 diminuent l'expression de marqueurs de fibrose comme la fibronectine et les collagènes dans les podocytes, les cellules mésangiales glomérulaires et les cellules du tubule proximal (Thibodeau et al., 2013; Chen et al., 2015; Nasrallah et al., 2015). Ils limitent également le stress du réticulum endoplasmique généré par le TGF β (Chen et al., 2020; Guo et al., 2020). Les agonistes d'EP2 inhibent la différenciation des fibroblastes en

myofibroblastes et diminuent l'expression des marqueurs pro-fibrotiques dans les cellules MDCK (Kolodsick et al., 2003; Thomas et al., 2007; Jensen et al., 2019). De plus, ils contrecarrent l'impact du TGF β sur les podocytes, en favorisant leur prolifération et différenciation, tout en inhibant l'apoptose (Liu et al., 2018a). Enfin, un agoniste d'EP2 inhibe l'expression de marqueurs pro-fibrotiques sur des coupes de reins humains prétraitées au TGF β (Jensen et al., 2019). De manière similaire aux antagonistes d'EP1, les agonistes d'EP2 diminuent le stress du réticulum endoplasmique (Guo et al., 2020). Un agoniste d'EP4 diminue l'expression des marqueurs pro-fibrotiques induite par le TGF β et empêche l'activation de l'inflammasome dans les cellules mIMCD3 (Luo et al., 2017). De manière cohérente, l'inhibition de l'expression de *Ptger4* (EP4) augmente l'expression de la fibronectine dans les cellules du tubule proximal (Nasrallah et al., 2015). Les antagonistes d'EP1 et les agonistes d'EP2/4 semblent donc particulièrement pertinents dans le cadre de la fibrose rénale pour contrecarrer l'effet de la voie du TGF β .

b) Maladies rénales chroniques

De nombreux modèles rongeurs de maladies rénales chroniques existent. Ils peuvent modéliser une pathologie existante chez l'Homme ou reproduire les caractéristiques des maladies rénales chroniques (défaut de fonction rénale, fibrose, inflammation, etc). Les études sont résumées dans le **Tableau 3**.

Néphrectomie subtotale (Nx). La Nx consiste en l'ablation de 5/6^e de la masse rénale. Ce modèle est couramment utilisé pour modéliser les maladies chroniques rénales (O'Sullivan et al., 2019). La perte des néphrons augmente la pression sur le glomérule et les tubules. On observe alors une diminution de la fonction rénale, avec une augmentation de la créatinine plasmatique, de la protéinurie et de l'azote uréique (BUN) et une apparition de la fibrose, des lésions glomérulaires et des dilatations tubulaires (Gava et al., 2012; Hamzaoui et al., 2020). L'utilisation d'un agoniste d'EP1 augmente la créatinine plasmatique, le BUN et la glomérulosclérose (atteinte des glomérules) des souris ayant subi une Nx (Chen et al., 2020). De manière cohérente, un antagoniste d'EP1 améliore la fonction rénale et la glomérulosclérose, et diminue le stress du réticulum endoplasmique (Chen et al., 2020). Un agoniste d'EP2 améliore la fonction rénale, diminue la glomérulosclérose et l'apoptose des cellules épithéliales rénales et préserve les tubules rénaux (Vukicevic et al., 2006). La même étude montre un effet similaire d'un agoniste d'EP4 (Vukicevic et al., 2006). A l'inverse, deux études montrent l'effet bénéfique des antagonistes d'EP4 dans le cadre de la Nx, avec une

amélioration de la fonction rénale, de la glomérulosclérose, de la fibrose et de l'inflammation (Thieme et al., 2017; Mizukami et al., 2019). La délétion de *Ptger4* (EP4) dans les podocytes chez la souris augmente le défaut de fonction rénale après Nx par rapport aux contrôles (Stitt-Cavanagh et al., 2010). Dans la même étude, la surexpression de *Ptger4* dans les podocytes est protectrice (Stitt-Cavanagh et al., 2010). De manière similaire, les souris *Ptger4*^{-/-} développent moins de fibrose tubulaire et glomérulaire que les contrôles après Nx (Yang et al., 2014). L'inhibition d'EP1 et la stimulation d'EP2 sont donc des pistes intéressantes dans le traitement des maladies rénales chroniques. Une majorité d'études montrent également un effet bénéfique de l'inhibition d'EP4.

| Récepteur | Agonisme ou antagonisme | Effet | Référence | Modèle |
|--|--|----------------|--|--|
| EP1 | Antagonisme (ONO-8711) | ✓ | Makino 2002 | Néphropathie diabétique, rats traités à la streptozotocine |
| | Antagonisme (délétion <i>Ptger1</i>) | ✓ | Thibodeau 2013 | Néphropathie diabétique, souris OVE26 et traitées à la streptozotocine |
| | Antagonisme (SC19220) | ✓ | Chen 2020 | Néphrectomie 5/6e, souris |
| | Agonisme (17-pt-PGE2) | ✗ | Chen 2020 | Néphrectomie 5/6e, souris |
| EP2 | Agonisme (CP-536,745-01) | ✓ | Vukicevic 2006 | Néphrectomie 5/6e, rat |
| | Agonisme (Butaprost) | ✓ | Olesen 2011 | Diabète insipide, souris traitées avec un antagoniste de V2R |
| | Agonisme (Butaprost) | ✓ | Jensen 2019 | UUO, souris |
| | Agonisme (Butaprost) | ✓ | Jensen 2019 | Coupes de rein humain traitées avec du TGFβ |
| | Antagonisme (PF-04418948) | ✗ | Lannoy 2020 | Polykystose rénale, souris |
| EP4 | Agonisme (CP-044,519-02) | ✓ | Vukicevic 2006 | Néphrectomie 5/6e, rat |
| | Agonisme (ONO-AE1-329) | ✓ | Li 2009 | Diabète insipide, souris V2R ^{-/-} |
| | Agonisme (sur-expression <i>Ptger4</i>) | ✗ | Stitt-Cavanagh 2010 | Néphrectomie 5/6e, souris |
| | Antagonisme (délétion <i>Ptger4</i>) | ✓ | Stitt-Cavanagh 2010 | Néphrectomie 5/6e, souris |
| | Antagonisme (délétion <i>Ptger4</i>) | ✗ | Nakagawa 2012 | UUO, souris |
| | Agonisme (ONO-4819) | ✓ | Nakagawa 2012 | UUO, souris |
| | Agonisme (ONO-AE1-329) | ✗ | Mohamed 2013 | Néphropathie diabétique, souris traitées à la streptozotocine |
| | Antagonisme (délétion <i>Ptger4</i> ^{+/+}) | ✓ | Yang 2014 | Néphrectomie 5/6e, souris |
| | Antagonisme (ASP7657) | ✓ | Mizukami 2019 | Néphrectomie 5/6e, rat |
| | Antagonisme (ONO-AE3-208) | ✓ | Thieme 2017 | Néphropathie diabétique, souris traitées à la streptozotocine |
| | Antagonisme (ONO-AE3-208) | ✓ | Thieme 2017 | Néphropathie diabétique, souris db/db |
| | Antagonisme (ONO-AE3-208) | ✓ | Thieme 2017 | Néphrectomie 5/6e, rat |
| | Antagonisme (ONO-AE3-208) | ✗ | Lannoy 2020 | Polykystose rénale, souris |
| | Agonisme (ONO-4819) | ✓ | Pan 2022 | UUO ou ischémie-reperfusion, souris |
| Antagonisme (inhibiteur COX-2) | ✓ | Wang 2000 | Néphrectomie 5/6e, rat | |
| Antagonisme (diminution activité des COXs) | ✓ | Sankaran 2004 | Néphronophtise infantile, souris <i>pcy/Nphp3</i> | |
| Agonisme (PGE1) + inhibiteurs ACE | ✓ | Nakayama 2005 | Maladie rénale chronique, homme | |
| Antagonisme (inhibiteur COX-2) | ✓ | Rao 2005 | Diabète insipide, souris traitées au lithium | |
| Antagonisme (inhibiteur COX-2) | ✓ | Sankaran 2007 | Néphronophtise infantile, rats <i>Anks6/Nphp16</i> | |
| Antagonisme (inhibiteur COX-2) | ✓ | Kim 2008b | Diabète insipide, rats traités au lithium | |
| Agonisme (PGE1) | ✓ | Wang 2010b | Néphropathie diabétique, homme | |
| Antagonisme (délétion <i>Ptgs2</i>) | ✗ | Nilsson 2015 | UUO, souris | |
| Antagonisme (diminution activité des COXs) | ✓ | Yamaguchi 2015 | Néphronophtise infantile, souris <i>pcy/Nphp3</i> | |
| Antagonisme (inhibiteur COXs) | ✓ | Ibrahim 2015 | Néphronophtise infantile, rats <i>Anks6/Nphp16</i> | |
| Antagonisme (délétion <i>Ptgs</i>) | ✗ | Luo 2017 | UUO, souris | |
| Agonisme (PGE1) | ✓ | Li 2018 | Néphropathie diabétique, homme | |
| Agonisme (PGE1) | ✓ | Jia 2021 | Maladie rénale aiguë, homme | |

Tableau 3 : Effets de la modulation de la voie de la PGE2 dans le traitement des maladies rénales chroniques.

EP3 n'a pas été étudié dans le cadre des maladies rénales chronique et ne figure donc pas dans le tableau.

Obstruction rénale unilatérale (UUO). L'UUO est un bon modèle de fibrose rénale (Martínez-Klimova et al., 2019). La ligature de l'uretère, qui relie le rein à la vessie, bloque le flux urinaire, affecte le débit de filtration glomérulaire et induit une contrainte mécanique sur les cellules tubulaires. On observe alors une apoptose des cellules tubulaires, une augmentation du stress oxydatif, de l'inflammation et de la fibrose (Martínez-Klimova et al., 2019). Les quantités de COX-2 et de PGE2 sont augmentées dans le rein des souris après UUO (Nilsson et al., 2015; Luo et al., 2017). Les souris *Ptgs2*^{-/-} (COX-2) et *Ptges*^{-/-} (mPGES-1) sont plus sensibles à l'UUO. On observe une augmentation des dilatations tubulaires, de l'apoptose et de l'expression du marqueur de souffrance rénale *Kim1* dans les souris *Ptgs2*^{-/-} après UUO (Nilsson et al., 2015). Concernant les souris *Ptges*^{-/-}, on observe une augmentation de l'inflammation et de la fibrose (Luo et al., 2017). De plus, l'utilisation des agonistes d'EP2 et d'EP4 atténue le développement de la fibrose et de l'inflammation après UUO (Nakagawa et al., 2012; Jensen et al., 2019; Pan et al., 2022). De manière cohérente, les souris *Ptger4*^{-/-} (EP4) développent plus d'inflammation et de fibrose que les contrôles après UUO (Nakawaga et al., 2012). L'ensemble des études s'accorde donc à montrer l'effet bénéfique de la voie de la PGE2 dans le traitement de la fibrose et des lésions induites par l'UUO.

Diabète insipide. Comme décrit précédemment, le diabète insipide est causé par des variants dans les gènes *AVPR2* ou *AQP2*. Il est caractérisé par une diminution de la capacité des patients à réabsorber l'eau et à concentrer leurs urines (Bichet et al., 1993; van Os et Deen, 1998; Bichet, 2009). Les niveaux de COX-2 et PGE2 sont augmentés après induction du diabète insipide par traitement des souris au lithium (Rao et al., 2005). L'inhibition pharmacologique de COX-2 empêche le développement de la polyurie dans ce modèle, même dans les souris *Ptgs1*^{-/-} (COX-1), indiquant que seul COX-2 joue un rôle dans le déclenchement de la polyurie après traitement au lithium (Rao et al., 2005). Ce résultat a été confirmé par une autre étude utilisant des rats traités au lithium. La diminution de la polyurie est associée à une augmentation de NKCC2 et AQP2 et favorise la réabsorption du sodium et de l'eau (Kim et al., 2008a). Les récepteurs EP2 et EP4 jouent un rôle similaire à celui de l'AVP dans le CD et permettent de concentrer les urines. De manière cohérente, l'utilisation brève ou prolongée d'un agoniste d'EP4 améliore la polyurie, restaure l'osmolalité urinaire et diminue l'expansion du pelvis rénal dans les souris *Avpr2*^{-/-}, n'exprimant pas le récepteur V2R (Li et al., 2009). De plus, un agoniste d'EP2 permet d'augmenter la concentration des urines dans les rats traités avec un antagoniste de V2R (Olesen et al., 2011). Les effets bénéfiques de l'inhibition de COX-2 et des agonistes EP2/4

dans le cadre du diabète insipide peuvent sembler contre-intuitifs, mais découlent sûrement de l'action des autres PGs et de la balance d'activation de tous les récepteurs EPs par la PGE2.

Néphropathie diabétique. La néphropathie diabétique se développe chez certains patients diabétiques et est une conséquence micro-vasculaire des changements métaboliques provoqués par le diabète (Zoja et al., 2020). Cette maladie est principalement caractérisée par une atteinte glomérulaire et une protéinurie. Les souris *Ptger1^{-/-}* (EP1) développent moins de protéinurie, d'atteinte glomérulaire (hypertrophie, épaissement de la lame basale) et de fibrose que les contrôles dans deux modèles murins de néphropathie diabétique (Thibodeau et al., 2013). Le même résultat est obtenu avec un antagoniste d'EP1 dans un modèle de néphropathie diabétique chez le rat (Makino et al., 2002). L'utilisation d'un agoniste d'EP4 exacerbe la protéinurie et la fibrose (Mohamed et al., 2013). L'impact délétère de l'activation d'EP4 n'est en revanche pas observé dans les souris *IL-6^{-/-}*, signe qu'EP4 stimule la réponse inflammatoire dans un contexte de néphropathie diabétique (Mohamed et al., 2013). De plus, un antagoniste d'EP4 atténue la protéinurie dans un modèle chez le rat (Thieme et al., 2017). De manière intéressante, la même étude montre qu'un inhibiteur de COX-2 n'a aucun effet sur le développement de la pathologie. L'antagonisme d'EP1 et d'EP4 est donc une piste intéressante pour améliorer l'atteinte glomérulaire, la protéinurie et la fibrose dans la néphropathie diabétique.

Maladies rénales kystiques. L'activité de COX-1 et COX-2 est augmentée dans deux modèles rongeurs de NPHi, les souris *pcy/Nphp3* (Yamaguchi et al., 2014) et les rats *Anks6/Nphp16* (Sankaran et al., 2007). Une alimentation à base d'huile de lin diminue l'activité des COXs, réduit la fibrose interstitielle et la croissance des kystes dans les souris *pcy/Nphp3* (Sankaran et al., 2004; Yamaguchi et al., 2015). De plus, l'utilisation d'un inhibiteur de COX-2 diminue la fibrose interstitielle et les kystes dans les rats *Anks6/Nphp16* (Sankaran et al., 2007; Ibrahim et al., 2015). La diminution des kystes est en accord avec le rôle connu d'EP2 et d'EP4 dans la production d'AMPc, un messager secondaire augmentant la kystogénèse dans l'ADPKD (Sussman et al., 2020). *In vitro*, la stimulation d'EP2 et d'EP4 promeut d'ailleurs la kystogénèse via la production d'AMPc (Elberg et al., 2007; Lannoy et al., 2020). De manière cohérente, l'utilisation d'antagonistes spécifiques d'EP2 et d'EP4 dans le cadre de la polykystose rénale diminue le développement des kystes (Lannoy et al., 2020). Cependant, ils induisent une augmentation de la fibrose et de l'inflammation, ce qui aggrave

le phénotype global des souris (Lannoy et al., 2020). La pertinence de l'inhibition de la voie des PGs dans les maladies kystiques reste donc à définir.

Études chez l'Homme. La voie des PGs a déjà fait l'objet d'études cliniques chez l'Homme dans le cadre des maladies rénales chroniques. D'anciennes études montrent que les niveaux urinaires de PGE₂ sont augmentés dans les maladies rénales chroniques (Blum et al., 1981; Hommel et al., 1987). L'utilisation d'AINS permet de diminuer la polyurie chez des patients atteints du syndrome de Bartter (Nüsing et al., 2001) et du diabète insipide (Pattaragarn et Alon, 2003). Ils permettent également de diminuer le GFR et l'albuminurie dans la néphropathie diabétique (Hommel et al., 1987). Cependant, l'effet bénéfique des AINS semble être réduit à quelques pathologies, et leur utilisation prolongée peut causer des maladies rénales aiguës ou chroniques (Drozdal et al., 2021). L'administration de la PGE₁ en combinaison avec des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ralentit la progression vers l'IRT dans une cohorte de patients souffrant de maladies rénales chroniques diverses en comparaison à l'utilisation des inhibiteurs seuls (Nakayama et al., 2005). Cet effet positif n'est pas associé à une diminution de la protéinurie ou de la pression sanguine. Deux études montrent également un effet bénéfique de la PGE₁ chez des patients souffrant de néphropathie diabétique (Wang et al., 2010a; Li et al., 2018). La PGE₁ améliore l'oxygénation du rein des patients (Li et al., 2018). Contrairement aux études de Nakayama et al. et de Li et al., une diminution de la protéinurie est observée dans l'étude de Wang et al. (Wang et al., 2010a). Aucune donnée sur la progression vers l'IRT n'est cependant disponible. Contrairement à l'utilisation des AINS, aucun effet secondaire majeur n'a été observé avec la PGE₁.

c) Conclusion sur la voie de la PGE₂ dans le traitement des maladies rénales

Les effets de l'inhibition de COX-2, de la PGE_{1/2} et des agonistes/antagonistes des EPs sont parfois contre-intuitifs, et proviennent sûrement de l'action des autres PGs produites par COX-2 et de la balance d'activation des différents récepteurs EPs par la PGE₂. La PGE₂ présente une demi-vie courte. Ainsi, l'inhibition de la dégradation de la PGE_{1/2} par la 15-PGDH donne de meilleurs résultats chez la souris que le traitement par la PGE₁ ou la PGE₂ (Kim et al., 2021). Au vu des effets pléiotropiques de la PGE₂, l'utilisation d'agonistes/antagonistes spécifiques ainsi que le ciblage spécifique du rein permettraient de diminuer le risque d'effets secondaires. Pour ce dernier point, de nouvelles méthodes permettent d'améliorer la délivrance de la PGE₂ au rein, en la combinant par exemple à une

matrice de collagène (Chen et al., 2021b). De manière intéressante, et contrairement à l'utilisation des AINS, aucun effet secondaire majeur n'a été rapporté chez l'Homme ou dans les modèles murins après traitement à la PGE1 ou aux agonistes/antagonistes des EPs. La seule exception est l'étude de Lannoy et al. où les antagonistes d'EP2 et d'EP4 diminuent les kystes mais augmentent l'inflammation et la fibrose (Lannoy et al., 2020).

Pour conclure, les antagonistes d'EP1 et les agonistes d'EP2 sont des molécules thérapeutiques prometteuses dans le traitement des maladies rénales chroniques. En revanche, l'effet d'EP4 est plus complexe, parfois même au sein d'un même modèle expérimental, et EP3 n'a presque pas été étudié. Les résultats issus des essais cliniques de la PGE1 chez l'Homme sont encourageants quant à l'effet bénéfique de l'activation de la voie de la PGE2 dans le traitement des maladies rénales.

III. La PGE₂ et le cil

La PGE2 est une piste potentielle dans le traitement des maladies rénales fibrosantes comme la NPH. Elle a de plus un impact sur le cil primaire, un élément central dans les ciliopathies.

Poisson zèbre (ZF). Un lien entre le cil primaire et les PGs a été mentionné pour la première fois en 2014 (Jin et al., 2014). La lignée de ZF mutante *leakytail* développe un phénotype de ciliopathie, avec des défauts cardiaques, une courbure de l'axe du corps, des défauts de latéralité, une hydrocéphalie et des malformations des otolithes (composant de l'oreille interne). Les ZF *leakytail* possèdent une mutation dans le gène *abbc4*, un des transporteurs de la PGE2. L'injection de MO *abbc4* reproduit les phénotypes observés dans les embryons *leakytail*, et l'injection de l'ARNm d'*abbc4* restaure les phénotypes des ZF *leakytail*, prouvant la causalité de ce gène (Jin et al., 2014). L'inhibition de la voie de biosynthèse de la PGE2, avec des MO ou des molécules pharmacologiques, diminue la quantité de cellules rénales multi-ciliées dans le pronéphros et l'élongation des cils (Marra et al., 2019; Chambers et al., 2020). L'expression des gènes codant pour Cox-1 et Cox-2 dans les cellules progénitrices du pronéphros permet l'ancrage des corps basaux et ainsi leur différenciation en cellules multi-ciliées. En l'absence de Cox-1 et Cox-2, les progéniteurs deviennent des cellules mono-ciliées, responsables du transport des solutés (Marra et al., 2019). Les ZF mutants *ppargc1a* expriment moins *ptgs1* (Cox-1) et présentent moins de cellules rénales multi-ciliées et des cils plus courts. L'injection de l'ARNm de *ptgs1* restaure la

proportion de cellules rénales multi-ciliées et la longueur des cils (Chambers et al., 2020). Ces données montrent le rôle central de la PGE2 dans la formation du cil et le développement du pronéphros chez le ZF.

Mammifères. Le récepteur EP4 a été localisé au cil primaire dans les cellules épithéliales rénales mIMCD3 pour la première fois dans l'étude de Jin et al. précédemment mentionnée (Jin et al., 2014). L'étude montre que la PGE2 est exportée de la cellule par le transporteur ABBC4 et se fixe sur le récepteur EP4 au niveau du cil primaire. Il en résulte une augmentation de l'AMPC grâce à l'activité $G_{\alpha s}$ d'EP4. De manière cohérente avec l'effet positif de l'AMPC sur la ciliogenèse, l'activation d'EP4 augmente la ciliogenèse via une accélération du transport IFT antérograde. (Jin et al., 2014). Depuis ces travaux, plusieurs études ont montré la présence d'EP4 au niveau du cil ou de la base du cil *in vitro* dans d'autres types cellulaires (Li et al., 2021b; Wu et al., 2021). En revanche aucune localisation ciliaire n'a été démontrée pour EP1, EP2 et EP3. Confirmant les données obtenues dans les mIMCD3, une étude montre que la PGE2 augmente la ciliogenèse dans des cellules de l'épithélium de la rétine pigmentaire dérivées d'IPSCs, permettant leur maturation (May-Simera et al., 2018). De manière cohérente avec les données chez le ZF, les cellules des tubes neurales des embryons de souris *Ptger4*^{-/-} (EP4) ont des cils significativement plus courts, suggérant un rôle *in vivo* d'EP4 et de la PGE2 dans l'élongation des cils (Chambers et al., 2020; Ansari et al., 2022).

En plus de son effet sur la ciliogenèse et la longueur des cils, la voie PGE2 ciliaire participe à la signalisation cellulaire. L'activation du récepteur EP4 dans les mIMCD3 augmente la quantité d'AMPC et la kystogenèse de manière dépendante du cil (Hansen et al., 2022). De plus, la PGE2 permet un rétro-contrôle de la voie Hh dans les mIMCD3. Après liaison de Hh à Patched, Smo et GPR175 entrent dans le cil et inhibent la signalisation AMPC avec leur activité $G_{\alpha i}$, levant ainsi la répression sur les facteurs de transcription GLI (Singh et al., 2015). Cependant, la voie Hh augmente la production de PGE2, qui est transportée hors de la cellule par le transporteur ABBC4. L'activation du récepteur ciliaire EP4 stabilise la production d'AMPC grâce à l'activité $G_{\alpha s}$ d'EP4, et permet le maintien de la longueur du cil (Ansari et al., 2022). De manière cohérente, le cil primaire permet l'activation de la voie de la PGE2 dans d'autres types cellulaires pour médier une réponse cellulaire (Wann et al., 2012; Delaine-Smith et al., 2014; Li et al., 2020; Mc Fie et al., 2020; Li et al., 2021b). A titre d'exemple, les vibrations de faible magnitude à haute fréquence augmentent la

différentiation des ostéoblastes grâce à l'activation dépendante du cil de la voie de la PGE2 (Li et al., 2021b).

En conclusion, la PGE2 augmente la ciliogenèse et la longueur des cils, *in vitro* via la stimulation de l'AMPc, mais également *in vivo* chez le ZF et la souris. La PGE2 est également essentielle pour certaines voies de signalisation ciliaires.

RESULTATS

PARTIE 1 : Les agonistes des récepteurs à la prostaglandine E2 comme première approche potentielle dans le traitement de la Néphronophtise et les ciliopathies associées.

Préambule

Notre laboratoire travaille sur la NPH. Deux des principaux axes de recherche sont l'étude des mécanismes pathophysiologiques et l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques. En effet, bien que la NPH soit la première cause génétique d'IRT avant l'âge adulte, il n'existe aucun traitement permettant de ralentir la progression de la maladie et de repousser l'âge de la greffe. Le laboratoire a donc effectué un crible d'une banque de molécules approuvées par la FDA sur des lignées cellulaires (MDCK, mIMCD3) invalidées pour *Nphp1*, le gène le plus fréquemment muté dans la NPH. Ce crible a mis en lumière l'effet bénéfique d'un analogue de la PGE2, la PGE1. Cette molécule présente un effet bénéfique et robuste sur des cellules tubulaires provenant des patients *NPHP1* et présentant un défaut de ciliogenèse. Des agonistes ciblant certains des récepteurs à la PGE2 ont ensuite été validés dans les ZF *nphp4* et les souris *Nphp1*^{-/-} où ils ont montré un effet protecteur sur les phénotypes ciliaires, rénaux et rétiniens. Enfin, des études cellulaires et transcriptomiques ont permis de déterminer les voies de signalisation communes aux modèles *in vitro* et *in vivo* permettant d'expliquer les effets bénéfiques de la PGE1. Ces résultats placent les agonistes des récepteurs à la PGE2 comme première approche thérapeutique potentielle pour la NPH.



Agonists of prostaglandin E₂ receptors as potential first in class treatment for nephronophthisis and related ciliopathies

Hugo Garcia^{a,b,1}, Alice S. Serafin^{a,1}, Flora Silbermann^{a,1}, Esther Porée^a, Amandine Viau^a, Clémentine Mahaut^c, Katy Billot^a, Éléonore Birgy^a, Meriem Garfa-Traore^a, Stéphanie Roy^a, Salomé Ceccarelli^a, Manon Mehrzaz^a, Pamela C. Rodriguez^c, Béangère Deleglise^c, Laetitia Furio^c, Fabienne Jabot-Hanin^d, Nicolas Cagnard^d, Elaine Del Nery^e, Marc Fila^f, Soraya Sin-Monnot^c, Corinne Antignac^{a,g}, Stanislas Lyonnet^{g,h}, Pauline Krugⁱ, Rémi Salomon^{a,i}, Jean-Philippe Annereau^{c,j,2}, Alexandre Benmerah^{a,2}, Marion Delous^{a,2}, Luis Briseño-Roa^{c,j,2}, and Sophie Saunier^{a,2,3}

Edited by Robert Lefkowitz, Howard Hughes Medical Institute, Durham, NC; received August 30, 2021; accepted February 16, 2022

Nephronophthisis (NPH) is an autosomal recessive tubulointerstitial nephropathy belonging to the ciliopathy disorders and known as the most common cause of hereditary end-stage renal disease in children. Yet, no curative treatment is available. The major gene, *NPHP1*, encodes a protein playing key functions at the primary cilium and cellular junctions. Using a medium-throughput drug-screen in *NPHP1* knockdown cells, we identified 51 Food and Drug Administration-approved compounds by their ability to alleviate the cellular phenotypes associated with the loss of *NPHP1*; 11 compounds were further selected for their physicochemical properties. Among those compounds, prostaglandin E₁ (PGE1) rescued ciliogenesis defects in immortalized patient *NPHP1* urine-derived renal tubular cells, and improved ciliary and kidney phenotypes in our NPH zebrafish and *Nphp1* knockout mouse models. Furthermore, Taprenepag, a nonprostanoid prostaglandin E₂ receptor agonist, alleviated the severe retinopathy observed in *Nphp1*^{-/-} mice. Finally, comparative transcriptomics allowed identification of key signaling pathways downstream PGE1, including cell cycle progression, extracellular matrix, adhesion, or actin cytoskeleton organization. In conclusion, using in vitro and in vivo models, we showed that prostaglandin E₂ receptor agonists can ameliorate several of the pleotropic phenotypes caused by the absence of *NPHP1*; this opens their potential as a first therapeutic option for juvenile NPH-associated ciliopathies.

kidney | primary cilia | nephronophthisis | drug-screen | prostaglandins

Renal ciliopathies are a group of hereditary diseases caused by mutations in genes encoding proteins playing a role at the primary cilium, a microtubule-based cellular antenna found on almost all vertebrate quiescent cells, which controls key signaling pathways during development and tissue homeostasis (1). In the kidney, as well as in other organs, the primary cilium also acts as an essential mechanosensor through which luminal flow controls tubule diameter and renal epithelium maintenance, explaining the presence of tubular cysts in most renal ciliopathies. Renal ciliopathy spectrum includes autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD), autosomal recessive polycystic kidney disease, and cystic dysplasia, which are all characterized by enlarged kidneys with numerous cysts (2). It also encompasses nephronophthisis (NPH) that, on the other hand, is generally characterized by small kidneys and progressive tubulointerstitial fibrosis, associated with corticomedullary cysts, leading to end-stage renal disease (ESRD) at a median age of 13 y old. NPH is the first monogenic cause of pediatric ESRD, representing up to 10% of incident cases in developed countries (3, 4). Recent publications have demonstrated that NPH may also occur in adulthood, leading to late-onset ESRD (up to 61 y old) (5). Extrarenal involvements may include retinal degeneration (Senior-Løken syndrome), cerebellar ataxia, skeletal anomalies, and liver fibrosis (6).

To date, more than 23 genes have been linked with NPH, the most frequent being *NPHP1* with nearly 25% of affected individuals harboring a homozygous deletion of this gene. *NPHP* genes encode proteins that form different complexes along the cilium (7). Their mutations are not associated with a complete loss of cilia; they rather lead to subtle phenotypes, such as decreased proportion of ciliated cells, increased cilium length, and ciliary membrane composition defects, which result in defective cilia-dependent signaling (8–10). Besides cilium dysfunction, several NPH-associated gene products, including *NPHP1* and its partner *NPHP4*, have also been involved in the control of cell migration, adhesion and apico-basal cell epithelialization, through the regulation of cytoskeletal organization (8, 11–14).

Significance

Juvenile nephronophthisis (NPH) is a renal ciliopathy due to a dysfunction of primary cilia for which no curative treatment is available. This paper describes the identification of agonists of prostaglandin E₂ receptors as a potential therapeutic approach for the most common *NPHP1*-associated ciliopathies. We demonstrated that prostaglandin E₁ rescues defective ciliogenesis and ciliary composition in *NPHP1* patient urine-derived renal tubular cells and improves ciliary and kidney phenotypes in our NPH zebrafish and *Nphp1*^{-/-} mouse models. In addition, Taprenepag alleviates the severe retinopathy observed in *Nphp1*^{-/-} mice. Finally, transcriptomic analyses pointed out several pathways downstream the prostaglandin receptors as cell cycle progression, extracellular matrix, or actin cytoskeleton organization. Altogether, our findings provide an alternative for treatment of NPH.

The authors declare no competing interest.

This article is a PNAS Direct Submission.

Copyright © 2022 the Author(s). Published by PNAS. This open access article is distributed under Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives License 4.0 (CC BY-NC-ND).

¹H.G., A.S.S., and F.S. contributed equally to this work.

²J.-P.A., A.B., M.D., L.B.-R., and S.S. contributed equally to this work.

³To whom correspondence may be addressed. Email: sophie.saunier@inserm.fr.

This article contains supporting information online at <http://www.pnas.org/lookup/suppl/doi:10.1073/pnas.2115960119/-DCSupplemental>.

Published April 28, 2022.

To date, the only available treatments for NPH patients are dialysis and renal transplantation. As other chronic tubulointerstitial nephropathies characterized by the absence of hypertension or overt albuminuria (except in late stages of the disease), nonspecific nephroprotective treatments by renin-angiotensin system blockade did not delay progression to ESRD (15). Similarly, as enlarged cystic kidneys are uncommon in juvenile *NPHP1*-associated NPH, molecules developed to limit cyst growth in the context of ADPKD (16, 17)—such as the selective angiotensin-vasopressin type 2 (AVPR2) antagonist Tolvaptan, the CDK inhibitor Roscovitine, or the somatostatin-analog Octreotide—are unlikely to be relevant. Nevertheless, several other molecules were recently pointed out in vitro and in vivo NPH models including the Hedgehog agonist Purmorphamine, β -catenin inhibitors, ROCK inhibitors, or the flavonoid Eupatilin (4). On the other hand, even though gene therapy has been successfully implemented in early human retinal ciliopathies thanks to local administration of adeno-associated viruses (18), efficient gene therapy in NPH would rather represent a clinical challenge given the lack of effective administration modes for gene delivery in the kidney.

Here, after having performed in vitro screens of small chemical compounds for their ability to lessen phenotypes associated with the loss of *NPHP1*, we identified prostaglandin E₁ (PGE1) and other agonists of prostaglandin E₂ (PGE2) receptors as a class of molecules that restore ciliary defects in vitro as well as kidney and retina-associated phenotypes in vivo in both a zebrafish NPH model and *Nphp1* knockout (KO) mouse. Also, different transcriptomic approaches showed that these phenotypic restorations can be matched to the effects of these agonists on shared cellular pathways.

Results

Identification of Compounds Able to Rescue NPHP1-Associated Cellular Phenotypes. We designed an in vitro high-throughput phenotypic drug-screen strategy based on the Prestwick Chemical Library, a collection of 1,120 off-patent small molecules of which 95% are approved by the Food and Drug Agency, European Medicines Agency, or other agencies. The screen was performed on the two most widely used renal cell models to study ciliogenesis and ciliopathies—that is, the mouse inner medullary collecting duct (mIMCD3) and canine Madin-Darby canine kidney (MDCK) cells—in which the expression of *Nphp1* was knocked down (KD) through stable expression of short-hairpin RNA (NPHP1_KD).

NPHP1_KD mIMCD3 cells display impaired ciliogenesis with a decreased percentage of ciliated cells, as we previously reported for NPHP1_KD MDCK cells (8), as well as abnormally increased cell migration during wound-healing assays (*SI Appendix, Fig. S1 A–F*). Using fluorescence microscopy-based automated strategies (*SI Appendix, Fig. S1 G*), 51 hits were identified based on their ability to restore cell migration and cilium count defects in either mIMCD3 or MDCK NPHP1_KD cells. Hence, 11 compounds belonging to the different pharmacological classes were selected based on their effects on the analyzed phenotypes, on the absence of obvious toxicity (decrease cell count and/or inhibition of cell migration), and on their chemical action or physicochemical properties that may be relevant in NPH: known or suspected effects on cilium-associated pathways, actin cytoskeleton organization and microtubule polymerization, RhoGTPase activity, cAMP regulation, signaling pathways (e.g., JNK, ERK/MAPK, or Wnt), or their involvement in processes such as fibrosis-related pathways or nephroprotective properties (*SI Appendix, Fig. S1 G and Table S1*).

Rescue of Defective Ciliogenesis in NPHP1 Patients' Renal Cells by PGE1. The efficiency of the 11 most interesting hits was further validated in urine-derived renal epithelial cells (URECs), a valuable source of cells from NPH individuals, previously described as a model to study ciliogenesis and ciliary functions in the context of ciliopathies (19). Primary URECs were collected either from individuals carrying biallelic mutations in *NPHP1* (NPHP1, hereafter Pt1–11), from age-matched control individuals (CTL, hereafter CTL1–5), or from individuals presenting with a nonciliopathy-related chronic kidney disease (CKD, hereafter CKD1–4) (*SI Appendix, Table S2*), and were immortalized through the expression of a thermosensitive SV40 T-antigen. Transcriptomic analyses (*SI Appendix, Fig. S2 A*) showed that both primary and immortalized URECs exhibit similar expression levels of renal tubular epithelial cell markers, confirming their tubular origin. As expected, the immortalized URECs showed persistent proliferation at permissive temperature (33 °C) but not at nonpermissive temperature (39 °C), as monitored by the loss of SV40 T-antigen and Ki67 nuclear staining in the latter condition (*SI Appendix, Fig. S2 B–D*).

In order to evaluate ciliogenesis in immortalized URECs, we set up a semiautomated pipeline based on basal-body (γ -Tubulin) (Fig. 1A, red) and ciliary membrane (ARL13B) (Fig. 1A, green) markers to quantify cilium count. At nonpermissive temperature, URECs from *NPHP1* individuals presented a significant decrease of cilium count (Fig. 1B and *SI Appendix, Table S2*), which was associated with an increased proportion of cells presenting with two spots of CP110 per centrosome, indicative of an early blockage of ciliogenesis in *NPHP1* URECs (*SI Appendix, Fig. S3*).

Before assessing the effect of the 11 molecules on URECs, we evaluated the nontoxic range of doses at which they could be used (*SI Appendix, Table S1*). The highest nontoxic concentration, as well as 1-log and 2-log concentrations, were chosen to carry out the ciliogenesis assay on one of the *NPHP1* UREC (Pt1). A robust increase of cilium count was observed for Alprostadil (ALP; +1.53), a synthetic analog of the natural occurring PGE1, whereas the other compounds showed modest positive or negative effects on ciliogenesis (Fig. 1C). PGE1 (ALP) is a type-E prostaglandin analog which exerts various effects in inflammation, pain, vascular tone, or renal function, that are mainly mediated by its four receptors, EP1–4 encoded by *PTGER1–4* (20). Notably, EP1–4 receptors are expressed in the URECs, predominantly EP2 and EP4, as revealed by qRT-PCR analyses (*SI Appendix, Fig. S4 A*).

We first performed a dose–response analysis for ALP and determined the half maximal effective concentration (EC₅₀) at 13.75 nM, while the maximal effect on cilium count was observed for concentrations above 1 μ M (Fig. 2 A and B). Based on these results, the following experiments were performed using 2 μ M ALP. In addition, Dinoprostone (DINO), a synthetic version of the natural occurring PGE2, showed a similar effect as ALP (*SI Appendix, Fig. S4 B*), supporting the positive impact of prostanoids on cilia count in *NPHP1* URECs. The positive effect of ALP on ciliogenesis was observed in other *NPHP1* URECs (Pt3–4 and 6–11) but not in CTL, even in the one with a low proportion of ciliated cells (Fig. 2C and *SI Appendix, Fig. S4 C and D*), indicating its specific efficiency toward *NPHP1* URECs. It also showed a small but significant positive effect on CKD URECs, indicating that PGE1 could also ameliorate ciliogenesis in a different pathological context. Furthermore, beyond the restoration of ciliogenesis, ALP also restored ciliary composition with an increased

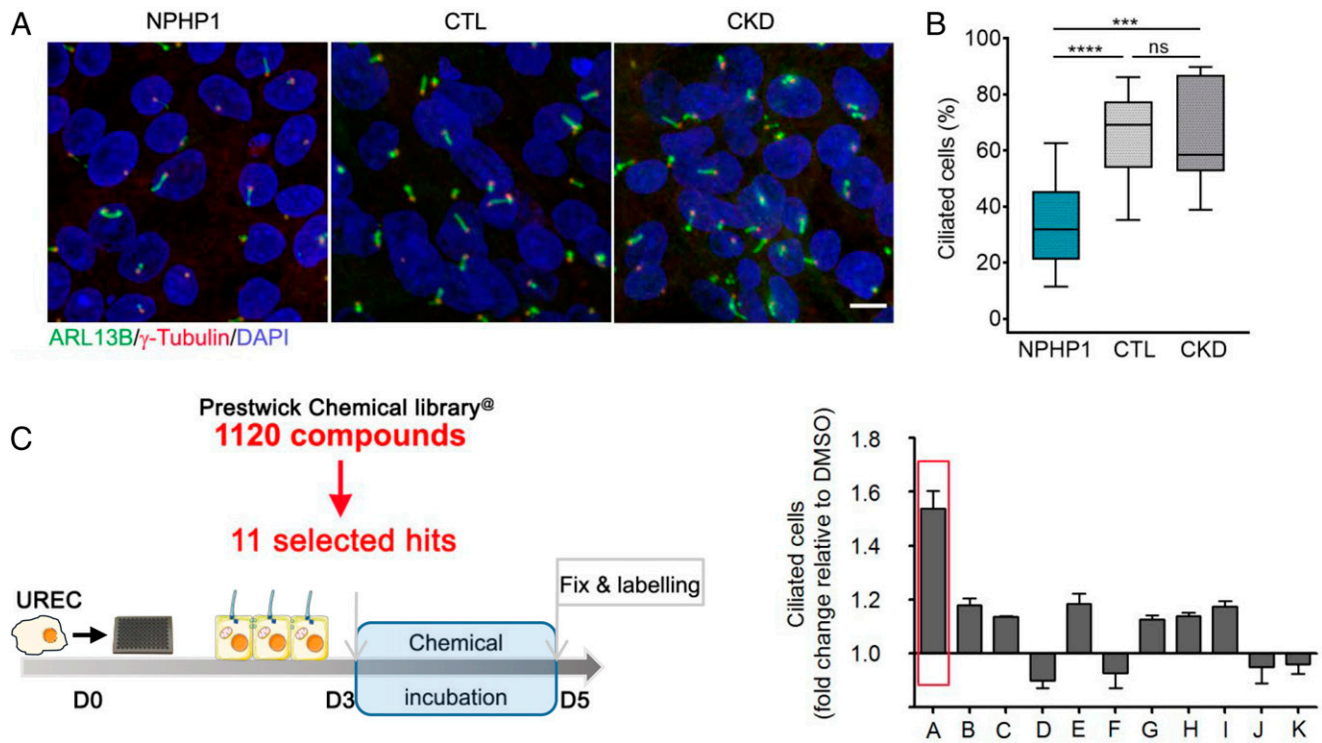


Fig. 1. Drug screen in *NPHP1* urine-derived renal epithelial cells (URECs). (A) Representative images of immunofluorescence of primary cilia (ARL13B, green), basal bodies (γ -Tubulin, red), and nuclei (DAPI, blue) in URECs derived from *NPHP1* patients (NPHP1), control individuals (CTL), and CKD patients 5 d after seeding. (Scale bar, 10 μ M.) (B) Quantification of ciliogenesis in NPHP1 ($n = 11$), CTL ($n = 6$), and CKD ($n = 5$) URECs expressed as the mean for all individuals and shown using a box-and-whisker plot. $n = 1$ to 15 experiments (mean of 3.5 experiments per cell line). Mixed linear-regression model with quasibinomial penalization taking into account the correlation of observations coming from the same individuals using a random effect on the cell line: $***P < 0.001$, $****P < 0.0001$, ns: not significant. (C, Left) *NPHP1* URECs (Pt1) were treated for 2 d with the 11 selected compounds from the primary screen and ciliogenesis was evaluated 5 d after seeding. (Right) Quantification of ciliogenesis. A: ALP, 200 nM; B: Cyproheptadine, 1 μ M; C: Ethopropazine, 50 nM; D: Fluticasone, 10 nM; E: Methotrexate, 400 nM; F: Mycophenolic acid, 200 nM; G: Paclitaxel, 100 pM; H: Pyrimethamine, 500 nM; I: Simvastatin, 10 nM; J: Tropicsetron, 2 μ M; K: Verapamil, 80 nM. Mean \pm SEM $n = 1$ to 2 experiments.

percentage of Adenylate Cyclase 3 (ADCY3)⁺ cilia, associated with an increased intensity of ciliary ADCY3 (Fig. 2 D–F).

Generation of an *Nphp1* KO Mouse Model Showing Severe Retinopathy and Renal Tubule Dilatation. One of our next aims was to test the therapeutic potential of PGE1 in a *Nphp1* mouse model. Since previously generated models were not reported to exhibit kidney phenotype (21, 22), we generated a *Nphp1* KO mouse using the CRISPR/Cas9 system, which harbors a deletion of the start codon within the first exon of *Nphp1* resulting in a complete loss of *Nphp1* mRNA and protein expression (SI Appendix, Fig. S5), similarly as observed in most *NPHP1* patients (23).

The *Nphp1*^{−/−} mice displayed a retinopathy (SI Appendix, Fig. S6), which was more severe than in the previously described *Nphp1* mutant mice (22, 24) with a drastic loss of photoreceptors observed as early as postnatal day (P)21 (SI Appendix, Fig. S6 A and B), associated with a complete loss of the scotopic response (SI Appendix, Fig. S6C).

Interestingly, histological examination of the kidneys revealed the presence of tubular dilatations in the cortex of *Nphp1*^{−/−} mice as early as 2 mo and more evidently at 5 mo of age (SI Appendix, Fig. S7 A–E). A strong association was observed between the number and size of dilatations per kidney, and the “dilatation index” values for these two parameters showed a progression of kidney damages between 2 and 5 mo (SI Appendix, Fig. S7 F–I). Despite the presence of tubular dilatations, renal function was not impaired in 5-mo-old *Nphp1*^{−/−} mice (SI Appendix, Fig. S7 J–M), indicating that our mouse

model recapitulates only the early stage of the renal disease, consistent with the juvenile form of the disease in humans.

Further characterization of these dilatations revealed that they mainly affect the connecting tubules (CNT) as well as the junction between the CNT and the distal convoluted tubules (DCT2) (SI Appendix, Fig. S8 A and B). Notably, in kidney biopsies from patients carrying homozygous deletion of *NPHP1*, tubular dilatations were observed in similar tubular segments as well as in the loop of Henlé (SI Appendix, Fig. S8C). These data pointed to a specific role for *NPHP1* in the homeostasis of the DCT/CNT region both in mice and humans.

In Vivo Validation of Prostaglandin-Related Molecule in Murine *Nphp1* KO Model and NPH Zebrafish Model. We next investigated whether treatment with the PGE1 analog ALP could have a positive effect on the number and size of tubular dilatations in 5-mo-old *Nphp1*^{−/−} mice. ALP was administered intraperitoneally (80 μ g/kg, i.p.) daily to 1-mo-old male *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{−/−} mice for 4 mo without any impact on growth or survival (SI Appendix, Fig. S9A). Histological analyses revealed that the number and total area of tubular dilatations were reduced in *Nphp1*^{−/−} mice by ALP treatment, resulting in a significant decrease in the dilatation index with a linear correlation (Fig. 3 A and B and SI Appendix, Fig. S9 B and C). In addition, measurements of cilium length showed that cilia were longer in the dilated regions of *Nphp1*^{−/−} mouse (Fig. 3 C and D and SI Appendix, Fig. S10A), as observed in other NPHP models (25). We also detected longer cilia in the kidney tubules from individuals with mutations in *NPHP1* (SI

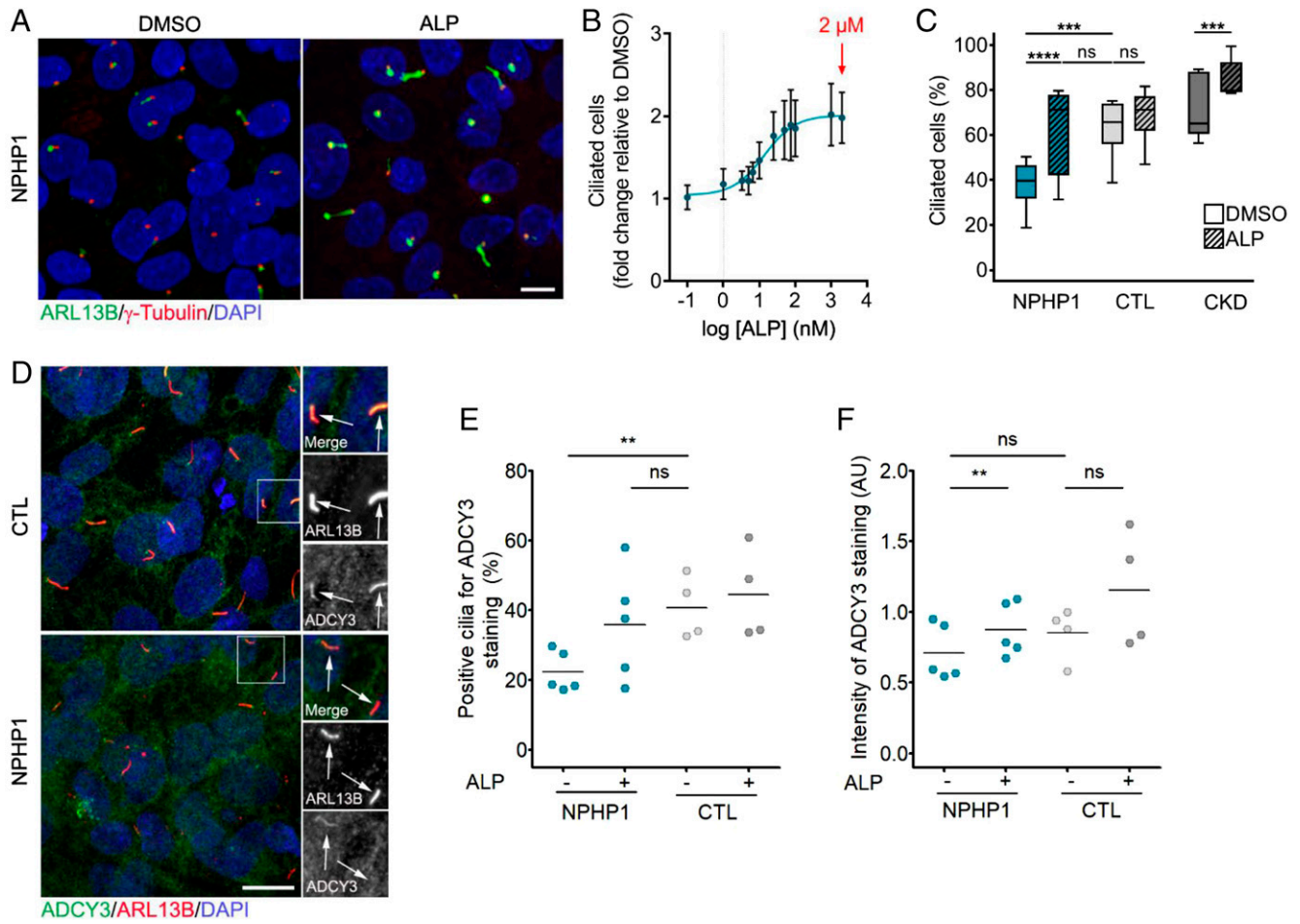


Fig. 2. Validation of prostaglandin signaling as a target in *NPHP1*-defective renal cells. (A) Representative images of immunofluorescence of primary cilia (ARL13B, green), basal bodies (γ -Tubulin, red), and nuclei (DAPI, blue) in *NPHP1* URECs 5 d after seeding treated for 2 d with DMSO (0.04%) or ALP (2 μ M). (Scale bars, 10 μ M.) (B) Quantification of ciliogenesis in one *NPHP1* UREC (Pt1) exposed for 2 d to increasing concentrations of ALP. Mean \pm SEM $n = 2$ to 4 experiments. Nonlinear regression. (C) Quantification of ciliogenesis in URECs derived from *NPHP1* patients (*NPHP1*, $n = 11$), CTL individuals ($n = 6$), and CKD patients ($n = 5$) exposed for 2 d to DMSO (0.04%) and ALP (2 μ M). Results are expressed as the mean for all individual categories and are shown using a box-and-whisker plot. $n = 1$ to 15 experiments per cell line (mean of 3.5 experiments per cell line). Mixed linear-regression model with quasibinomial penalization taking into account the correlation of observations coming from the same individuals using a random effect on the cell line: **** $P < 0.0001$, ns: not significant. (D) Representative images of immunofluorescence of ADCY3 (green), primary cilia (ARL13B, red), and nuclei (DAPI, blue) in *NPHP1* and CTL URECs. Arrows indicate ARL13B⁺ cilia. (Scale bars, 10 μ M.) (E and F) Quantification of the percentage of ADCY3⁺ cilia (E) and of the intensity of ADCY3 in those cilia (F) in *NPHP1* ($n = 5$) and CTL ($n = 4$) URECs 5 d after seeding treated for 2 d with DMSO (0.04%) or ALP (2 μ M). Each dot represents one individual cell line. Bars indicate mean. $n = 3$ experiments. Mixed linear-regression model with quasibinomial penalization (E), Mann-Whitney U test (*NPHP1* vs. CTL) and paired Student's t test (DMSO vs. ALP) (F): ** $P < 0.01$, ns: not significant. AU: arbitrary unit.

Appendix, Fig. S10 B and C). Notably, ALP treatment shortened cilia length in *Nphp1*^{-/-} mice to values similar to those in control mice (Fig. 3 C and D and SI Appendix, Fig. S10A).

Despite the fact that interstitial fibrosis is the main characteristic of *NPHP1*-associated NPH in humans (4), it was not obviously detected by histology in our mouse model. We performed qRT-PCR analysis of several profibrogenic markers in the kidneys of 5-mo-old *Nphp1*^{-/-} mice (Fig. 3E and SI Appendix, Fig. S11 A–E). Among those markers, expression of *Col1a1* was slightly increased in the kidneys of *Nphp1*^{-/-} mice and attenuated by ALP treatment (Fig. 3E). To gain further insights into the potential beneficial effect of PGE1, we realized a global unsupervised transcriptomic analysis of whole kidneys from control and *Nphp1*^{-/-} mice (Fig. 3F and SI Appendix, Fig. S11F). This analysis using the gene ontology (GO), Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), and DisGeNET, and Reactome datasets revealed that renal fibrosis disease concept (#C0151650) was significantly enriched in *Nphp1*^{-/-} kidneys ($P = 1.0E-10$), in addition to several other up-regulated pathways (SI Appendix, Fig. S11F and Dataset S1),

including extracellular matrix organization ($P = 1.7E-18$) and inflammation (response to cytokines, $P = 2.3E-07$). Furthermore, the up-regulation of most of these pathways was blunted by PGE1 treatment, together with additional ones, such as mitotic cell cycle ($P = 7.6E-07$) and DNA damage response ($P = 5.1E-04$) (Fig. 3F and Dataset S2), confirming its global beneficial effect on pathways known to be dysregulated in the context of NPH (4). Interestingly, some of the genes that did not show significant changes by qRT-PCR, were indeed found to be up-regulated in *Nphp1*^{-/-} mice (*Col3a1*: +1.54; *Acta2*: +1.26), with a beneficial effect of PGE1 treatment (*Col3a1*: +0.68; *Acta2*: +0.80).

Overall, these data showed that PGE1 treatment is able to attenuate the renal manifestations associated with the loss of *Nphp1*, including the formation/extension of tubular dilations, early up-regulation of fibrosis markers and extracellular matrix components, as well as abnormal cilia.

Along with the mouse model, the effect of prostaglandin-related analogs was further examined in zebrafish, a widely used model to study cilia function in context of ciliopathies (26).

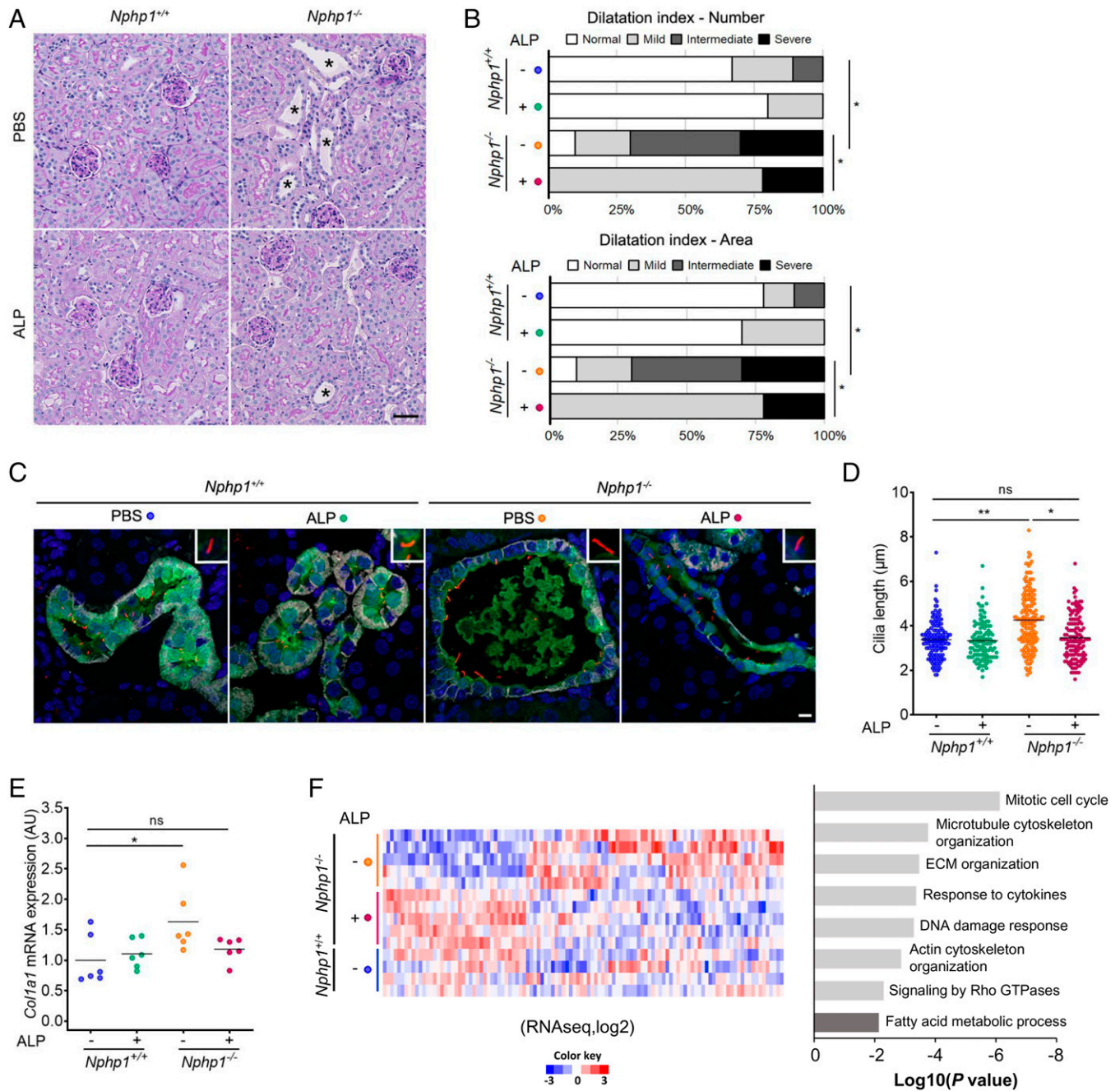


Fig. 3. In vivo validation of the effect of ALP treatment on *Nphp1*^{-/-} kidney. (A) Representative images of PAS staining of kidney sections from 5-mo-old *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} mice treated daily with vehicle (PBS) or ALP (80 µg/kg) from month 1 to month 5. (Scale bar, 50 µm.) An asterisk signifies tubular dilations. (B) Dilatation index for 5-mo-old *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} mice upon ALP treatment. (Upper) Dilatation index for the number of dilatation/10 µm² (cortex). (Lower) Total area covered by dilatations/cortex area. *n* = 9 to 10 male mice for each genotype/treatment. χ^2 test: **P* < 0.05. (C) Representative images of immunostaining of 5-mo-old *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} kidney sections upon ALP treatment with anti-Calbindin (CNT, green), anti-ARL13B (cilia, red), anti-Barttin (TAL, DCT, and CNT, gray) antibodies, and DAPI (nuclei, blue). (Scale bar, 5 µm.) (D) Quantification of cilium length in CNT and DCT2 of 5-mo-old *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} mice upon ALP treatment. *n* = 3 male mice for each genotype/treatment. Each dot represents one cilium. (E) qRT-PCR analysis of *Col1a1* expression from 5-mo-old *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} kidneys upon ALP treatment. Each dot represents one individual mouse. For D and E, bars indicate mean. One-way ANOVA followed by Holm-Sidak's posttest: **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ns: not significant. (F) Significantly differentially expressed genes (DEGs) detected by RNA-seq in 5-mo-old *Nphp1*^{-/-} mice upon ALP treatment. (Left) Heatmap of the 112 genes from the dataset of *Nphp1*^{+/+} (*n* = 4), *Nphp1*^{-/-} PBS (*n* = 5), and *Nphp1*^{-/-} ALP (*n* = 5) treated mice using signal log-ratio values. Each row represents a gene with up- (red) and down-regulated (blue) expression. (Right) Pertinent down- (light gray) or up-regulated (dark gray) pathways or processes involving these genes highlighted using Metascape. ECM, extracellular matrix; TAL, thick ascending limb of the loop of Henle.

We used the *nphp4* morpholino model, for which we and other have reported cysts in the proximal part of the pronephros, as well as ciliogenesis defects and defects in cloaca formation in its distal end (27, 28). This model is relevant as NPHP1 and NPHP4 play similar roles at the transition zone and cellular junctions; and their loss-of-function in patients, as well as in

other animal models, results in identical phenotypes (1, 2). In addition, EP receptors, in particular EP2 and EP4, are expressed in zebrafish pronephros (29). Treatments with PGE1 (ALP) or PGE2 (DINO) molecules resulted in a significant decrease in the proportion of *nphp4* morphants with severe pronephric cysts (SI Appendix, Fig. S12 A–C). ALP treatment also

reduced the proportion of *nphp4* morphants with cloacal dilata-tions (SI Appendix, Fig. S12D) and partially restored cilium length with a loss of significant difference between control and morphants upon treatment (SI Appendix, Fig. S12E). Overall, these results obtained in zebrafish provide evidence that PGE2 analogs can prevent dilata-tions of the renal tubules as well as ciliary defects in other in vivo models of NPH.

In addition to kidney, we investigated whether EP agonists could hamper retinal degeneration. Notably, EP2 is the most predominantly expressed PGE2 receptor in the eye (30) and the EP2 agonist Taprenepag has been previously used in the context of glaucoma in humans (31). In our *Nphp1*^{-/-} mouse model, the retinopathy was observed as early as P14 and a loss of light-detection capacity as early as P21 (SI Appendix, Fig. S6). Based on these results, Taprenepag was injected every 3 d (18 mg/kg, i.p.) from P6 to P21 without deleterious effect on body growth compared to Solutol-treated control mice (SI Appendix, Fig. S13). Treatment with the EP2 agonist led to a partial preservation of the outer nuclear layer of the photore-ceptor cells in *Nphp1*^{-/-} mice at P21 (Fig. 4 A and B) and to an improvement of the light-detection capacity of the photore-ceptors with an increased magnitude of *b*-wave on ERG (Fig. 4 C and D).

Altogether, these results indicate that treatment with prosta-landin agonists could partially prevent both renal and retinal ciliopathy-related phenotypes.

Molecular Analysis of PGE1 Treatment in URECs. Our last aim was to better understand the mechanism underlying the benefi-cial effect of PGE1 on ciliogenesis. qRT-PCR analyses showed URECs mostly express EP2 and EP4 (SI Appendix, Fig. S4A),

which are both coupled to *Gαs* and stimulate cAMP produc-tion through activation of adenylate cyclases (AC) in response to agonist stimulation (20). Accordingly, treatment with ALP increased cAMP production in URECs to a level similar to that of forskolin (SI Appendix, Fig. S14A) and increased the phos-phorylation of protein kinase A (PKA) substrates (SI Appendix, Fig. S14 B and C). Interestingly, EP4 agonists or increased cAMP production with the AC activator forskolin exert positive effects on ciliogenesis through stimulation of intraflagellar transport (32, 33). Taken together, these results show that ALP treatment activates the cAMP pathway in URECs, which may explain the improved ciliogenesis in *NPHP1* conditions. Accordingly with this statement, forskolin treatment showed a similar positive effect on ciliogenesis as that observed with ALP (SI Appendix, Fig. S14 D and E). Finally, in agreement with the down-regulation of cell cycle progression in PGE1-treated kidneys (Fig. 3F), treatment of kidney tubular cells with PGE1 was shown to increase the expression of p27kip1 (34, 35), a key positive regulator of quiescence and ciliogenesis (36–38), which was reported to be positively regulated by cAMP (39). Indeed, treatment of *NPHP1* URECs with PGE1 significantly increased the proportion of p27kip1⁺ nuclei (SI Appendix, Fig. S14 F and G), which likely contributes to its positive effect on ciliogenesis.

In order to identify additional functional downstream signal-ing pathways associated with the positive effects of PGE1 in *NPHP1* models, we performed comparative transcriptomic profiling analysis in *NPHP1* URECs. First, we performed transcriptomics analysis in *NPHP1* URECs (Pt1) exposed to either DMSO or 2 μM ALP under the same conditions as for ciliogenesis assays and identified 457 differentially expressed

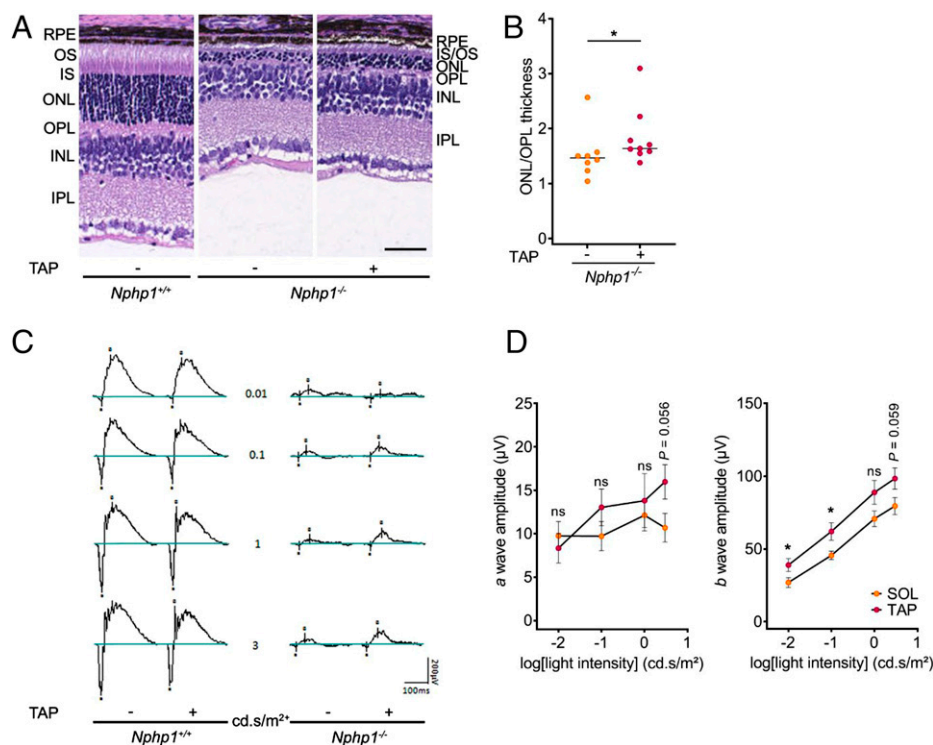


Fig. 4. Effect of Taprenepag, an EP2 agonist, on the *Nphp1*^{-/-}-associated retinopathy. (A) Representative images of H&E staining of retina sections from P21-old *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} mice treated every 3 d with vehicle (5% Solutol) or Taprenepag (18 mg/kg) from P6 to P21. (Scale bar, 50 μm.) (B) Quantification of ONL/OPL thickness ratio in retinas from P21 *Nphp1*^{-/-} mice treated with vehicle (*n* = 8) or Taprenepag (*n* = 9). Each dot represents one mouse. Bars indicate mean. (C) Scotopic ERG recordings of P21-old *Nphp1*^{+/+} or *Nphp1*^{-/-} retinas upon vehicle or Taprenepag treatment. (D) Quantification of scotopic *a*- (Left) and *b*-wave (Right) amplitude versus stimulus intensity (log) in P21 *Nphp1*^{-/-} mice treated by vehicle (SOL, *n* = 6) or Taprenepag (*n* = 7). Mann-Whitney *U* test: **P* < 0.05, ns: not significant. Dots indicate mean ± SEM. INL, inner nuclear segment; IPL, inner plexiform layer; IS, inner segment; ONL, outer nuclear segment; OPL, outer plexiform layer; OS, outer segment; RPE, retinal pigmented epithelium; SOL, Solutol; TAP, Taprenepag.

protein-coding genes (150 up-regulated, 307 down-regulated). In parallel, we employed RNA-sequencing (RNA-seq) analysis on *NPHP1* URECs (including Pt2 and Pt8) and control lines (including CTL5 and CTL8), and revealed 2,259 dysregulated genes in absence of *NPHP1*. We then compared the two gene lists and identified 128 dysregulated genes in *NPHP1* URECs (31 genes down-regulated and 97 up-regulated) that were inversely modulated upon ALP treatment (Fig. 5A and Dataset S3).

Pathway enrichment analysis using the GO, KEGG, and Reactome datasets revealed that, in agreement with the analysis of the *Nphp1*^{-/-} mice kidneys (Fig. 3F and SI Appendix, Fig. S11F), the 128 dysregulated genes were predominantly involved in the regulation of actin cytoskeleton ($P = 1.0E-06$), focal adhesion ($P = 7.9E-06$), extracellular matrix–receptor interaction ($P = 2.5E-06$), and integrin cell surface interactions ($P = 4.7E-05$). In addition, several pathways crucial for mitochondrial function commonly impaired in CKDs were also modulated, including positive regulators of fatty acid oxidation (FAO; $P = 4.4E-04$) (40) and the response to hypoxia ($P = 9.1E-07$) (41). Several dysregulated genes were also associated with renal fibrosis, including the renal profibrotic factors *GREM1* and *THBS1* (42, 43), as well as negative regulators of the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway (*DEPTOR*) (44) or cyclic AMP signaling (*PDE7*, *PKIA*, *ANX3*), consistent with known signaling pathways downstream of EPs (45) and with our observations. Furthermore, in agreement with the positive effect of ALP on ciliogenesis, 65 of the 457 ALP-regulated genes were found to be cilium-related (Fig. 5B and Dataset S4). Among those 65 genes, *ABLIM3* encoding an actin modulator, which negatively regulates ciliogenesis (46), was down-regulated after PGE1 treatment, whereas *ATOH8*, encoding an homolog of the positive regulator of ciliogenesis ATOH1 (47, 48), was up-regulated.

To validate our transcriptomic analyses, we then selected 11 dysregulated genes belonging to the main pathways/cellular processes identified, including genes associated with cell adhesion (*LAMC2*, *ITGA2*), renal fibrosis (*THBS1*, *HAS3*, *LAMC2*, *ITGA2*), regulation of cAMP (*PKIA*), mTOR (*DEPTOR*), and FAO (*CPT1A*, *PGC1A*), as well as potential modulators of ciliogenesis (*ABLIM3*, *ATOH8*). qRT-PCR analyses in several *NPHP1* URECs confirmed the effect of ALP treatment on both the up- and down-regulation of most of the genes tested (Fig. 5C). Those results showed that, similarly as in *Nphp1*^{-/-} mouse kidneys, PGE1 treatment down-regulated expression of almost all extracellular matrix components, integrin signaling, and actin cytoskeleton regulators. The up-regulation of Rho GTPase activity, which could be linked to a global up-regulation of actin and adhesion-related processes, was evidenced in several ciliopathy conditions and was involved in the associated ciliary defects (49). Notably, we confirmed that PGE1 treatment also decreased the amount of active RhoA in *NPHP1* URECs (Fig. 5D).

Altogether, our results suggest that a prostaglandin compound would be able to restore ciliary and profibrogenic pathway in *NPHP1*-deficient cells through modulation of cell cycle progression, actin, adhesion, and extracellular matrix cues (Fig. 5E).

Discussion

There is approximately less than 5% of treatment available for the more than 7,000 orphan diseases so far identified, most of which have genetic causes (50). The work presented here exemplifies the principle of identification of small

pharmacological molecules to compensate genetic defects as a source for potential therapeutic agents. A phenotypic screening strategy using a reference kidney cell line derived from an *NPHP1* patient led to the rapid hit identification of a prostaglandin (PGE1, ALP) that reverted whole-locus *NPHP1* deletion-associated ciliary phenotypes, an effect confirmed using a panel of *NPHP1* patient-derived cell lines. In vivo, PGE1 lessened the renal phenotypes observed in both NPH zebrafish model and novel *Nphp1* KO murine model. In addition, another PGE2 receptor agonist (Taprenepag) with an orthogonal chemical structure ameliorates the severe retinopathy found in *Nphp1*^{-/-} mice.

Although ciliary defects observed in the different *NPHP1* in vitro and in vivo models are variable, they are all rescued by PGE1 treatment. Our present and past analyses consistently indicate that the loss of *NPHP1* in kidney epithelial cells results in decreased ciliogenesis, which was linked to epithelialization delay in MDCK grown in two-dimensional conditions (8). It is noteworthy that when *NPHP1*_KD MDCK cells are grown in three-dimensions (spheroids), cilia get longer, as similarly observed in vivo in the kidneys of both *Nphp1*^{-/-} mice and patients. As for NPH zebrafish and other ciliopathy models, ciliogenesis is decreased and cilia are shorter in the distal pronephros (26). Importantly, the length of primary cilia depends on various factors, including microtubule and actin cytoskeleton dynamics, epithelialization, and signaling pathways such as ROS, mTOR, cAMP, and cell cycle, which may be differentially regulated in different tissues and altered in NPH models (1, 4). This diversity of processes that influence ciliogenesis and cilium length could explain why, depending on the cellular or animal models, we observed different ciliary phenotypes.

Thus, the decreased ciliogenesis observed in vitro in *NPHP1*-deficient kidney tubular cells grown in standard culture conditions is a robust proxy, which led to the identification of PGE1 as a molecule that restores ciliogenesis defects in all other NPH models.

Several studies support the principle of our findings linking PGE2 receptor stimulation to ciliogenesis, which is mediated by downstream cAMP signaling (32, 33). Interestingly, ciliopathies associated with mutations in *NPHP* or *IFT* genes have been independently linked to a down-regulation of cAMP/PKA signaling associated with a decrease of ciliary localization of ADCY3 (9, 10, 51). In addition, increasing cAMP using forskolin was shown to ameliorate cilium count and length in *CEP290*-defective fibroblasts (10). In our study, we show that PGE1 treatment rescues ciliogenesis as well as the percentage of ADCY3⁺ cilia in *NPHP1* URECs, and that this effect is linked to downstream cAMP production.

While the positive effect of EPs/cAMP on ciliogenesis was previously linked to a stimulation of intraflagellar transport (32, 33), our data also point to additional contributors. As reported for PGE2 (34, 35), we showed that PGE1 treatment increased the proportion of cells expressing p27kip1, a main positive regulator of quiescence (G₀), a stage of the cell cycle during which ciliogenesis occurs (37). The expression of p27kip1 is tightly controlled during the cell cycle but mainly at the protein level by ubiquitin-dependent degradation (52), explaining why it did not appear in our various transcriptomic analyses. Interestingly, negative regulators of p27Kip1, such as CKS1B (53), were down-regulated (+0.69) along with cell cycle progression pathways upon PGE1 treatment in *Nphp1*^{-/-} kidneys. As p27kip1 is also a negative regulator of Rho GTPases (54), its increased expression might therefore contribute to the inhibition of RhoA activation observed upon PGE1

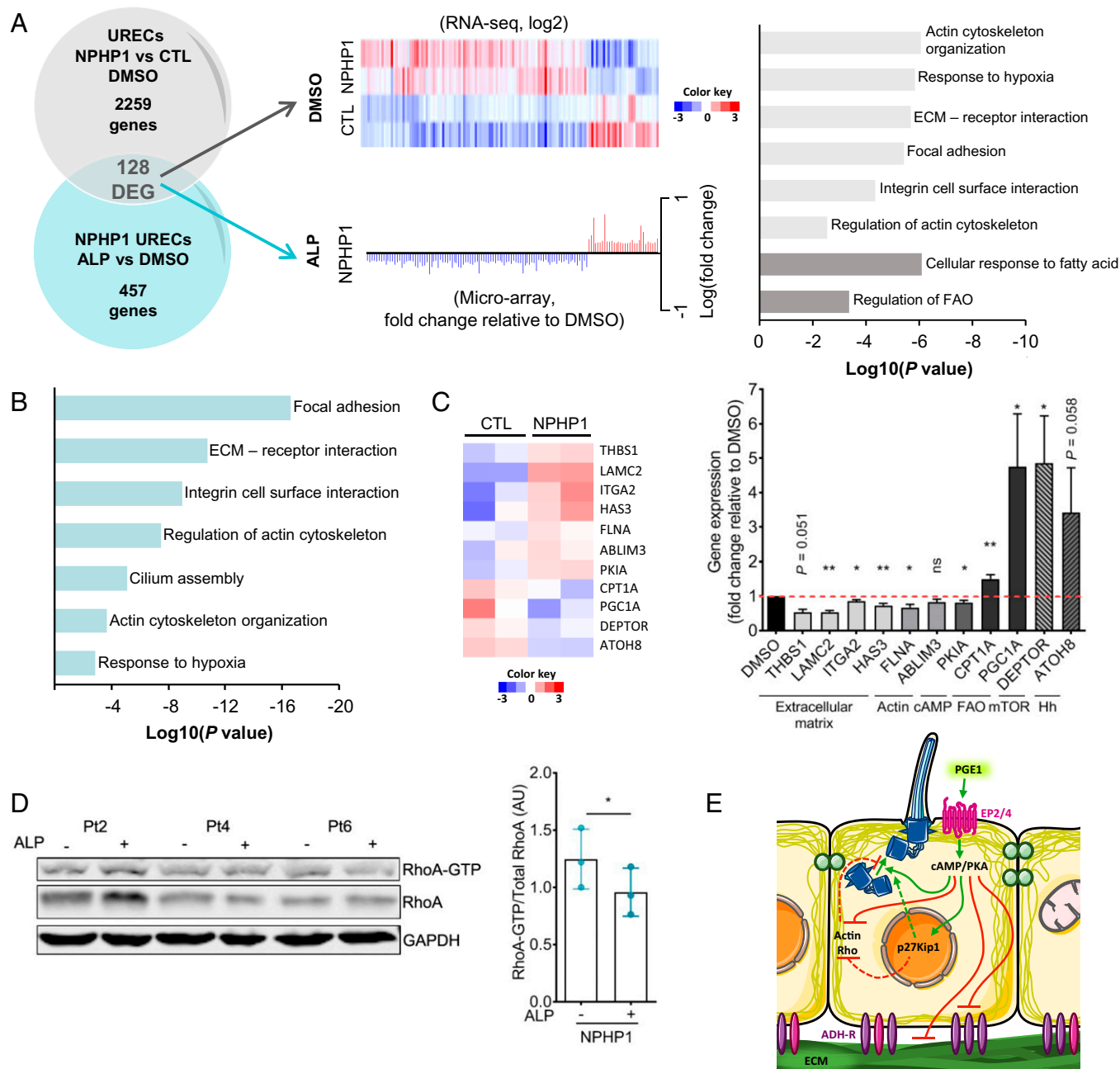


Fig. 5. Transcriptomic analyses of molecular targets upon ALP treatment in *NPHP1* URECs. (A, Left) Venn diagram shows the number of significantly DEGs detected by microarray in URECs derived from *NPHP1* patients (*NPHP1*) and CTL individuals upon ALP treatment versus DMSO (457 regulated genes) in comparison to the number of dysregulated genes detected by RNA-seq in *NPHP1* vs. CTL URECs (2,259 regulated transcripts). The 128 genes regulated by ALP inversely modulated in *NPHP1* URECs (128 DEG) are underlined. (Center, Upper) Heatmap of the 128 DEGs from the RNA-seq dataset of *NPHP1* ($n = 2$) and CTL ($n = 2$) URECs using signal log ratio values. Each row represents a gene with up- (red) and down-regulated (blue) expression. (Center, Lower) Fold-change and normalized expression of the 128 DEGs in one *NPHP1* UREC (Pt1) selected from the microarray dataset. $n = 3$ experiments. (Right) Pertinent down- (light gray) or up-regulated (dark gray) pathways or relevant processes involving these genes were highlighted using Metascape. (B) Pertinent pathways or processes involving ciliary modulators dysregulated in *NPHP1* URECs upon ALP treatment were highlighted using Metascape. (C, Left) Heatmap of 11 selected genes of the 128 DEGs from RNA-seq dataset of *NPHP1* versus CTL URECs. (Left) qRT-PCR validating the positive effect of ALP treatment on the expression of the 11 selected dysregulated genes in *NPHP1* URECs ($n = 5$). Paired Student's *t* test: $**P < 0.01$, $*P < 0.05$, ns: not significant. Bars indicate mean \pm SEM. $n = 2$ experiments. Hh: Hedgehog. (D, Left) Representative image of Western blot analysis showing the activation of RhoA in *NPHP1* URECs (Pt, $n = 3$) after 24 h of treatment with DMSO (0.04%) or ALP (2 μ M). (Right) Quantification of the relative abundance of RhoA-GTP in *NPHP1* URECs. Each dot represents one individual cell line. Mean \pm SEM. $n = 3$ experiments. (E) Pathways regulated by ALP/PGE1 in URECs. ADH-R, adhesion receptors. (C and D) Paired Student's *t* test: $**P < 0.01$, $*P < 0.05$, ns: not significant.

treatment together with modulation of the extracellular matrix/adhesion pathways (see below). In summary, our data, together with previously published studies, indicate that the robust and strong positive effect of PGE1 on ciliogenesis in *NPHP1* cells is the consequence of convergent pathways downstream of prostaglandin E2 receptors.

Besides the direct positive impact of EP receptor-mediated cAMP signaling on ciliogenesis, other prostaglandin-dependent pathways or cellular processes are susceptible to also modulate ciliation. It is now well documented that actin cytoskeleton contractility and extracellular matrix rigidity are major determinants of ciliogenesis (55, 56). Interestingly, fibrosis and

thickening of the basal membrane surrounding kidney tubules are two main characteristics of the *NPHP1*-associated juvenile form of NPH. In agreement with these pathological observations, our transcriptomic analyses showed that renal fibrosis disease was one of the main up-regulated pathways in *Nphp1*^{-/-} mice kidneys and that extracellular matrix organization (collagens, LAMC2), actin-cytoskeleton regulation, and integrin were among the most enriched GO terms up-regulated in both URECs and *Nphp1*^{-/-} mice kidneys. Strikingly, PGE1 treatment had a beneficial effect on these profibrotic pathways, as well as on other processes, including cell cycle progression.

In accordance with our results, EP2 and EP4 activation was described to exert antifibrotic properties in several models of kidney fibrosis (57, 58), and was shown to play a major role in the differentiation of myofibroblasts and expression of extracellular matrix proteins (59). Altogether, our results suggest that the *NPHP1*-deficient background (KO mice and URECs) is sensitive to PGE1 treatment, which, in addition to its positive effects on ciliogenesis, has a protective effect on profibrotic gene expression and renal lesions.

Conclusion. Our results stress that PGE2/EP signaling is likely to tackle NPH-associated phenotypes through a convergent mode of actions, including direct effects on cilia linked to cAMP signaling but also indirect effects through cell cycle and adhesion/matrix regulation also relevant to counteract the up-regulation of profibrotic genes observed in the pathological context. These combined effects are likely to explain the beneficial impact of agonists of PGE2 receptors observed on cilia, in vitro (URECs) and in vivo (kidney, retina), as well as on renal tubule dilatation. These restoration effects on preclinical *NPHP1*-associated manifestations offer exciting new potential therapeutic targets. Finally, this study provides evidence for a potential use of a small-molecule-based therapy in the specific context of the *NPHP1* locus deletion-associated NPH, the most frequent form of NPH. More importantly, our study demonstrates that phenotype changes induced by a complete locus deletion are amenable to be reversed, and they can be functionally complemented with an indirect therapeutic molecular point of intervention using small molecules.

Materials and Methods

Human URECs. Patients and control individuals were recruited at Necker Hospital in the frame of the approved NPH_1 protocol and urine samples were collected upon written informed consent and anonymized together with personalized data. URECs were isolated from urine collected from patients suffering from NPH carrying biallelic *NPHP1* mutations, healthy age-matched donors, and patients suffering from ciliopathy-unrelated CKD (stages 2 to 5) (*SI Appendix, Table S2*). URECs were cultured as previously described (60) with the following modifications. Briefly, peeled renal tubular epithelial cells were cultured in primary medium (DMEM/F12, 10% FBS, 100 U/mL penicillin, 100 mg/mL streptomycin, amphotericinB, 1× REGM SingleQuots [CC-4127, Lonza]) in six-well plates at 37 °C in 5% CO₂, and medium (0.5 mL) was renewed every 24 h. At 96 h, the medium was replaced by proliferation UREC medium (REBM Basal Medium [CC-3191, Lonza], 1× REGM SingleQuots, 10 ng/mL rhEGF [R&D system], 2% FBS certified [Invitrogen]). At 80% confluence, cells were trypsinized (TrypsinE select, Invitrogen) and plated in 12-well plates (2 × 10⁴ cells). After 24 h, cells were transduced by retroviral gene transfer of thermosensitive SV40 T antigen (LOX-CW-CRE, Addgene) at a multiplicity of infection of 5 with 8 μg/mL polybrene (61). After 24 h, medium was changed and cells were grown at permissive temperature (33 °C).

Antibodies. The following antibodies were used: ADCY3 (1/100^e; Invitrogen, PA5-35382), ARL13B (1/800^e; ProteinTech, 17711-1-AP), Barttin (1/400^e; Santa Cruz, sc365161), Calbindin D-28K (1/500^e; Novus, NBP2-50028SS), GAPDH

(1/1,000^e; Millipore, MAB374), γ-Tubulin (1/5,000^e; Sigma, T6557), PKAS (1/1,000^e; Cell Signaling, 9624), RhoA (1/1,000^e; Cytoskeleton, ARH05). Secondary Alexa-conjugated secondary antibodies were from Invitrogen.

Immunofluorescence-Based Assays in URECs.

Cell culture and compound treatments. For ciliogenesis assays, URECs (10⁵ cells per well) were seeded in 96-well glass microplates (Sensoplates, Greiner) at 39 °C. For other immunofluorescence experiments, URECs (4 × 10⁵ cells per well) were seeded in 24-well plates at 39 °C. On the third day of culture, cells were incubated for 48 h in the presence of the compounds, all dissolved in DMSO (0.04 to 0.1%).

Immunofluorescence. Cells were fixed after 1 to 5 d of culture in either cold methanol for 5 min or either with 4% PFA for 20 min, quenched in 50 mM NH₄Cl, and permeabilized 15 min with 0.1% Triton if fixed with 4% PFA, then treated 30 min with PBS, 0.1% Tween 20, 3% BSA, before being incubated 1 h with primary antibodies, and then 1 h with appropriate fluorescent secondary antibody and DAPI (1/2,000^e; Thermo Fisher Scientific, 62247).

Data acquisition, quantification, and analysis. For ciliogenesis assays, images were acquired using the Opera Phenix (40×, Perkin-Elmer). Automated acquisition of 41 z-stack per well was performed. The number of ciliated cells was measured using a semiautomated analysis using Harmony software (Perkin-Elmer). Briefly, images were analyzed using the building blocks approach to detect in this order, nuclei (DAPI staining) and, with a 20-pixel enlarged region, the basal body (γ-Tubulin signal), and the primary cilia (ARL13B staining). With conventional filters (intensity, size, and so forth), the software segmented candidate primary cilium. Hundreds of phenotypic parameters were calculated for every candidate cilium using signal enhancement ratio texture (intensity patterns) and advanced STAR morphology parameters (distribution of either texture features or fluorescence intensities inside a region of interest). Using the Phenologic machine-learning option of Harmony, the parameters best suited to discriminate cilia were defined and used to obtain final detection and counting.

For other assays, confocal images were acquired using a Spinning Disk microscope (40× or 63×, Zeiss). All quantifications were performed using ImageJ software.

RNA Extraction for Transcriptomic Analyses. URECs were seeded in ciliogenesis conditions: primary cells were seeded (2 × 10⁴ cells per well) in 2 wells of 12-well plates and incubated 1 wk at 37 °C; immortalized patients and controls cells were seeded (10⁵ cells per well) in 8 wells of 96-well glass microplates at 39 °C and incubated for 4 d. To evaluate the impact of ALP treatment on transcriptome, cells were incubated for 24 h on the third day of culture with DMSO or 2 μM of ALP. Kidneys from control and *Nphp1*^{-/-} mice, treated or not treated with PGE1, were lysed in RLT buffer using the T18 digital ULTRA-TURRAXX (Ika). Total mRNA was isolated using an Extraction Mini Kit (Qiagen) following the recommendations of the manufacturer.

RNA-seq Analysis. For each sample, 50-million read pair-end sequencing was performed on NovaSeq. 6000 Illumina. FASTQ files were mapped to the ENSEMBL [Human(GRCh38/hg38)/Mouse GRCh38/mm10] reference using Hisat2 and counted by featureCounts from the Subread R package (<http://www.r-project.org/>). Read-count normalizations and group comparisons were performed by the Deseq2 statistical method. Flags were computed from counts normalized to the mean coverage. All normalized counts <20 were considered as background (flag 0) and ≥20 as signal (flag = 1). P50 lists used for the statistical analysis regroup the genes showing flag = 1 for at least half of the compared samples. The results were filtered at $P \leq 0.05$ and fold-change 1.2 for URECs and 1.1 for mice kidneys. Cluster analysis was performed by hierarchical clustering using the Spearman correlation similarity measure and ward linkage algorithm. Heatmaps were made with the R package ctc: Cluster and Tree Conversion, and imaged by Java Treeview software (Java Treeview, extensible visualization of microarray data) (62). Functional analyses were carried out using Metascape (<http://metascape.org/>).

qRT-PCR Analysis. Total RNA was reverse-transcribed using SuperScript II Reverse Transcriptase (LifeTechnologies) according to the manufacturer's protocol. qRT-PCR was performed with iTaq Universal SYBR Green Supermix (Bio-Rad) on the ViiA 7 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific). Each biological replicate was measured in technical duplicates. The primers used for quantitative real-time PCR are listed in *SI Appendix, Table 3*.

Mice Experiments.

Generation of *Nphp1*^{-/-} mice by CRISPR/Cas9. *Nphp1*^{-/-} mice were generated using a CRISPR/Cas9 system, as previously described (63). Guide RNAs targeting exon1 of *Nphp1* were designed using CRISPOR (crispor.tefor.net/). Single-guide RNA and Cas9 protein (TACGEN) were injected into the pronucleus of the C57BL/6J zygotes. All exonic off-targets were tested to ascertain absence of undesired mutations. Two founders carrying indel mutations were backcrossed with C57BL/6J mice and the *Nphp1*^{+/-} offspring were further confirmed by PCR genotyping with appropriate primers. We focused on the mouse line carrying a 73-bp deletion (c.-33_40del) in exon1 encompassing the ATG.

Treatment of mice with prostaglandin receptor agonists. For kidney experiments, ALP (80 µg/kg) or PBS were administered intraperitoneally daily to 1-mo-old *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} male mice for 4 mo. For retina experiments, Taprenepag (18 mg/kg) or Solutol (5%) were administered intraperitoneally every 3 d from P6 to P21 to *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} male and female mice.

Histology and immunohistochemistry. Kidneys and eyes were fixed overnight at 4 °C in 4% PFA and embedded in paraffin. The retinal and kidney structures were assessed by H&E and periodic acid Schiff staining of 4-µm sections, respectively. For immunofluorescence, after paraffin removal and antigen retrieval treatment (10 mM Tris pH9, 1 mM EDTA, 0.05% Tween 20, 87 °C, 50 min), sections were blocked with PBS, 0.1% Tween 20, 1% BSA for 1 h and incubated overnight at 4 °C with the indicated primary antibodies. After two washes, sections were incubated for 1 h with appropriate secondary antibodies and DAPI. Confocal images were acquired using a Spinning Disk microscope (40× or 63×, Zeiss). Count and area of kidney dilatations and cilia length was measured using ImageJ. Retina layer thickness was measured with QuantaCell's custom scripts.

Dilatation index. In order to quantify more accurately the severity of the disease, a dilatation index, taking into account the dilatation number and dilatation size, was established. For each calculated ratio—the 1) dilatation surface area to cortex area and 2) dilatation number to cortex area—a score was defined as follows: score = 1 (no lesions) for all values between zero and the third quartile of all values for *Nphp1*^{+/+}; score = 2 (mild) for all values between score 1 and the median value for *Nphp1*^{-/-}; score = 3 (intermediate) for all values between score 2 and the third quartile of all values for *Nphp1*^{-/-}; and score = 4 (severe) for all values above score 3. Scores are protocol-specific and calculated based on all the animals included in the protocol.

Electroretinography. For electroretinography, 21-d-old mice were dark-adapted overnight before the experiments and anesthetized (intraperitoneal ketamine [66.7 mg/kg] and xylazine [11.7 mg/kg]). Eyes were exorbitated with neosynephrine and the pupils were dilated with mydriatic eye drops. The reference electrode was placed under the back skin, just above the tail, and the measuring electrodes on the cornea on which a drop of ophthalmic gel was added (Lacrigel, Europhial). For the scotopic electroretinograms, the flash duration varied from 3 to 5 ms, with the final flash output ranging from 0.001 to 3 cd-s/m². Responses were amplified, filtered, digitized, and *a*- and *b*-waves were measured (CelerisTM Diagnosys Espion Visual Electrophysiology System).

For mice studies, all image analyses and quantifications were done blinded.

Active RhoA Pull-Down Assay. Cells were incubated during 15 min with 0.04% DMSO or 2 µM ALP. RhoA-GTP was measured using the RhoA Pull-down Activation Assay Biochem Kit (BK036, Cytoskeleton) following the recommendations of the manufacturer. Briefly, cell lysates were incubated with 50 µg of GST-tagged Rhotekin-RBD beads for 1 h at 4 °C. Lysates and precipitates were run on polyacrylamide gels (12%) under reducing conditions and analyzed by Western blotting using indicated primary antibodies (RhoA, GAPDH) and the Odyssey CLx imaging system (LI-COR Biosciences). Active RhoA was normalized to total RhoA, which was itself normalized on GAPDH using Image Studio Lite software (LI-COR Biosciences).

Statistics. Statistical calculations were performed with R or GraphPad Prism v8. Figure representation was performed using GraphPad Prism v8 and is presented as dot plots or box-and-whisker plots. The Shapiro-Wilk test was used to test the normality. Differences between two groups that do not meet the normal distribution were compared using two-tailed Mann-Whitney *U* test. If not possible or if the two groups meet the normal distribution, differences were compared using unpaired two-tailed Student's *t* test. When comparing more than two groups, a one-way ANOVA followed by Holm-Sidak's multiple comparisons test was used. To analyze the effect of ALP treatment on ciliogenesis or ADCY3⁺ cilia staining in

cells coming from the same individuals, we used a mixed linear-regression model with quasibinomial penalization (R software: qlmmPQL function of MASS package), taking into account the correlation of observations coming from the same individuals using a random effect on the cell line. To analyze the effect of ALP treatment in cells coming from the same individuals, we used a paired two-tailed Student's *t* test. To compare the correlation between two parameters, we used a Pearson's test. To determine if there is a significant difference between two proportions, we used Fisher's exact test. To determine if there is a significant difference between more than two proportions, we used a χ^2 test. *P* < 0.05 was considered statistically significant. Statistical tests and exact sample sizes used to calculate statistical significance are stated in the figure legends.

Study Approval.

Human studies. The NPH_1 protocol on the research of therapeutic targets in the frame of NPH and renal-associated ciliopathies has been approved by the French National Committee for the Protection of Persons under the ID-RCB no. 2016-A00541-50 and is kept in full accordance with the principles of the Declaration of Helsinki and Good Clinical Practice guidelines. The human renal biopsies belonging to the Imagine Biocollection are declared to the French Minister of Research under the number DC-2020-3994 and this biocollection was approved by the French Ethics Committee for Research at Assistance Publique-Hôpitaux de Paris under the Institutional Review Board registration no. 00011928.

Animal studies. All animals were handled in strict accordance with good animal practice as defined by the national animal welfare bodies, and all animal procedures were performed in accordance with protocols approved by the ethical committee of the Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et de l'Innovation (APAFIS#22608-2018042715366694 v4).

Data Availability. The datasets generated are available in the ArrayExpress database at the European Molecular Biology Laboratory-European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI), <https://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/> (accession nos. E-MTAB-11582 (64), E-MTAB-11593 (65), E-MTAB-11594 (66), and E-MTAB-11595 (67)). All other study data are included in the main text and supporting information.

ACKNOWLEDGMENTS. We thank the patients and their families for their participation; Olivia Boyer, Aurélie Hummel, and Guillaume Lezmi (Pediatric Nephrology, Necker Enfants Malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France), Amélie Lezmi Ryckewaert and Sophie Taque (Pediatric Hematology and Oncology, Hôpital Universitaire, Rennes, France), Odile Boespflug-Tanguy (Centre de Compétence des Leucodystrophies et Leucoencéphalopathies de Cause Rare, Pôle Femme et Enfant, Hôpital Estaing, Centre Hospitalier Universitaire de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France), and Jérôme Harambat and Brigitte Llanas (Department of Pediatrics, Bordeaux University Hospital, Bordeaux, France) who helped with the follow-up of patients; the Department of Clinical Research (Salma Kotti, Elisabeth Hulier-Ammar) at Imagine Institute with the sponsorship team (Didier Beudin, Olivier Freund, Isabelle Buffet, Haizia Hammoudi, Ahlam Ramdani, Nicholas Renaud) that facilitates and structures the set-up of the clinical research projects, and the investigation team (Pauline Touche, Marc Melesan, Aurélie Jospin, Joséphine Cornet, Kenza Bensari, Maxime Douillet) that prepares and ensures the follow-up of the clinical trials; Romain Marlange and Nicolas Doulet (Innovation & Technology Transfer Department, Imagine Institute), who helped us to establish the collaboration with industrial partners Alexion and Medetia; Cécile Jeanpierre for critical reading of the manuscript; the Biophenics core facilities (Curie Institute, Paris), in particular Aurianne Lescure for her technical assistance; the zebrafish, mice, transgenesis, histology, and imaging facilities of Structure Fédérative de Recherche Necker, especially Pierre David for his help in establishing the *Nphp1* knockout CRISPR-Cas mouse model, and Nicolas Cagnard (Bioinformatics Platform, Imagine Institute) for his help on RNA-sequencing analysis; Victor Racine (QuantaCELL) for the design of the semiquantitative analysis of zebrafish body curvature and retina layers thickness; Xavier Gérard and Jean-Michel Rozet (Imagine Institute) for their precious and helpful advice for phenotypic analysis of retinal degeneration; and Michael Perricone, who initiated the collaboration between the Imagine Institute and Alexion. This work was supported by INSERM, the Ministère de l'Éducation Nationale de la Recherche et de la Technologie, by a State funding from the Agence Nationale de la Recherche (ANR) under the "Investissements d'avenir" program (ANR-10-IAHU-01), and by a public grant "RHU-C'IL-LICO" overseen by the ANR as part of the second "Investissements d'avenir" program

(ANR-17-RHUS-0002). We acknowledge the Imagine Institute for the purchase of Leica SP8 STED and Zeiss Spinning Disk microscopes, and the Fondation ARC (EML20110602384) for the purchase of the Leica SP8 confocal microscope.

Author affiliations: ^aLaboratory of Hereditary Kidney Disease, Imagine Institute, Université Paris Cité, INSERM UMR 1163, 75015 Paris, France; ^bDepartment of Nephrology, Groupe Hospitalier Sorbonne Université, 75013 Paris, France; ^cAlexion R&D France, Imagine Institute, 75015 Paris, France; ^dBioinformatic platform, Imagine Institute, 75015 Paris, France; ^eBioPhenics High-Content Screening Laboratory, Cell and Tissue Imaging Facility, Translational Research Department, Institut Curie, Paris Science and Letters Research University, 75248 Paris, France; ^fPediatric Nephrology Unit, Arnaud de Villeneuve Hospital, Montpellier University Hospital, Centre de Référence Maladies Rénales Rares and Institut Genomique Fonctionnelle, INSERM UMR 5203

1. J. F. Reiter, M. R. Leroux, Genes and molecular pathways underpinning ciliopathies. *Nat Rev Mol Cell Biol* **18**, 533–547 (2017).
2. D. A. Braun, F. Hildebrandt. Ciliopathies. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **9**, a028191 (2017).
3. R. Salomon, S. Saunier, P. Niaudet. Nephronophthisis. *Pediatr. Nephrol.* **24**, 2333–2344 (2009).
4. M. F. Stokman, S. Saunier, A. Benmerah. Renal ciliopathies: Sorting out therapeutic approaches for nephronophthisis. *Front. Cell Dev. Biol.* **9**, 653138 (2021).
5. R. Snoek *et al.*, NPHP1 (Nephrocystin-1). *J. Am. Soc. Nephrol.* **29**, 1772–1779 (2018).
6. J. König *et al.*, Phenotypic spectrum of children with nephronophthisis and related ciliopathies. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **12**, 1974–1983 (2017).
7. L. Sang *et al.*, Mapping the NPHP-BTBS-MKS protein network reveals ciliopathy disease genes and pathways. *Cell* **145**, 513–528 (2011).
8. M. Delous *et al.*, Nephrocystin-1 and nephrocystin-4 are required for epithelial morphogenesis and associate with PALS1/PATJ and Par6. *Hum. Mol. Genet.* **18**, 4711–4723 (2009).
9. A. A. Bizet *et al.*, Mutations in TRAF3IP1/IFT54 reveal a new role for IFT proteins in microtubule stabilization. *Nat. Commun.* **6**, 8666 (2015).
10. E. Molinari *et al.*, Targeted exon skipping rescues ciliary protein composition defects in Joubert syndrome patient fibroblasts. *Sci. Rep.* **9**, 10828 (2019).
11. T. Benzing *et al.*, Nephrocystin interacts with Pyk2, p130Cas, and tensin and triggers phosphorylation of Pyk2. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **98**, 9784–9789 (2001).
12. J. C. Donaldson, R. S. Dise, M. D. Ritchie, S. K. Hanks, Nephrocystin-conserved domains involved in targeting to epithelial cell-cell junctions, interaction with filamins, and establishing cell polarity. *J. Biol. Chem* **277**, 29028–29035 (2002).
13. I. R. Veland, *et al.*, Inversin/Nephrocystin-2 is required for fibroblast polarity and directional cell migration. *PLoS One* **8**, e60193 (2013).
14. V. Hernandez-Hernandez, *et al.*, Bardet-Biedl syndrome proteins control the cilia length through regulation of actin polymerization. *Hum. Mol. Genet.* **22**, 3858–3868 (2013).
15. F. Locatelli, L. Del Vecchio, A. Cavalli, Inhibition of the renin-angiotensin system in chronic kidney disease: A critical look to single and dual blockade. *Nephron. Clin. Pract.* **113**, c286–c293 (2009).
16. V. E. Torres *et al.*, Tolvaptan in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *N. Engl. J. Med.* **367**, 2407–2418 (2012).
17. H. Husson, *et al.*, Reduction of ciliary length through pharmacologic or genetic inhibition of CDK5 attenuates polycystic kidney disease in a model of nephronophthisis. *Hum. Mol. Genet.* **25**, 2245–2255 (2016).
18. J. W. B. Bainbridge *et al.*, Long-term effect of gene therapy on Leber's congenital amaurosis. *N. Engl. J. Med.* **372**, 1887–1897 (2015).
19. E. Molinari *et al.*, Human urine-derived renal epithelial cells provide insights into kidney-specific alternate splicing variants. *Eur. J. Hum. Genet.* **26**, 1791–1796 (2018).
20. R. Nasrallah, R. Hassouneh, R. L. Hébert, Chronic kidney disease: Targeting prostaglandin E₂ receptors. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* **307**, F243–F250 (2014).
21. S.-T. Jiang *et al.*, Targeted disruption of Nphp1 causes male infertility due to defects in the later steps of sperm morphogenesis in mice. *Hum. Mol. Genet.* **17**, 3368–3379 (2008).
22. C. M. Louie *et al.*, AHI1 is required for photoreceptor outer segment development and is a modifier for retinal degeneration in nephronophthisis. *Nat. Genet.* **42**, 175–180 (2010).
23. S. Saunier *et al.*, Characterization of the NPHP1 locus: Mutational mechanism involved in deletions in familial juvenile nephronophthisis. *Am. J. Hum. Genet.* **66**, 778–789 (2000).
24. S.-T. Jiang *et al.*, Essential role of nephrocystin in photoreceptor intraflagellar transport in mouse. *Hum. Mol. Genet.* **18**, 1566–1577 (2009).
25. S. A. Ramsbottom, *et al.*, Targeted exon skipping of a CEP290 mutation rescues Joubert syndrome phenotypes in vitro and in a murine model. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **115**, 12489–12494 (2018).
26. Z. Song, X. Zhang, S. Jia, P. C. Yelick, C. Zhao, Zebrafish as a model for human ciliopathies. *J. Genet. Genomics* **43**, 107–120 (2016).
27. C. Burcklé, *et al.*, Control of the Wnt pathways by nephrocystin-4 is required for morphogenesis of the zebrafish pronephros. *Hum. Mol. Genet.* **20**, 2611–2627 (2011).
28. K. Slanchev, M. Pütz, A. Schmitt, A. Kramer-Zucker, G. Walz, Nephrocystin-4 is required for pronephric duct-dependent cloaca formation in zebrafish. *Hum. Mol. Genet.* **20**, 3119–3128 (2011).
29. S. J. Poureetezadi, C. N. Cheng, J. M. Chambers, B. E. Drummond, R. A. Wingert, Prostaglandin signaling regulates nephron segment patterning of renal progenitors during zebrafish kidney development. *eLife* **5**, e17551 (2016).
30. S. Biswas, P. Bhattacharjee, C. A. Paterson, Prostaglandin E₂ receptor subtypes, EP1, EP2, EP3 and EP4 in human and mouse ocular tissues—A comparative immunohistochemical study. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **71**, 277–288 (2004).
31. R. A. Schachar, S. Raber, R. Courtney, M. Zhang, A phase 2, randomized, dose-response trial of taprenepag isopropyl (PF-04217329) versus latanoprost 0.005% in open-angle glaucoma and ocular hypertension. *Curr. Eye Res.* **36**, 809–817 (2011).
32. D. Jin *et al.*, Prostaglandin signalling regulates ciliogenesis by modulating intraflagellar transport. *Nat. Cell Biol.* **16**, 841–851 (2014).
33. T. Y. Besschetnova *et al.*, Identification of signaling pathways regulating primary cilium length and flow-mediated adaptation. *Curr. Biol.* **20**, 182–187 (2010).
34. R. Nasrallah *et al.*, Prostaglandin E₂ increases proximal tubule fluid reabsorption, and modulates cultured proximal tubule cell responses via EP1 and EP4 receptors. *Lab. Invest.* **95**, 1044–1055 (2015).
35. H. L. May-Simera *et al.*, Primary cilium-mediated retinal pigment epithelium maturation is disrupted in ciliopathy patient cells. *Cell Rep.* **22**, 189–205 (2018).
36. Y. Komatsu, V. Kaartinen, Y. Mishina, Cell cycle arrest in node cells governs ciliogenesis at the node to break left-right symmetry. *Development* **138**, 3915–3920 (2011).
37. I. Izawa, H. Goto, K. Kasahara, M. Inagaki, Current topics of functional links between primary cilia and cell cycle. *Cilia* **4**, 12 (2015).
38. H. Yukimoto *et al.*, A novel CDK-independent function of p27^{Kip1} in preciliary vesicle trafficking during ciliogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **527**, 716–722 (2020).
39. D. C. New, Y. H. Wong, Molecular mechanisms mediating the G protein-coupled receptor regulation of cell cycle progression. *J. Mol. Signal.* **2**, 2 (2007).
40. L. Console *et al.*, The link between the mitochondrial fatty acid oxidation derangement and kidney injury. *Front. Physiol.* **11**, 794 (2020).
41. A. Faivre, C. C. Scholz, S. de Seigneux, Hypoxia in chronic kidney disease: Towards a paradigm shift? *Nephrol. Dial. Transplant.* **36**, 1782–1790 (2020).
42. R. H. Church *et al.*, Gremlin 1 plays a key role in kidney development and renal fibrosis. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* **312**, F1141–F1157 (2017).
43. J. E. Murphy-Ullrich, Thrombospondin 1 and its diverse roles as a regulator of extracellular matrix in fibrotic disease. *J. Histochem. Cytochem.* **67**, 683–699 (2019).
44. C. Wang *et al.*, Loss of DEPTOR in renal tubules protects against cisplatin-induced acute kidney injury. *Cell Death Dis.* **9**, 441 (2018).
45. Y. Li *et al.*, Prostaglandins in the pathogenesis of kidney diseases. *Oncotarget* **9**, 26586–26602 (2018).
46. J. Cao *et al.*, miR-129-3p controls cilia assembly by regulating CP110 and actin dynamics. *Nat. Cell Biol.* **14**, 697–706 (2012).
47. N. Schroeder, M. Wuelling, D. Hoffmann, B. Brand-Saberi, A. Vortkamp, Atoh8 acts as a regulator of chondrocyte proliferation and differentiation in endochondral bones. *PLoS One* **14**, e0218230 (2019).
48. C.-H. Chang *et al.*, Atoh1 controls primary cilia formation to allow for SHH-triggered granule neuron progenitor proliferation. *Dev. Cell* **48**, 184–199.e5 (2019).
49. C. E. L. Smith, A. V. R. Lake, C. A. Johnson, Primary cilia, ciliogenesis and the actin cytoskeleton: A little less resorption, a little more actin please. *Front. Cell Dev. Biol.* **8**, 622822 (2020).
50. R. E. Pogue *et al.*, Rare genetic diseases: Update on diagnosis, treatment and online resources. *Drug Discov. Today* **23**, 187–195 (2018).
51. J. Halbritter, *et al.*, Defects in the IFT-B component IFT172 cause Jeune and Mainzer-Saldino syndromes in humans. *Am. J. Hum. Genet.* **93**, 915–925 (2013).
52. M. Pagano *et al.*, Role of the ubiquitin-proteasome pathway in regulating abundance of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27. *Science* **269**, 682–685 (1995).
53. W. Shi *et al.*, CKS1B as drug resistance-inducing gene—a potential target to improve cancer therapy. *Front. Oncol.* **10**, 582451 (2020).
54. A. Besson, M. Gurian-West, A. Schmidt, A. Hall, J. M. Roberts, p27^{Kip1} modulates cell migration through the regulation of RhoA activation. *Genes Dev.* **18**, 862–876 (2004).
55. M. Failler *et al.*, Whole-genome screen identifies diverse pathways that negatively regulate ciliogenesis. *Mol. Biol. Cell* **32**, 169–185 (2021).
56. L. Brückner, V. Kretschmer, H. L. May-Simera, The entangled relationship between cilia and actin. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **129**, 105877 (2020).
57. S. Vukicevic, *et al.*, Role of EP2 and EP4 receptor-selective agonists of prostaglandin E₂ in acute and chronic kidney failure. *Kidney Int.* **70**, 1099–1106 (2006).
58. M. S. Jensen, *et al.*, Activation of the prostaglandin E₂ 2nd receptor attenuates renal fibrosis in unilateral ureteral obstructed mice and human kidney slices. *Acta Physiol.* **227**, e13291 (2019).
59. K. Li *et al.*, The roles of various prostaglandins in fibrosis: A review. *Biomolecules* **11**, 789 (2021).
60. H. Ajzenberg *et al.*, Non-invasive sources of cells with primary cilia from pediatric and adult patients. *Cilia* **4**, 8 (2015).
61. P. Salmon *et al.*, Reversible immortalization of human primary cells by lentivector-mediated transfer of specific genes. *Mol. Ther.* **2**, 404–414 (2000).
62. A. J. Saldanha, Java Treeview—Extensible visualization of microarray data. *Bioinformatics* **20**, 3246–3248 (2004).
63. E. Ucuucu *et al.*, MINPP1 prevents intracellular accumulation of the chelator inositol hexakisphosphate and is mutated in Pontocerebellar Hypoplasia. *Nat. Commun.* **11**, 6087 (2020).
64. H. Garcia *et al.*, Transcriptional analysis of the effect of Alprostadil on NPHP1 URECs. ArrayExpress. <https://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/experiments/E-MTAB-11582>. Deposited 15 March 2022.
65. H. Garcia *et al.*, Transcriptional analysis of NPHP1 URECs. ArrayExpress. <https://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/experiments/E-MTAB-11593>. Deposited 15 March 2022.
66. H. Garcia *et al.*, Transcriptional analysis of Nphp1-/- KO mouse model kidneys. ArrayExpress. <https://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/experiments/E-MTAB-11594>. Deposited 14 March 2022.
67. H. Garcia *et al.*, Transcriptional analysis of Nphp1-/- KO mouse model kidneys in response to Alprostadil treatment. ArrayExpress. <https://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/experiments/E-MTAB-11595>. Deposited 14 March 2022.

Supplementary table 1: List of the 11 compounds selected amongst the 51 hits of the *in cellulo* drug screen. The molecules were chosen based on their mode of action, toxicity and physicochemical properties.

| | Name | Class | Pertinent Effect(s) | Toxicity threshold | | | Safe concentrations |
|----------|------------------------------|---|---|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------|
| | | | | Inhibition of proliferation | Apoptotic bodies | Permeabilized cells | |
| A | Alprostadil | Synthetic prostaglandin | TGF- β inhibitor, decreased cilia beat, actin & RhoA inhibitor, canonical Wnt agonist | $\geq 40\mu\text{M}$ | None up to $80\mu\text{M}$ | $\geq 80\mu\text{M}$ | $< 40\mu\text{M}$ |
| B | Cyproheptadine hydrochloride | First-generation H1 antihistamine | CyclinD2 expression inhibitor, decreased cilia beat, apoptosis inhibitor | $\geq 5\mu\text{M}$ | $\geq 20\mu\text{M}$ | $\geq 40\mu\text{M}$ | $< 5\mu\text{M}$ |
| C | Ethopropazine hydrochloride | Muscarinic receptor antagonist | Autophagy | $\geq 10\mu\text{M}$ | $\geq 80\mu\text{M}$ | $\geq 80\mu\text{M}$ | $< 10\mu\text{M}$ |
| D | Fluticasone propionate | Corticosteroid | Decreased cilia beat, Smo agonist | NA* | $\geq 40\mu\text{M}$ | NA* | $< 40\mu\text{M}$ |
| E | Methotrexate | Antimetabolite | Actin stress fibers disassembly | None up to $80\mu\text{M}$ | None up to $80\mu\text{M}$ | None up to $80\mu\text{M}$ | Up to $80\mu\text{M}$ |
| F | Mycophenolic Acid | Inosine monophosphate dehydrogenase inhibitor | JNK activator, MAPK/NF- κB inhibitor | None up to $80\mu\text{M}$ | $\geq 40\mu\text{M}$ | None? | $< 40\mu\text{M}$ |
| G | Paclitaxel | Spindle poison | Microtubule depolymerization inhibitor | $\geq 10\text{nM}$ | $\geq 100\text{nM}$ | $\geq 100\text{nM}$ | $< 10\text{nM}$ |
| H | Pyrimethamine | Antiprotozoal | STAT3 inhibitor | $\geq 10\mu\text{M}$ | None up to $80\mu\text{M}$ | $\geq 20\mu\text{M}$ | $< 10\mu\text{M}$ |
| I | Simvastatin | HMG CoA Reductase inhibitor | RhoGTPases inhibition, actin modulation | $\geq 1\mu\text{M}$ | $\geq 1\mu\text{M}$ | $\geq 1\mu\text{M}$ | $< 1\mu\text{M}$ |
| J | Tropisetron hydrochloride | Serotonin 5-HT3 receptor antagonist | JNK inhibitor, increased tight-junction formation, antifibrotic (skin) | $\geq 40\mu\text{M}$ | $\geq 80\mu\text{M}$ | None up to $80\mu\text{M}$ | $< 40\mu\text{M}$ |
| K | Verapamil | Non-Dihydropyridine Calcium channel blocker | RhoGTPases inhibition & cAMP elevation, mTor, autophagy inducer | None up to $80\mu\text{M}$ | $\geq 5\mu\text{M}$? | None up to $80\mu\text{M}$ | Up to $80\mu\text{M}$ |

* False positive beyond $5\mu\text{M}$

Supplementary table 2: Genotype and clinical details of individuals from whom URECs were derived.

| | Genotype status | Clinical Status | Renal Failure (Stage) | Sex | Age (y) | % Ciliated cells |
|-------------|--|---|-----------------------|-----|---------|------------------|
| Pt1 | del Hom <i>NPHP1</i> | <i>Nephronophthisis</i> | 4 | M | 26 | 19 |
| Pt2 | del Hom <i>NPHP1</i> | <i>Nephronophthisis</i> | 4 | M | 15 | 32 |
| Pt3 | del Hom <i>NPHP1</i> | <i>Nephronophthisis</i> | 3 | F | 15 | 21 |
| Pt4 | Het c.1884+1G>T + Het c.1252-2A>G <i>NPHP1</i> | <i>Nephronophthisis</i> | 4 | F | 13 | 50 |
| Pt5 | del Hom <i>NPHP1</i> | <i>Nephronophthisis</i> | 4 | M | 18 | 38 |
| Pt6 | del Hom <i>NPHP1</i> | <i>Nephronophthisis</i> | 4 | F | 16 | 40 |
| Pt7 | del Het + Het c.1078C>T - p.Q360* <i>NPHP1</i> | <i>Nephronophthisis</i> | 1 | M | 9 | 43 |
| Pt8 | del Hom <i>NPHP1</i> | <i>Nephronophthisis</i> | 1 | M | 23 | 49 |
| Pt9 | del Het + Het c.70-1G>A <i>NPHP1</i> | <i>Nephronophthisis</i> | 4 | F | 8 | 32 |
| Pt10 | del Hom <i>NPHP1</i> | <i>Nephronophthisis</i> | 4 | F | 17 | 45 |
| Pt11 | del Hom <i>NPHP1</i> | <i>Nephronophthisis</i> | 4 | M | 30 | 47 |
| CTL1 | | Minimal change disease | / | F | 9 | 65 |
| CTL2 | | No renal anomalies | / | F | 14 | 39 |
| CTL3 | | No renal anomalies | / | F | 21 | 66 |
| CTL4 | | No renal anomalies | / | M | 10 | 74 |
| CTL5 | | No renal anomalies | / | M | 9 | 75 |
| CTL6 | | No renal anomalies | / | F | 11 | 62 |
| CKD1 | | Hemolytic uremic syndrome | 5 | M | 12 | 65 |
| CKD2 | | Detrusor urethral sphincter dyssynergia | 4 | M | 17 | 87 |
| CKD3 | | Twin-to-twin transfusion syndrome | 2 | F | 14 | 57 |
| CKD4 | | Right renal hypoplasia/left renal dysplasia/bilateral vesicoureteral reflux | 4 | M | 18 | 89 |
| CKD5 | | Renal hypodysplasia with repeated urinary infections | 3 | F | 20 | 64 |

Pt: *NPHP1* patient, CTL: control individual, CKD: non-ciliopathy chronic kidney disease patients, del: deletion, Hom: Homozygous, Het: heterozygous, M: male, F: female

Supplementary table 3: Primers used for RT-qPCR.

| Gene name | Species | Forward primer (5' to 3') | Reverse primer (5' to 3') |
|---------------------------|----------------|----------------------------------|----------------------------------|
| <i>Col1a1</i> | Mouse | CTGACGCATGGCCAAGAAGA | GGGACCCTTAGGCCATTGTG |
| <i>Col3a1</i> | Mouse | GGACCAGCAGGAACTAATGGTAT | GTTCTCCAGGTGATCCATCTTT |
| <i>Lcn2</i> | Mouse | TCCTCAGGTACAGAGCTACAA | GCTCCTTGGTTCTTCCATACA |
| <i>Kim1</i> | Mouse | GAGAGTGACAGTGGTCTGTATTG | TCATAGCAGCCACCTTCATTC |
| <i>Acta2</i> | Mouse | CATGCGTCTGGACTTGGCTG | GACAATCTCACGCTCGGCAGTAG |
| <i>Tgfb1</i> | Mouse | GGGAAGCAGTGCCCCGAACCC | TGGGGGTGAGCAGCCGGTTA |
| <i>Nphp1</i> | Mouse | GTGAGCATCAGCAGGAAAGA | CTTCTCCTCTCCACCAGTTTC |
| <i>Nphp1</i> (genotyping) | Mouse | ACCGTTTGTAGTGCAACCTGTG | CATCACGTCTTCCATGCACT |
| <i>THBS1</i> | Human | CCCAGATCAGGCAGACACAG | TACTGGCAGTTGTCCCGTTC |
| <i>LAMC2</i> | Human | CGCAGCTCTGCAGAATACAG | AGACCCATTTTCGTTGGACAG |
| <i>ITGA2</i> | Human | GCAACATCCCAGACATCCCA | CTTTCGTAGCACTTCGTTCGC |
| <i>HAS3</i> | Human | TACATCCAGGTGTGCGACTC | CCTACTTGGGGATCCTCCTC |
| <i>FLNA</i> | Human | GTGCCAGCCGAATTCAGTAT | CACATAAGCCACACCACAGG |
| <i>ABLIM3</i> | Human | CAGTCCATGGCCAGCAGTAA | CACTTGAAGCAGCTGACGTG |
| <i>PKIA</i> | Human | TGATATCCTGGTTTCCTCTGCA | GGCTTCCCCACTTTGTTCTG |
| <i>CPT1A</i> | Human | CCATGCCATCCTGCTTTACA | ATCGTGGATCCCCAAAAGACG |
| <i>PGC1A</i> | Human | CCAAAGGATGCGCTCTCGTTCA | CGGTGTCTGTAGTGGCTTGACT |
| <i>DEPTOR</i> | Human | CAGCATGTGTCCAACAAGCA | GGGGGACTTTTCATTGAGCA |
| <i>ATOX8</i> | Human | TGACTACAGTGCCGACCACA | TCACTCCTTGCGCTTCTTGG |

Supplementary material

NPHP1_KD MDCK and NPHP1_KD IMCD3 cell lines

NPHP1_KD MDCK cell line was previously described, and NPHP1_KD IMCD3 was generated following the same procedures (1). Briefly, shRNA construct targeting mouse *Nphp1* mRNA sequence (5'-TGAAAGACGCTCTCAAAGTTTTTCAAGAGAACTTTGAGAGCGTCTTTCTTTTTTC-3') was cloned into the lentiviral pSICOR vector, kindly provided by Tyler Jacks, following published instructions (2). Lentiviruses were produced in HEK239T cells, and mIMCD3 cells were infected at an MOI of 20 in the presence of 8mg/mL polybrene.

Antibodies

The following antibodies were used in the study with the following dilution: acetylated α -Tubulin (1/1000e ; Sigma, T6793), AQP2 (1/200e ; Santa Cruz, sc9882), CP110 (1/400e ; Proteintech, 12780-1-AP), polyglutamination modification GT335 (1/5000e ; AdipoGen, AG-20B-0020-C100), Ki67 (1/200e ; Santa Cruz, sc7846), NCC/SLC12A3 (1/200e ; Sigma, HPA028748), NPHP1 (1/100e for immunofluorescence and 1/1000e for Western Blot ; Bicc scientific, 90001), SV40 (1/200e ; Calbiochem, DP02-200UG), p27Kip1 (1/100e ; BD Transduction Lab, 610242).

Primary Screen of the Prestwick Library molecules

- Cell culture, compound treatment and immunofluorescence

The Prestwick Chemical Library, containing 1200 mostly FDA-approved drugs, was purchased from Prestwick Chemical Inc. (Illkirch, France) at a concentration of 10 mM in dimethyl sulfoxide (DMSO). To study the effect of the drugs on wound closure and ciliogenesis, 50 μ L of compounds were added to culture medium for a final drug concentration

of 10 μ M and 0.5% DMSO. Our preliminary experiments showed that the final 0.5% DMSO had no effect on these two cellular processes. All treatments were performed twice independently.

NPHP1_KD IMCD3 were seeded into 96-well plastic microplates (Packard Viewplate, Perkin Elmer) at a density of 30,000 cells/well in 100 μ L of DMEM/F12 supplemented with 10% FBS. Cell plates were then incubated at 37°C, 5% CO₂ in a 95% humidified Cytomat 6000K (Thermo Fisher Scientific) for 24h. On the following day, cells were washed and incubated overnight at 37°C in serum-free medium. Next day, the cell monolayer was automatically scratched in a straight line to create a "wound" using a 96-pin tool (V&P Scientific, Inc.) mounted on the TeMO (Tecan). Living cells were immediately labeled with Calcein AM (Molecular Probes) and imaged with an automated fluorescent microscope (InCell 2000, GEH) at 2x magnification (T0 of the migration assay). Cells were then incubated with drugs from the Prestwick Library for 9h at 37°C to allow wound closure.

NPHP1_KD MDCK were seeded into 96-well plastic microplates (Packard Viewplate, Perkin Elmer) at a density of 7,500 cells/well in 100 μ l of MEM alpha supplemented with 10% FBS, 1% Glutamax and 1% Penicilline/Streptomycine. Cells were then incubated at 37°C, 5% CO₂ in a 95% humidified Cytomat 6000K (Thermo Fisher Scientific) for 120h, followed by the incubation with drugs from the Prestwick Library for 48h at 37°C.

For immunofluorescence, cells were fixed 15 minutes with 4% PFA, quenched in 50mM NH₄Cl, and permeabilized 15 minutes with PBS – 0.2% BSA – 0.05% saponin, followed by incubation with DAPI and anti-acetylated α tubulin antibody for primary cilium detection.

- Data acquisition, quantification and analysis

For the wound-healing assay, images (T0-T9h) were acquired with a 2x objective (InCell 2000, GEH), which provided sufficient resolution to determine the extent of migration. If

disruption of the cell monolayer was observed, images were discarded from the analysis. Image analysis was automated using Cell Developer Toolbox (GEH). For each image, the area of the wound was quantified, and difference of area between T0 and end point was calculated to obtain the migration rate.

For the primary cilium analysis in mIMCD3, images were acquired using a 20x objective. Primary cilium detection was performed using CellProfiler software. Primary cilium analysis focused on the number of cilium per well, and its length variation according to drug treatment. For the primary cilium analysis in mIMCD3 and MDCK cells, images were acquired using a 20x objective. Primary cilium detection was performed using CellProfiler software for mIMCD3 cells and IN Cell analyser 1000 Workstation (GEH) software for MDCK cells, in order to quantify the percentage of ciliated cells and length of cilia. Drugs that cause cell toxicity were discarded from the analysis.

Positive hits for each compound were identified as follows. Data were first corrected through median polishing using log or logit functions. B-score normalization was then applied to each replicate, separately, and including corrections for plates, rows and columns (3, 4). Median and median absolute deviation (MAD) were computed and used to compute Robust Z-scores (RZ-scores). For each sample, according to the formula $\text{score} = (\text{perturbator value} - \text{median}) / (1.4826 * \text{Median MAD})$. RZ-scores were calculated for each compound when compared with the tested population. A compound is identified as a 'hit' if the RZ-score is above 2 or below -2 for both replicate experiments.

Drug toxicity on URECs

Control cells were incubated with a large range of drug concentrations 1 μ M to 40 μ M to perform time-lapse imaging for 48h using IncuCyte® Cytotox Reagents to label both apoptotic cells and dying cells (membrane integrity loss). Images were analyzed with

Incucyte Zoom Software (Essen Bioscience). Drug toxicity was assumed when a decreased final confluence (corresponding to decreased proliferation) and/or increased apoptosis or cell permeability were observed compared to 0.01% and 0.5% DMSO conditions.

Zebrafish experiments

Zebrafish were maintained at 28.5°C under standard protocols. The following transgenic lines were used: *Tg(wt1b:eGFP)^{li1}* (5) and *Tg(bactin:arl13b-GFP)^{hsc5Tg}* to label proximal pronephros and cilia, respectively (5, 6). Translation-blocking *nphp4* morpholinos (Gene Tools LLC, Philomath, OR, USA) were injected into one-cell stage *Tg(wt1b:eGFP)* embryos at 0.4pmol per embryo (7). At 10 hours post fertilization (hpf), embryos were transferred into 12-well plates (20 embryos/well) and incubated with drugs diluted in 1% DMSO Egg-Water in presence of phenylthiourea (to block pigmentation). At 24hpf, drugs were renewed, and dead embryos were removed. Pronase was used at 36hpf to help hatching. Between 48hpf and 54hpf. GFP-positive embryos were individually positioned on the dorsal side in 96-well plates using a previously published method to perform automated imaging of the proximal pronephros with Opera Phenix HSC system (Perkin Elmer) (8). Pronephros morphology was evaluated by two independent observers using a double-blind approach. For whole-mount immunofluorescence, DMSO and Alprostadil-treated *Tg(bactin:arl13b-GFP)* embryos were fixed at 24hpf in 4% PFA, blocked in PBS – 0.3% Triton – 4% BSA for 1h at room temperature and incubated with phalloidin (1/200^e) at 4°C overnight. After several washes in PBS – 0.3% Triton, embryos were mounted, and confocal images were acquired using a Spinning Disk microscope (40x or 63x, Zeiss). Z-stacks were performed to acquire the whole cloaca region, and projections were assembled and analyzed using Image J software to determine cilium length.

Mice urine and plasma analyses

24-hour urine samples were collected using metabolic cages. At the time of sacrifice, kidneys were removed for morphological, protein, and mRNA studies. Plasma creatinin and Blood Urea Nitrogen (BUN) was determined on an automatic analyzer (Konelab 20i, Thermo Fisher Scientific).

Immunostaining of human kidney sections

Renal kidney tissue from 3 patients suffering from nephronophthisis were collected from 1973 to 1998. Immunostaining was performed as described in kidney mice section on human kidney biopsies from 3 affected individuals carrying *NPHP1* mutations and one control individual. Confocal images were acquired using a Spinning Disk microscope (40x or 63x, Zeiss).

cAMP dosage in URECs

Cells were incubated during 15 minutes with 0.04% DMSO, 25 μ M Forskolin or 2 μ M Alprostadil. cAMP production was measured using cAMP-Glo™ Assay (V1501, Promega) following the recommendations of the manufacturer.

Western blot analysis

Kidneys were lysed in 50mM Tris HCl pH8 – 200mM NaCl – 1mM EDTA pH8 – 1mM EGTA – 1mM DTT – 1% SDS. Cells were lysed in 50mM Tris HCl pH7.4 – 150mM NaCl – 0.1% SDS – 1% Triton – 0.5% sodium deoxycholate. Lysis buffer was supplemented with protease and protein phosphatase inhibitor tablets (04-693-159-001 and 04-906-845-001 respectively, Roche). Protein content was determined with the BCA Protein Assay kit (23225, Thermo Fisher Scientific). Equal amounts of protein were resolved on gels under reducing

conditions, transferred and incubated with primary and secondary antibodies, and visualized using the Fusion Fx7 (Vilber) imaging system or the Odyssey® CLx imaging system (LI-COR Biosciences). Quantifications were done using Image Studio Lite software (LI-COR Biosciences).

Microarray data analysis

Affymetrix Human ClariomD data were normalized using quantile normalization with adjustment based on the median intensity of probes with similar GC content (using Affymetrix Power Tools). Background correction was made using the antigenomic probes. Only probes targeting exons annotated from FAST DB v2016_1 transcripts were selected. Probes were considered as expressed if the DABG P value ≤ 0.05 (Detection Above Background P values were calculated using Affymetrix Power Tools) in more or equal than 60% of samples in at least one of the two compared experimental condition (e.g. RLT 10 μ M). Genes were considered as expressed if more or equal than 50% of their probes are expressed. Minimum 4 selected probes were required to assess gene expression. When possible, only high-specific probes were selected (i.e. not overlapping with repeat regions; not cross-hybridizing; and $40 \leq \text{GC}\% \leq 60$). In addition, if possible, only probes targeting constitutive gene regions were selected (i.e. targeting at least 75% of transcripts of a given gene). We performed a paired Student's t-test to compare gene intensities in the different biological replicates. Genes were considered significantly regulated when fold change was ≥ 1.5 and uncorrected P value ≤ 0.05 .

- Unsupervised analysis

The PCA has been performed using “prcomp” function in R and the 2 first dimensions were plotted. The clustering has been performed using “dist” and “hclust” functions in R, using

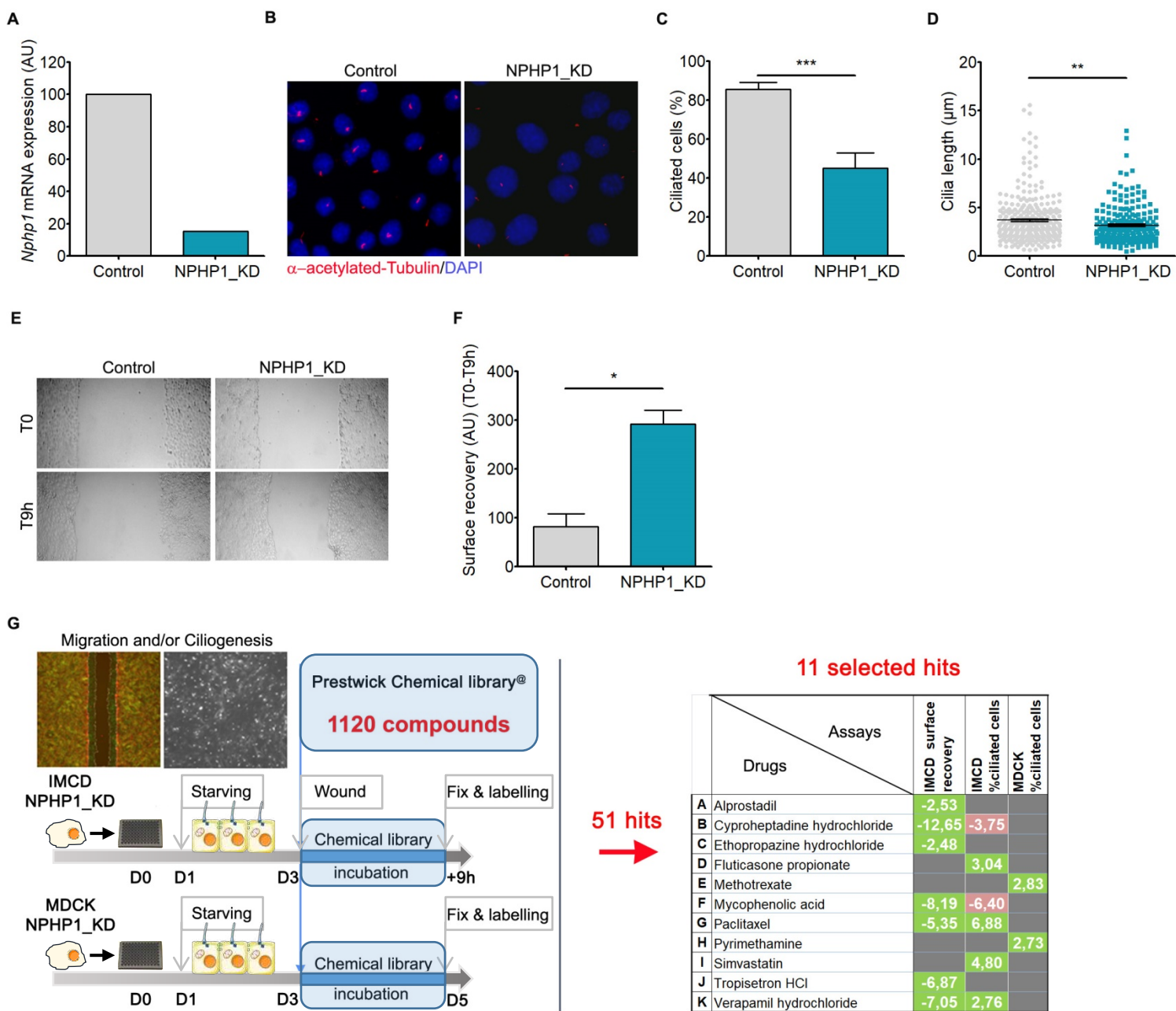
Euclidean distance and Ward agglomeration method. Bootstraps have been realized using “pvclust” package in R, with the same distance and agglomeration method, using 1000 bootstraps.

- Sample reproducibility study

Pearson correlation tests have been performed for each pair of samples using “cor.test” function in R. Heatmaps and clusterings were performed with “dist” and “hclust” functions in R using Euclidean distance and Ward agglomeration method. Bootstraps were realized as described in “Unsupervised analysis” method. Analysis for enriched GO terms, KEGG pathways and REACTOME pathways were performed using the automated meta-analysis tool Metascape (<http://metascape.org/>).

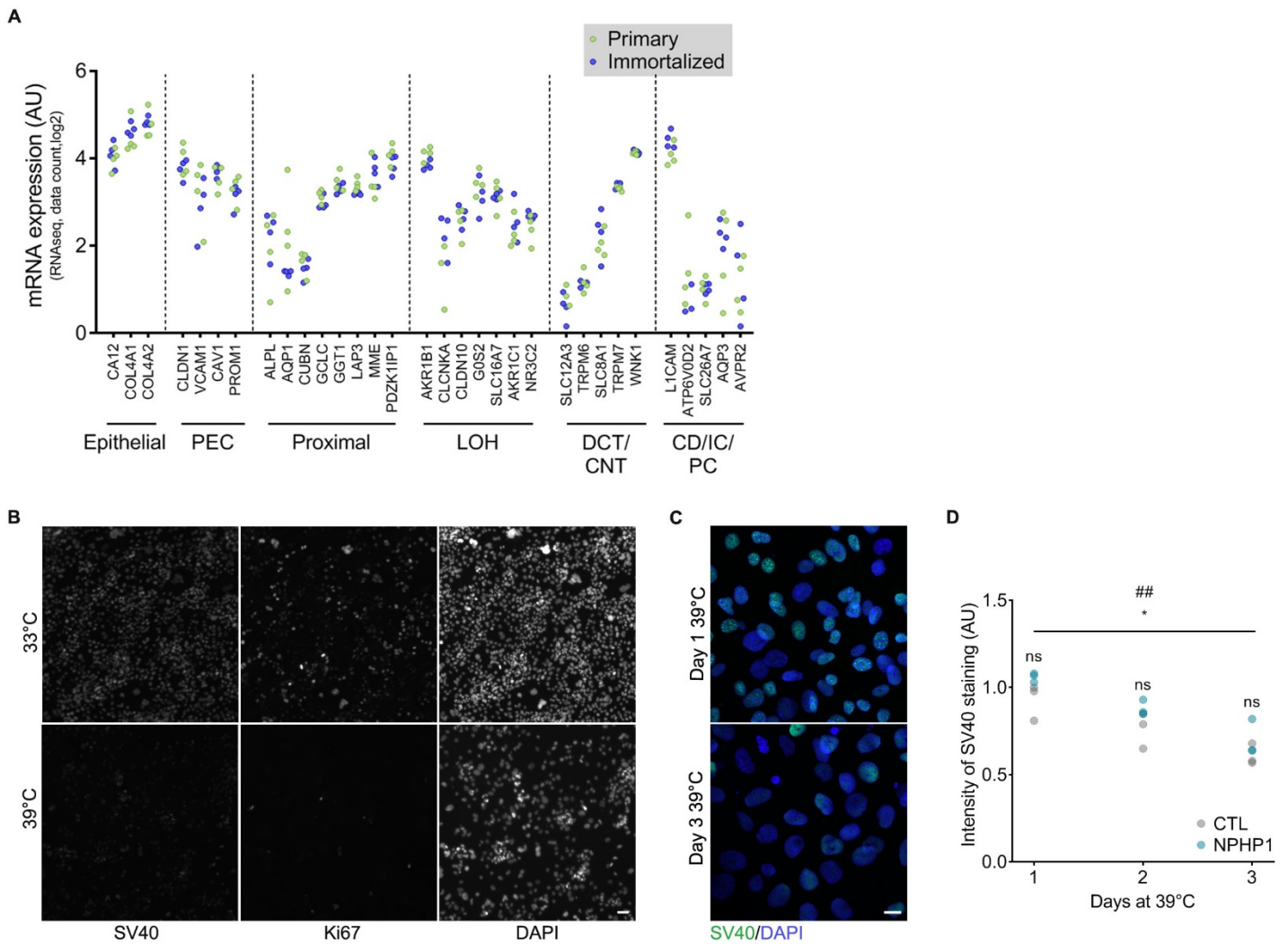
Supplementary references

1. M. Delous, *et al.*, Nephrocystin-1 and nephrocystin-4 are required for epithelial morphogenesis and associate with PALS1/PATJ and Par6. **18**, 4711–4723 (2009).
2. A. Ventura, *et al.*, Cre-lox-regulated conditional RNA interference from transgenes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **101**, 10380–10385 (2004).
3. C. Brideau, B. Gunter, B. Pikounis, A. Liaw, Improved statistical methods for hit selection in high-throughput screening. *J. Biomol. Screen.* **8**, 634–647 (2003).
4. N. Malo, J. A. Hanley, S. Cerquozzi, J. Pelletier, R. Nadon, Statistical practice in high-throughput screening data analysis. *Nat. Biotechnol.* **24**, 167–175 (2006).
5. B. Perner, C. Englert, F. Bollig, The Wilms tumor genes *wt1a* and *wt1b* control different steps during formation of the zebrafish pronephros. *Dev. Biol.* **309**, 87–96 (2007).
6. A. Borovina, S. Superina, D. Voskas, B. Ciruna, *Vangl2* directs the posterior tilting and asymmetric localization of motile primary cilia. *Nat. Cell Biol.* **12**, 407–412 (2010).
7. C. Burcklé, *et al.*, Control of the Wnt pathways by nephrocystin-4 is required for morphogenesis of the zebrafish pronephros. *Hum. Mol. Genet.* **20**, 2611–2627 (2011).
8. J. N. Wittbrodt, U. Liebel, J. Gehrig, Generation of orientation tools for automated zebrafish screening assays using desktop 3D printing. *BMC Biotechnol.* **14**, 36 (2014).



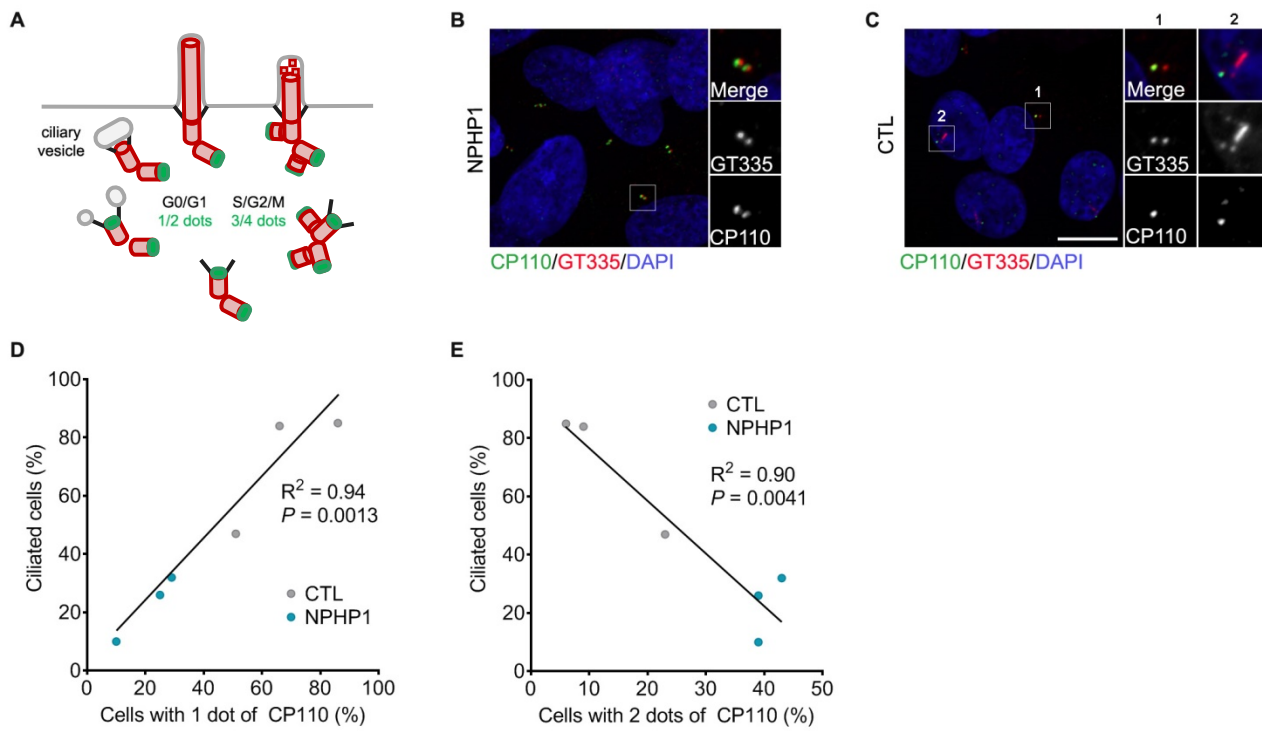
Supplementary Figure S1: Ciliogenesis and migration defects in NPHP1_KD mIMCD-3 cells

(A) qRT-PCR analysis of *Nphp1* expression in polyclonal control and *Nphp1* knock-down (NPHP1_KD) mIMCD3 cells. (B) Representative images of immunofluorescence of primary cilia (acetylated α -Tubulin, red) and nuclei (DAPI, blue) in control and NPHP1_KD mIMCD3 cells cultured for 48 hours after serum starvation. (C) Quantification of the percentage of ciliated cells. $n = 2$ experiments. Fisher's exact test: *** $P < 0.001$. (D) Quantification of cilium length. $n = 2$ experiments. Student t-test: * $P < 0.01$. (E) Representative images of wound healing assay at T = 0h and T = 9h after scratch on control and NPHP1_KD mIMCD3 cells cultured for 18 hours after serum starvation. (F) Quantification of scratch surface recovery as seen in (E). $n = 2$ experiments. Mann-Whitney test: * $P < 0.05$. (G) Left panel: Schematic representations of the primary screens. Molecules from the Prestwick library were tested for their effects on migration and/or ciliogenesis in mIMCD3 and MDCK cells, in which the expression of *Nphp1* was stably knockdown (NPHP1_KD). In mIMCD-3 cells, compounds were added for 9h after wounding and both migration and ciliogenesis were measured. In MDCK cells, compounds were added for 2 days and ciliogenesis was analyzed. Right panel: Quantification of the effect of the 11 selected hits on cell migration (surface recovery) or ciliogenesis (% of ciliated cells). RZ score were calculated for each compound when compared to DMSO treatment. A compound is identified as a 'positive hit' (green) if its RZ-score is above 2 (for ciliogenesis) or below -2 (surface recovery) for both replicate experiments. A non-significant effect of a compound on ciliogenesis or cell migration will be indicated by a RZ-score between -2 and 2, whereas a negative ciliogenesis effect (red) will be indicated by a RZ score < -2 . (C-D, F) Bars indicate mean \pm SEM. AU: arbitrary unit.



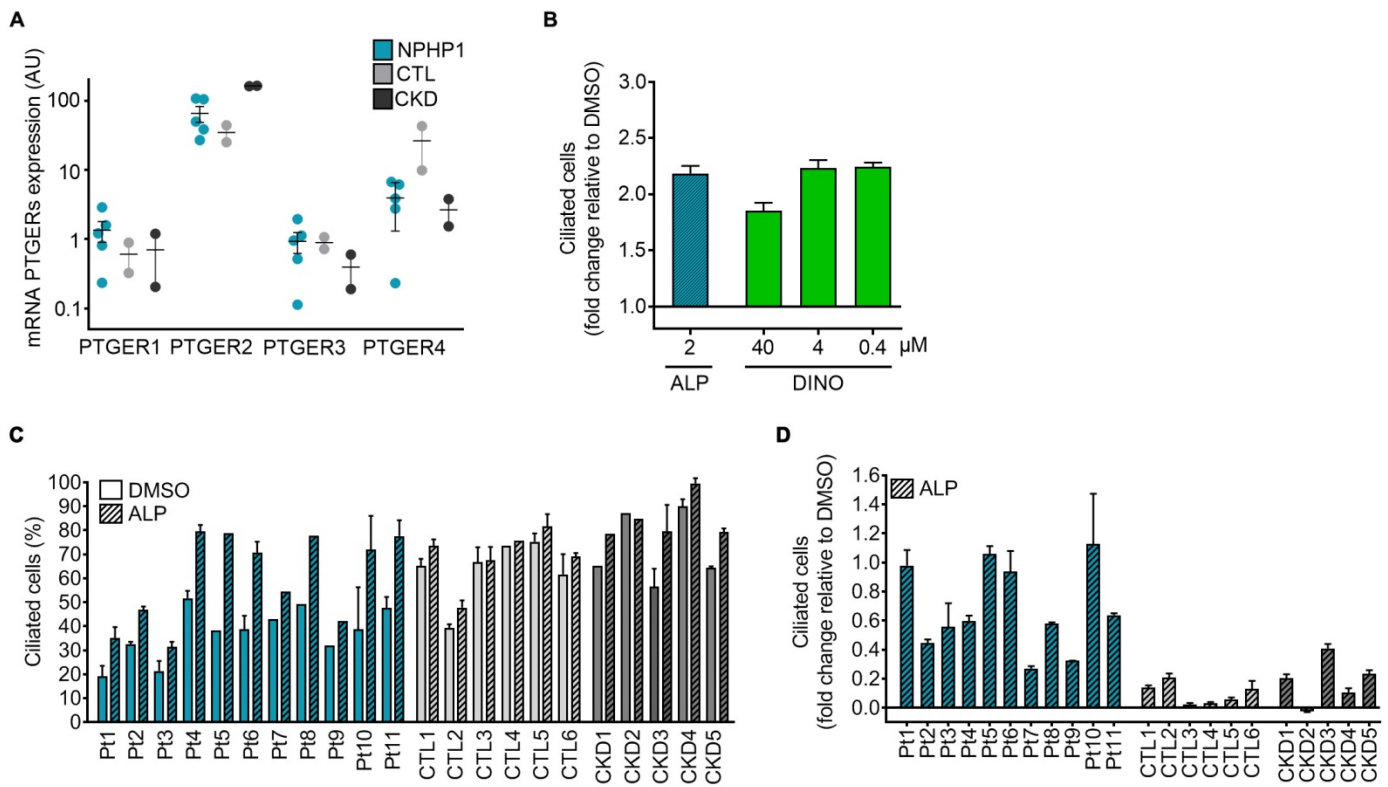
Supplementary Figure S2: Characterization of URECs

(A) Expression data of epithelial and renal markers issued from comparative RNAseq analysis of primary (green) and immortalized (blue) URECs from 4 individuals (2 NPHP1 patients and 2 control individuals). Mann-Whitney test: not significant. AU: arbitrary unit. (B) Representative images of immunofluorescence of one immortalized UREC line derived from NPHP1 patient (Pt1) cultured for five days at 33°C (permissive temperature) or 39°C (restrictive temperature) and stained with anti-SV40 large T antigen and anti-Ki67 antibodies. (C) Representative images of immunofluorescence of immortalized URECs cultured for one to three days at 39°C (restrictive temperature) and stained with anti-SV40 large T antigen (green) antibody and nuclei (DAPI, blue). (D) Quantification of SV40 large T antigen nuclear expression in immortalized URECs derived from NPHP1 patients (NPHP1, $n = 3$) and control individuals (CTL, $n = 3$). $n = 2$ experiments. Unpaired Student t-test: * $P < 0.05$ (NPHP1 day 1 vs NPHP1 day 3), ## $P < 0.01$ (CTL day 1 vs CTL day 3), ns: not significant (NPHP1 vs CTL). AU: arbitrary unit. Dots indicate mean. (A, D) Each dot represents one individual cell line. (B, C) Scale bar: 10 μ m. PEC: Parietal Epithelial Cells, LOH: Loop Of Henle, DCT: Distal Convolved Tubule, CNT: Connecting Tubule, CD: Collecting Duct, IC: Intercalated cells, PC: Principal cells.



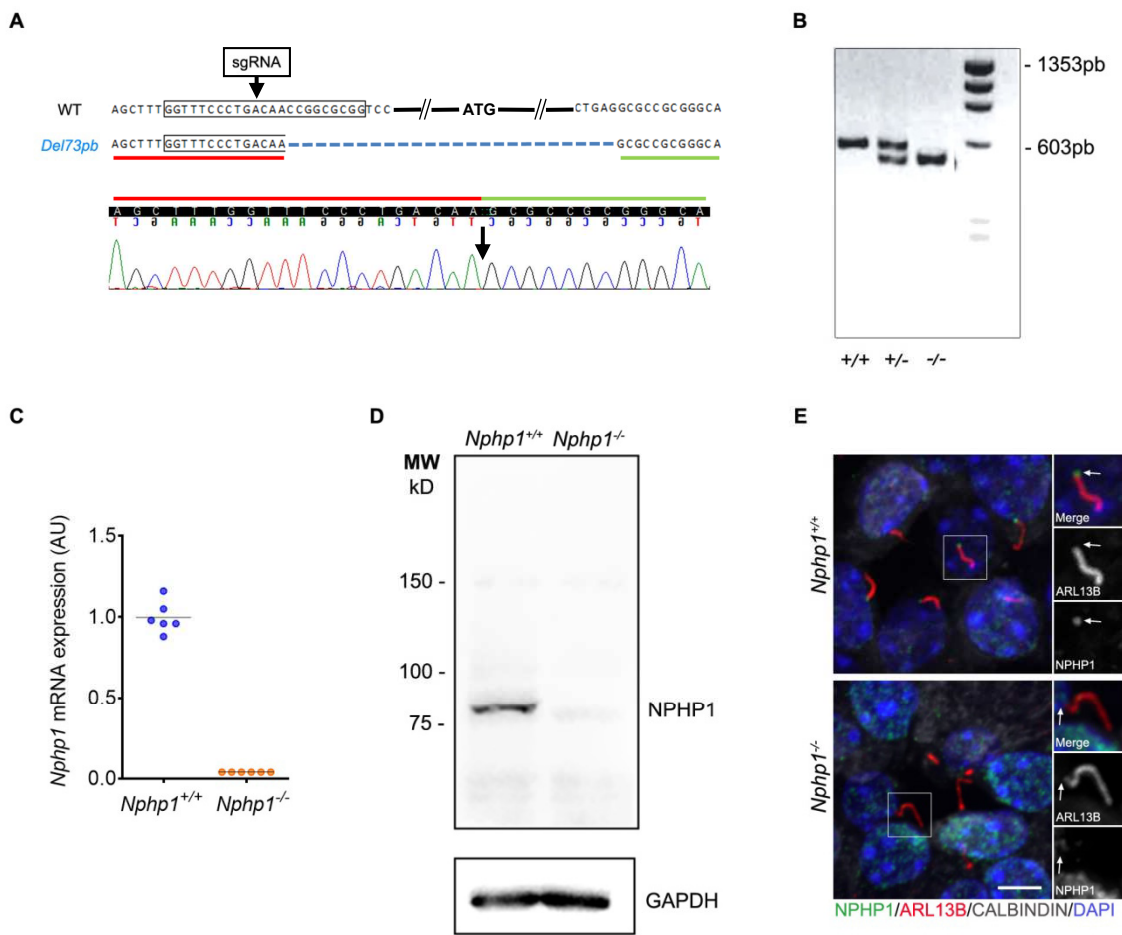
Supplementary Figure S3: Characterization of the URECs ciliary defect

(A) Scheme of CP110 cell cycle localization during ciliogenesis and cilia disassembly. (B, C) Representative images of immunofluorescence of immortalized URECs grown for five days at 39°C and stained for CP110 (green), cilia and basal bodies (GT335, red) and nuclei (DAPI, blue). Example of cells with centrosomes presenting with two (B) and one CP110 dot (C). Scale bar: 10µM. (D, E) Correlation between the percentage of ciliated cells and the percentage of cells with one (D) or two dots (E) of CP110. Dots indicate mean. $n = 3$ experiments. Pearson's test ($r = 0.9700$ for one dot, $r = -0.9471$ for two dots). Each dot represents one individual cell line.



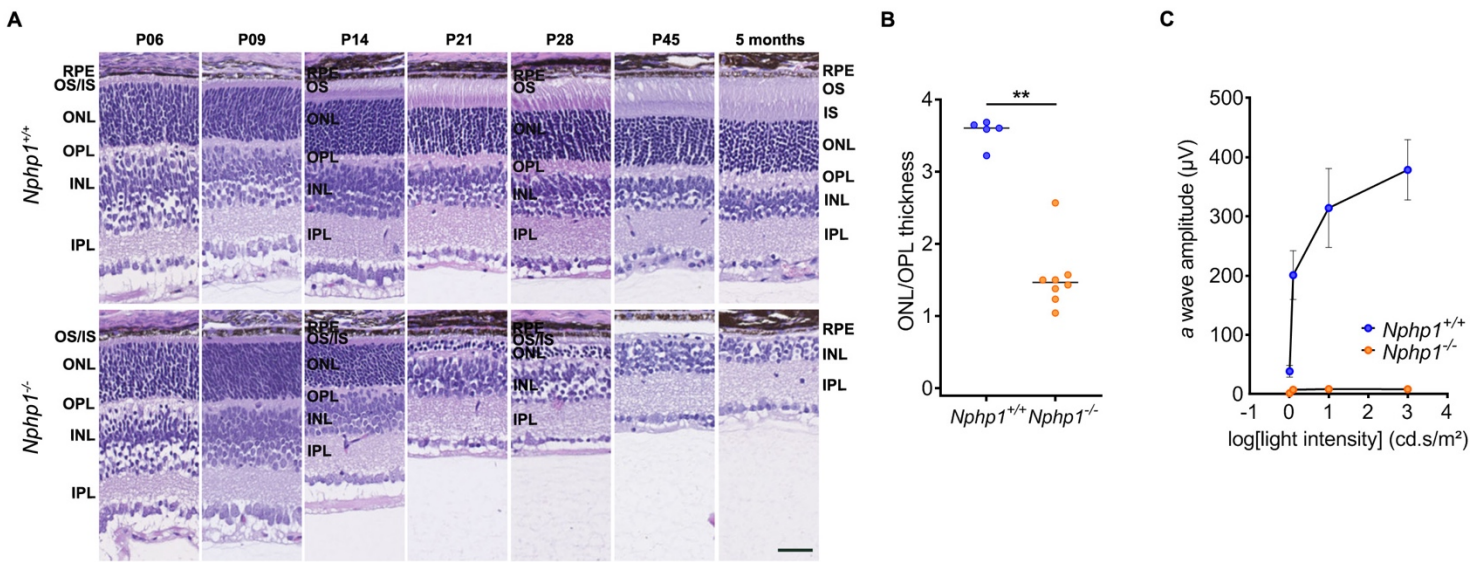
Supplementary Figure S4: Validation of prostaglandin signaling as a target in *NPHP1* URECs

(A) qRT-PCR analysis of EP receptors (*PTGER1-4*) expression in immortalized URECs derived from *NPHP1* patients (*NPHP1*, $n = 5$), control individuals (CTL, $n = 2$) and CKD patients (CKD, $n = 2$). AU: arbitrary unit. (B) Quantification of ciliogenesis 5 days after seeding in one immortalized *NPHP1* UREC line (Pt1) exposed for 2 days to $2\mu\text{M}$ Alprostadil or increasing concentrations of Dinoprostone. Bars indicate mean \pm SEM. $n = 2$ experiments. (C-D) Effect of Alprostadil on ciliogenesis, evaluated by the percentage of ciliated cells (C) or the fold change of ciliated cell relative to DMSO (D) in immortalized *NPHP1* (Pt1-11), CTL (CTL1-6) and CKD (CKD1-5) URECs. $n = 1-15$ experiments, with a mean of 3.5 experiments per cell line. ALP: Alprostadil, DINO: Dinoprostone.



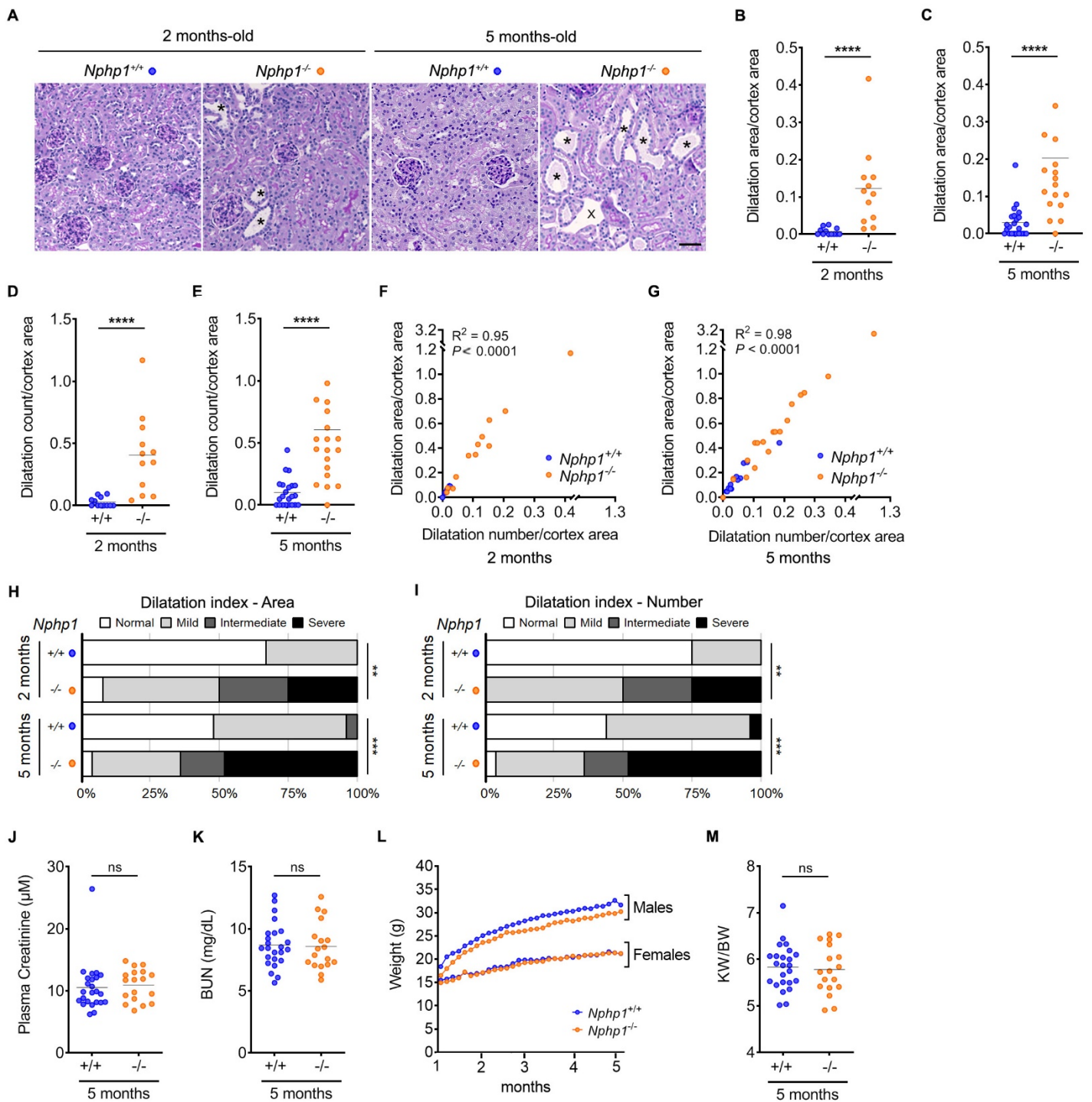
Supplementary Figure S5: *Nphp1*^{-/-} mice generation using CRISPR/Cas9 technology

(A) Schematic representation of the deletion strategy to obtain *Nphp1*^{-/-} mice using CRISPR/Cas9. Guide RNAs targeted sequence upstream exon 1 leads to a 73bp deletion encompassing the start codon ATG in exon 1 (Del 73pb) (Sanger Sequencing). (B) Genotypes were based on PCR amplification of total genomic DNA with primers framing the deletion (PCR fragment of 603pb for *Nphp1*^{+/+}). (C) qRT-PCR analysis of *Nphp1* expression in kidneys from *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} 5 months-old mice. *n* = 5 mice per genotype. Each dot represents one individual mouse. Bars indicate means. AU: arbitrary unit. (D) Western blot analysis of NPHP1 expression in *Nphp1*^{+/+} or *Nphp1*^{-/-} mice testis. (E) Representative images of immunostaining of NPHP1 (green), primary cilia (ARL13B, red), DCT/CNT (Calbindin, green) and nuclei (DAPI, blue) in *Nphp1*^{+/+} or *Nphp1*^{-/-} mice. Scale bar: 10 μ M. DCT: Distal Convolutud Tubule, CNT: Connecting Tubule.



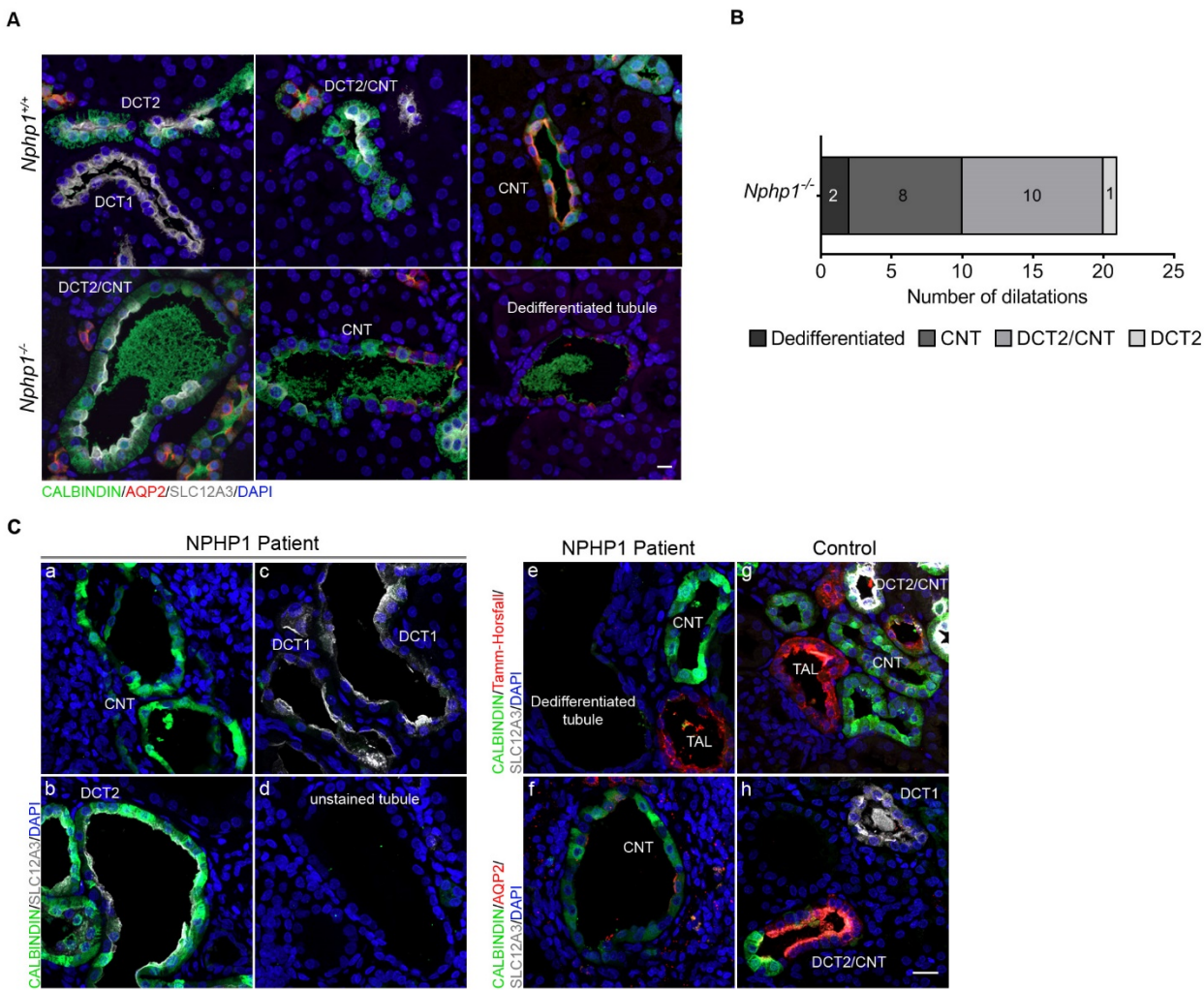
Supplementary Figure S6: Analysis of retina phenotype of *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} mice

(A) H&E staining of *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} retinas from P6 to P45 and 5 months-old mice. Scale bar: 50µm. (B) Quantification of ONL/OPL thickness ratio in retinas from P21-old *Nphp1*^{+/+} ($n = 3$) and *Nphp1*^{-/-} ($n = 8$) mice treated with vehicle (5% Solutol). Each dot represents one individual mouse. Mann-Whitney test: $*P < 0.05$. (C) Scotopic *a*-wave amplitude versus stimulus intensity (log) function in P21-old *Nphp1*^{+/+} ($n = 4$) and *Nphp1*^{-/-} ($n = 4$) mice retinas. Dots indicate mean \pm SEM. RPE: Retinal Pigmented Epithelium, OS: Outer Segment, IS: Inner Segment, ONL: Outer Nuclear Segment, OPL: Outer Plexiform Layer, INL: Inner Nuclear Segment, IPL: Inner Plexiform Layer.



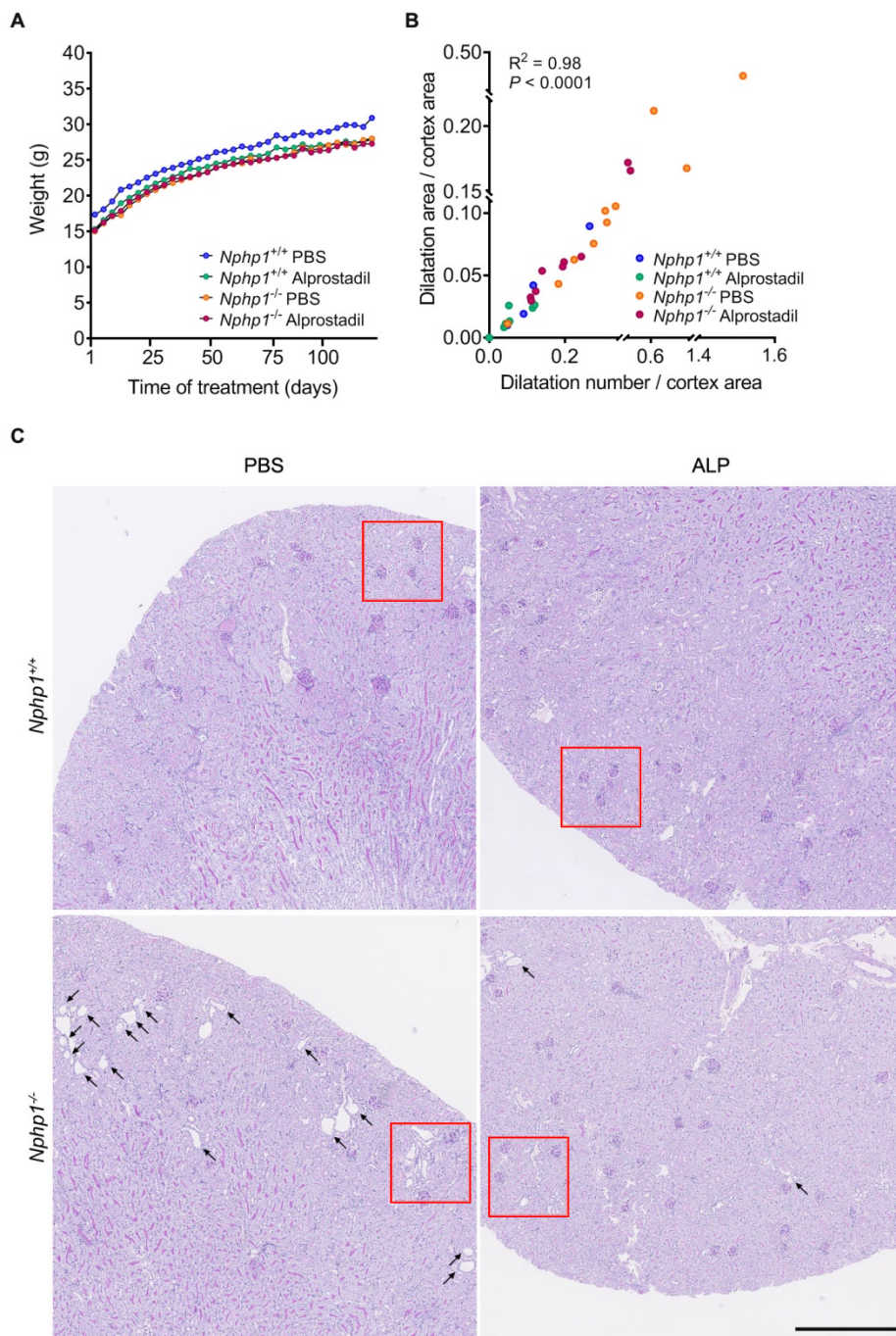
Supplementary Figure S7: Analysis of kidney phenotype of *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} mice

(A) Representative images of PAS staining of kidney sections from 2 and 5 months-old *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} mice. Scale bar: 50 μ m. * = tubular dilations; X = blood vessels. (B-E) Quantification of the total area covered by dilatation/cortex area (B, C) and the number of dilatation/10 μ m² in cortex (D, E) in *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} mice at 2 and 5 months-old. (F, G) Scatter dot plots correlating the number of dilatation/10 μ m² in cortex to the total area covered by dilatations/cortex area in 2 months (F) and 5 months (G) -old *Nphp1*^{+/+} mice. Pearson's test ($r = 0,9770$ for 2 months-old, $r = 0,9914$ for 5 months-old). (H, I) Dilatation index for the total area covered by dilatations/cortex area (H) and the number of dilatation/10 μ m² in cortex (I). Chi-squared test: ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$. (J, K) Plasma creatinine (J) and blood urea nitrogen (BUN) (K) of 5 months-old *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} mice. (L) Body weight increase in *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} mice from 1 month to 5 months-old. (M) Kidney weight to body weight ratio (KW/BW) of 5 months-old *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} mice. (B-M) 2 months-old: males ($n = 6$), females ($n = 6$), 5 months-old: males ($n = 12$), females ($n = 12$)) and *Nphp1*^{-/-} (2 months-old: males ($n = 7$), females ($n = 5$), 5 months-old: males ($n = 8$), females ($n = 10$)). (B-E, J, K, M) Mann-Whitney test: **** $P < 0,0001$, ns: not significant. (B-G, J, K, M) Each dot represents one individual mouse.



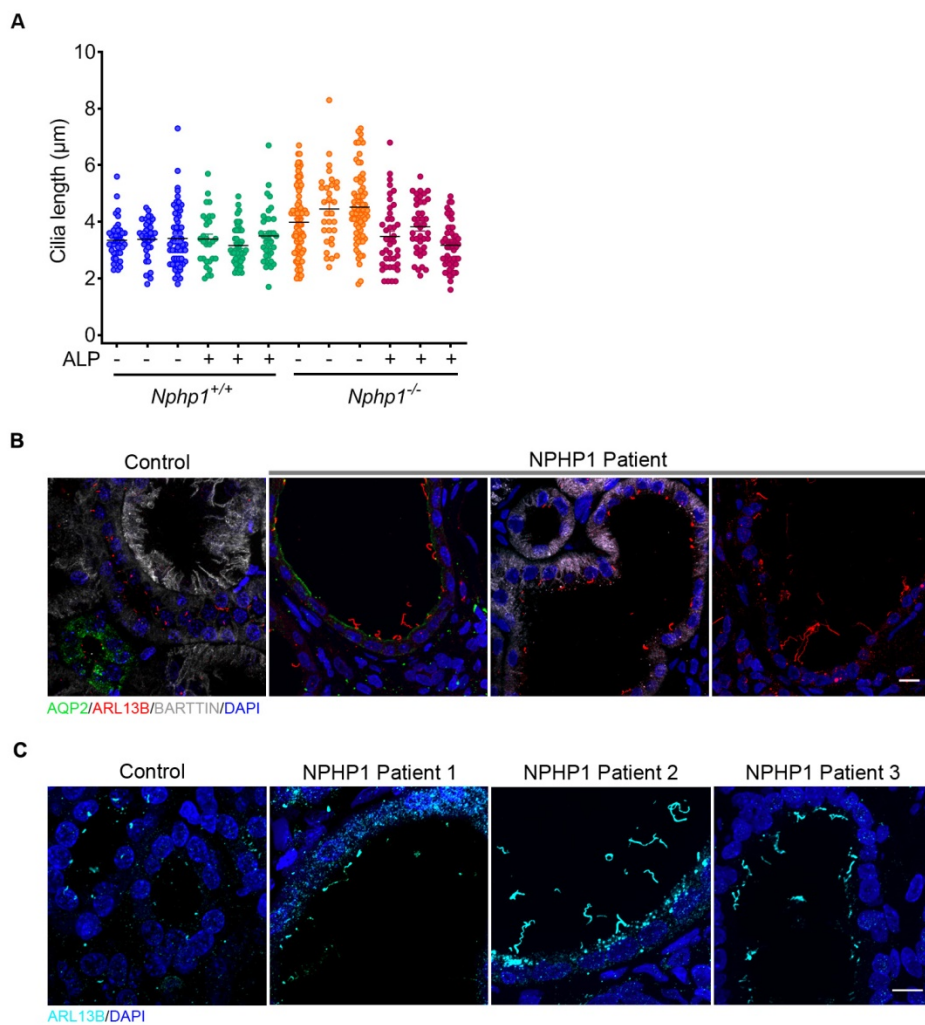
Supplementary Figure S8: Localization of tubular dilations in *Nphp1*^{-/-} mouse and *NPHP1* patient kidneys

(A) Representative images of immunostaining of mouse kidney tubules stained with anti-SLC12A3 (DCT, grey), anti-Calbindin (DCT and CNT, green), anti-AQP2 (CNT and CCD, red) antibodies and DAPI (nuclei, blue). Scale bar: 50µm. (B) Quantification of the number of dilations in each segment of the nephron in *Nphp1*^{-/-} animals ($n = 4$). (C) Representative images of (a-d) immunostaining of human kidney tubules from *NPHP1* patient stained with anti-SLC12A3 (grey), anti-Calbindin (green) antibodies and DAPI (blue); (e-g) immunostaining of human kidney tubules from *NPHP1* patient (e) and control individual (g) with anti-SLC12A3 (grey), anti-Calbindin (green), anti-Tamm-Horsfall (TAL, red) antibodies and DAPI (blue); (f-h) immunostaining of human kidney tubules from *NPHP1* patient (f) and control individual (h) with anti-SLC12A3 (grey), anti-Calbindin (green), anti-AQP2 (red) antibodies and DAPI (blue). Scale bar: 20µm. TAL: Thick Ascending Limb of the Loop of Henle, DCT: Distal Convolved Tubule, CNT: Connecting Tubule, CCD: Cortical Collecting Duct.



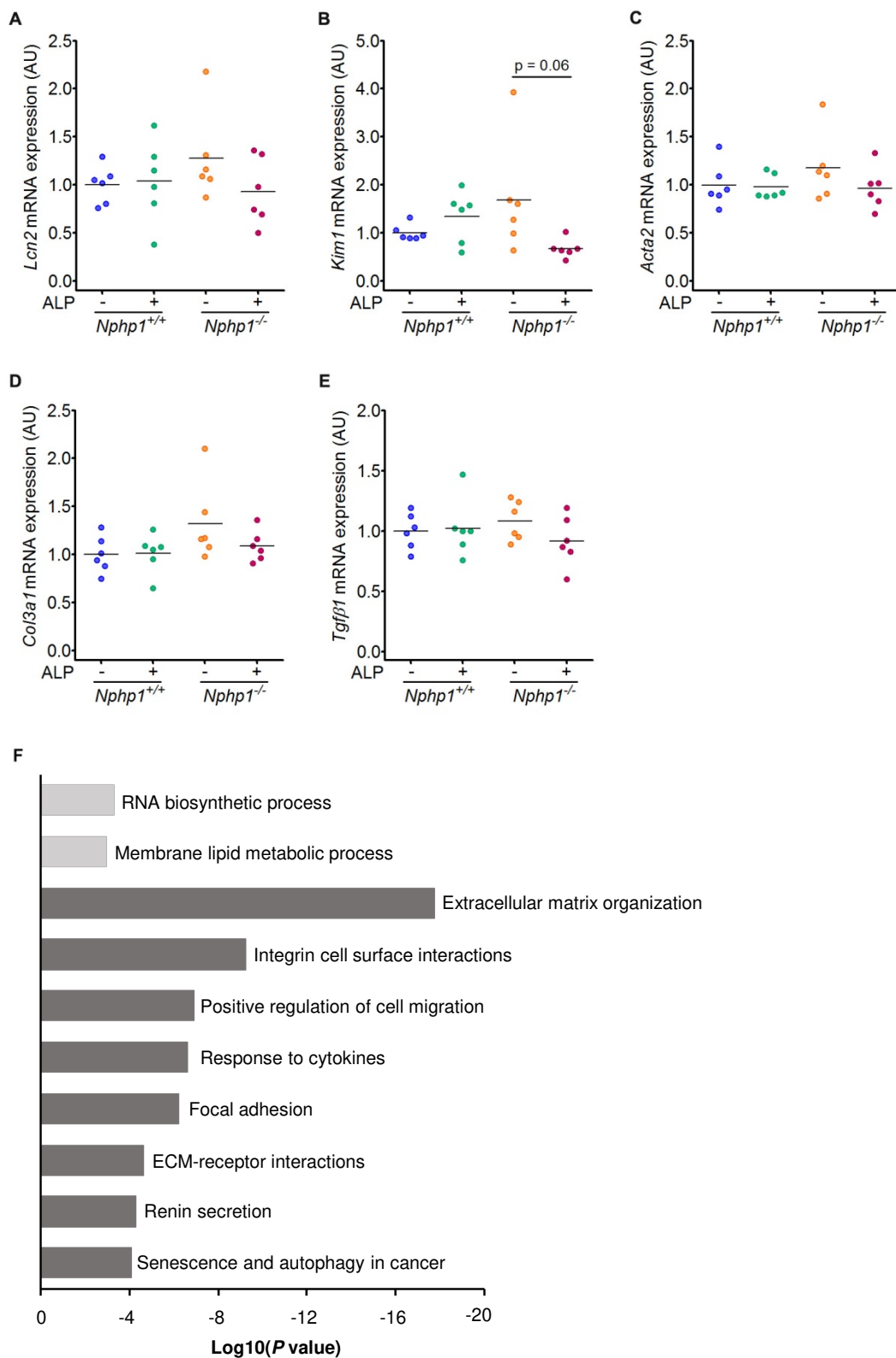
Supplementary Figure S9: Impact of Alprostadil treatment on body weight and tubular dilatations in $Nphp1^{+/+}$ and $Nphp1^{-/-}$ mice

(A) Body weight increase in $Nphp1^{+/+}$ and $Nphp1^{-/-}$ mice injected daily with vehicle (PBS) or Alprostadil (80 μ g/kg) from 1 month to 5 months-old. (B) Scatter dot plot correlating the number of dilatation/10 μ m² in cortex to the total area covered by dilatations/cortex area in $Nphp1^{+/+}$ and $Nphp1^{-/-}$ mice treated with PBS or Alprostadil (ALP). Pearson's test ($r = 0.9932$). (C) PAS staining of kidney sections used in Figure 3 at lower magnification. Scale bar: 50 μ m. Arrows indicate dilatations. (A, B) $n = 9-10$ male mice for each genotype/treatment.



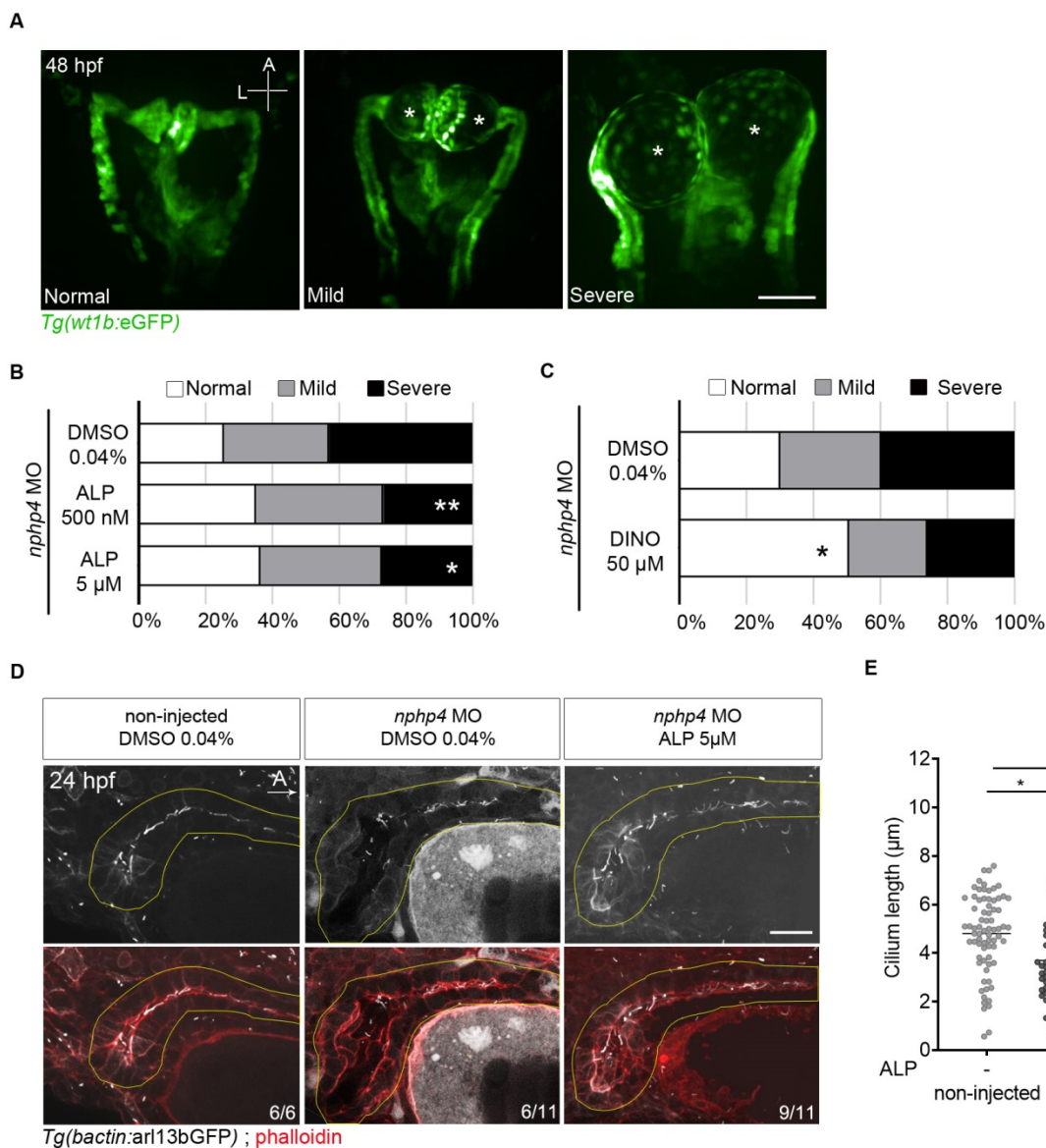
Supplementary Figure S10: Impact of Alprostadil treatment on ciliogenesis in *Nphp1*^{-/-} mice and cilia length in *NPHP1* patient kidneys

(A) Effect of Alprostadil (ALP) on primary cilium length in connecting and distal convoluted tubules of *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} mice at 5 months-old. $n = 3$ male mice for each genotype/treatment. Each dot represents one cilium. (B) Representative images of immunostaining of human kidney sections from NPHP1 patient and control individual stained with anti-AQP2 (CNT and CCD, green), anti-ARL13B (cilia, red), anti-BARTTIN (TAL, DCT and CNT, grey) antibodies and DAPI (nuclei, blue). Scale bar: 10µm. (C) Immunostaining of a control and three additional NPHP1 patient's kidney sections stained with anti-ARL13B (cyan) antibody and DAPI (blue). Scale bar: 20µm. ALP: Alprostadil, TAL: Thick Ascending Limb of the Loop of Henle, DCT: Distal Convoluted Tubule, CNT: Connecting Tubule, CCD: Cortical Collecting Duct.



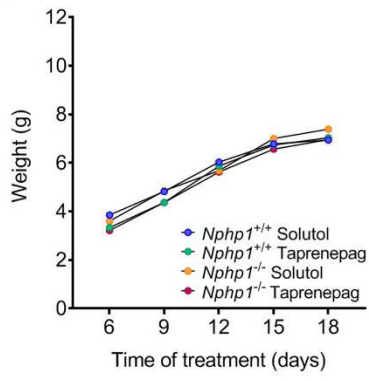
Supplementary Figure S11: Impact of Alprostadil treatment on pro-fibrotic markers and global RNA-seq from kidney of *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} mice

(A-E) qRT-PCR analysis of *Lcn2*, *Kim1*, *Acta2*, *Col3a1* and *Tgfb1* expression from 5 months-old *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} mice kidneys treated or not with Alprostadil (ALP). One-way ANOVA followed by Holm-Sidak's post-test: not significant. Each dot represents one individual mouse. Bars indicate mean. AU: arbitrary unit. (F) Pertinent down- (light grey) or up-regulated (dark grey) selected pathways or relevant processes involving the 480 significantly differentially expressed genes detected by RNAseq in 5 months-old *Nphp1*^{-/-} mice ($n = 5$) in comparison to *Nphp1*^{+/+} mice ($n = 4$). Pathways were highlighted using Metascape. ALP: Alprostadil.

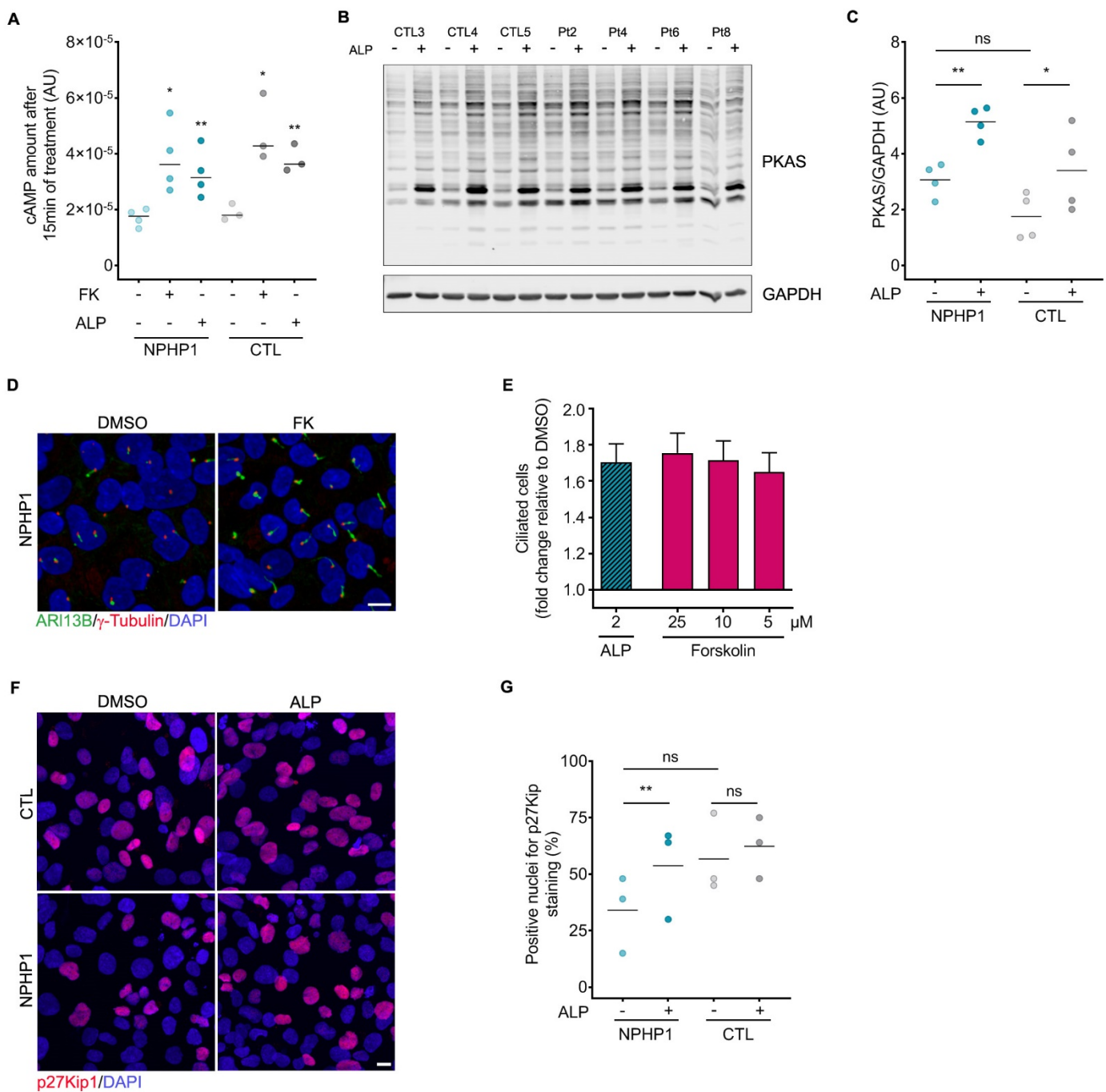


Supplementary Figure S12: *In vivo* validation of prostaglandin signaling as a target in zebrafish

(A) *npHP4* morpholino-injected embryos were treated from 10 to 48 hours post fertilization (hpf), and morphology of glomeruli and proximal pronephros was assessed using *Tg(wt1b:GFP)* transgenic embryos at 48-54 hpf. Three different categories were established depending on the absence (normal) or presence of mild or severe glomerular dilations (asterisks). Representative images of dorsal views, anterior to the top. Scale bar: 50 μm. (B) Treatment with Alprostadil significantly reduced the percentage of severe dilations at 500nM ($n = 71$ embryos) and 5 μM ($n = 99$ embryos) compared to control DMSO (0.04%) ($n = 86$ embryos). (C) Treatment with Dinoprostone (50 μM) ($n = 77$ embryos) significantly increased the percentage of normal proximal pronephros compared to DMSO (0.04%) ($n = 93$ embryos). (D) *npHP4* morpholino-injected embryos were treated with Alprostadil (5 μM) from 10 to 24 hpf and fixed prior to immunostaining. Tubule lumens were labelled with phalloidin, and cilia with *Tg(bactin:arl13bGFP)* transgene. *npHP4* knockdown leads to dilation of the cloaca region, that is partially restored with Alprostadil treatment. Representative images of side views, anterior to the right. Scale bar: 20 μm. (E) Quantification of cilium length in the distal part of the pronephros of *npHP4* morpholino-injected embryos upon Alprostadil ($n = 14$ embryos) or DMSO ($n = 11$ embryos) treatment, compared to DMSO-treated non-injected animals ($n = 6$ embryos). Bars indicate mean. Mann-Whitney test: $*P < 0.05$, ns = not significant. Each dot represents cilium length. ALP: Alprostadil, DINO: Dinoprostone. (B-C) $n = 3-5$ experiments. Fisher's exact test (Normal/Mild compared to Severe (B), Normal compared Mild/Severe (C)): $*P < 0.05$, $**P < 0.01$.

A

Supplementary Figure S13: Impact of Taprenepag treatment on *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} mice body weight
(A) Body weight increase in *Nphp1*^{+/+} and *Nphp1*^{-/-} mice injected every 3 days with vehicle (5% Solutol) or Taprenepag (18mg/kg) from P6 to P21.



Supplementary Figure S14: cAMP pathway and p27Kip1 upon Alprostadil treatment in NPHP1 URECs

(A) cAMP amount after 15 minutes of treatment with DMSO (0.04%), Forskolin (FK, 25 μ M) or Alprostadil (2 μ M) in immortalized URECs derived from NPHP1 patients (NPHP1, $n = 4$) and control individuals (CTL, $n = 3$). Paired Student t-test (NPHP1/CTL DMSO vs NPHP1/CTL FK and ALP): * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. (B) Representative image of Western blot analysis showing all phospho-PKA substrates using PKAS antibody in immortalized NPHP1 (Pt) and CTL URECs after 15 minutes of treatment with DMSO (0.04%) or Alprostadil (2 μ M). (C) Quantification of the relative abundance of PKAS in immortalized NPHP1 ($n = 4$) and CTL ($n = 3$) URECs. (D) Representative images of immunofluorescence of primary cilia (ARL13B, green), basal bodies (γ -Tubulin, red) and nuclei (DAPI, blue) in immortalized NPHP1 URECs 5 days after seeding treated for 2 days with DMSO (0.04%) or Forskolin (25 μ M). (E) Quantification of ciliogenesis in one immortalized NPHP1 UREC line (Pt6) exposed for 2 days to Alprostadil (2 μ M) or increasing concentrations of Forskolin. Bars indicate mean \pm SEM. $n = 2$ experiments. (F) Representative images of immunofluorescence of p27Kip1 (red) and DAPI (blue) in immortalized NPHP1 URECs 4 days after seeding treated for 1 day with DMSO (0.04%) or Alprostadil (2 μ M). (G) Quantification of the percentage of p27Kip1 positive nuclei in immortalized NPHP1 ($n = 3$) and CTL ($n = 3$) URECs. (A, C, G) Each dot represents one individual cell line. Bars indicate mean. $n = 3$ experiments. (D, F) Scale bar: 10 μ M. (C, G) Mann-Whitney test (NPHP1 vs CTL) and paired Student t-test (DMSO vs ALP): * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, ns: not significant. ALP: Alprostadil. AU: arbitrary unit.

PARTIE 2 : Exploitation des données du RNA-seq des URECs *NPHP1*

Préambule

Des études transcriptomiques ont été réalisées dans les URECs contrôles et *NPHP1* en réponse à la PGE1. Plusieurs pistes intéressantes ont attiré notre attention, à la fois pour améliorer notre compréhension de la pathophysiologie de la NPH et des mécanismes d'action de la PGE1. Nous avons décidé d'étudier plus en profondeur le rôle de la matrice extracellulaire (MEC) et de l'oxydation des acides gras (FAO). J'ai confirmé *in vitro* l'inhibition de l'expression de la laminine- γ 2, un constituant des membranes basales exprimé dans le rein en condition pathologique. Je n'ai pas observé de différence au niveau des mitochondries entre les URECs contrôles et *NPHP1* (morphologie, masse, activité, FAO). Il semble donc peu probable que les mitochondries participent à la pathophysiologie de la NPH. De plus, je n'ai pas confirmé l'activation de la FAO après traitement à la PGE1 comme suggérée par les données de transcriptomique.

I. Introduction

La MEC est un assemblage de molécules secrétées par les cellules, leur fournissant un support structurel. Elle est composée de protéoglycanes et de protéines fibreuses, comme le collagène, la fibronectine, l'élastine et les laminines (Frantz et al., 2010). La MEC est à l'origine de signaux mécaniques et biochimiques régulant de nombreux processus physiologiques comme la différenciation ou l'homéostasie tissulaire.

La membrane basale est une MEC spécialisée séparant les cellules épithéliales de la matrice interstitielle. Des défauts de membrane basale sont observés dans les ciliopathies rénales, notamment dans la NPH (épaississement, amincissement, duplication) et l'ADPKD (Cuppige et al., 1980; Cohen et Hoyer, 1986). Les laminines sont des composants majeurs des membranes basales où elles interagissent avec des récepteurs cellulaires comme les intégrines (Hohenester et Yurchenco, 2013). Les laminines sont composées de trois sous-unités, α , β et γ , qui se combinent différemment en fonction des tissus. *LAMC2*, codant pour la laminine γ 2, est surexprimé dans les URECs *NPHP1* et sous-exprimé après un traitement à la PGE1 (**Figure 5, article**). De manière intéressante, la laminine-332 (α 3, β 3 et γ 2) est surexprimée dans l'ADPKD et l'ARPKD, à la fois *in vitro* et *in vivo*, et participe activement à la

kystogénèse (Joly et al., 2006; Vijayakumar et al., 2014). Une accumulation de laminine-332 est observée au niveau des kystes rénaux d'un modèle de PKD, les souris *Lama5^{neo}* (Shannon et al., 2006), et sur des coupes de reins humains ADPKD, alors qu'elle n'est pas présente dans la membrane basale des tubules rénaux en condition normale (Vijayakumar et al., 2014). D'après une publication de 1986, la quantité de laminine globale ne semble pas perturbée dans la NPH, mais la répartition des différentes isoformes de laminine n'a jamais été étudiée (Cohen et Hoyer, 1986).

Les intégrines sont les principaux récepteurs de la MEC. Ce sont des hétérodimères associant une chaîne α à une chaîne β , leur conférant leur spécificité. Il existe dix-huit sous-unités α et huit sous-unités β assurant un nombre de combinaisons important. Les intégrines permettent l'adhésion cellulaire et régulent de nombreuses voies de signalisation intracellulaires (Kechagia et al., 2019). D'après nos données de transcriptomique, *ITGA2*, codant pour l'intégrine $\alpha 2$, est surexprimé dans les URECs *NPHP1* et le traitement à la PGE1 diminue son expression (**Figure 5, article**). L'intégrine $\alpha 2\beta 1$ peut se lier aux collagènes de la MEC. Elle est impliquée dans l'adhésion et la migration cellulaire (Adorno-Cruz et Liu, 2019). De manière intéressante, une augmentation de l'expression d'*ITGA2* a déjà été rapportée dans des patients NPH (Rahilly et Fleming, 1995). *ITGA2* est exprimé au niveau de l'anse de Henlé, du DCT et du CNT (Lake et al., 2019), les segments altérés dans les souris et les patients *NPHP1*. Par ailleurs, les souris *Itga2^{-/-}* développent une protéinurie et une fibrose rénale, soulignant le rôle important de cette protéine dans l'homéostasie du rein (Girgert et al., 2010). En plus des collagènes, les intégrines peuvent se lier aux laminines de la MEC, et cette liaison est essentielle pour le développement du rein (Yazlovitskaya et al., 2021). La PGE2 peut moduler l'expression de l'intégrine $\beta 1$, mais aucune étude ne montre un lien avec la régulation de l'intégrine $\alpha 2$ (Bai et al., 2014).

Le rein et le cœur sont les organes qui nécessitent le plus d'énergie dans le corps humain (Wang et al., 2010b). Avec le glucose et les acides aminés, la β -oxydation des acides gras (FAO) est une source d'énergie pour la cellule. La FAO est indispensable à l'homéostasie des cellules tubulaires rénales. Un défaut dans cette voie métabolique participe au développement de la fibrose rénale (Kang et al., 2015; Zhang et al., 2020; Miguel et al., 2021a) et de l'ADPKD (Menezes et al., 2016; Hajarnis et al., 2017). Ainsi, l'activation de la FAO est ainsi envisagée dans le traitement de la fibrose rénale (Kang et al., 2015; Miguel et al., 2021b). D'après nos données de transcriptomique, *CPT1A* et *PGC1A* sont sous-exprimés dans les URECs *NPHP1* et surexprimés après un traitement à la PGE1 (**Figure 5, article**).

D'après le RNA-seq, la PGE1 augmente également le métabolisme des acides gras dans le rein des souris *Nphp1*^{-/-} (**Figure 3, article**). La PGE1 exerce un effet anti-fibrotique via la voie du TGFβ (Elwakeel et al., 2019 ; détaillé dans **la partie 3 de l'introduction**). La PGE1 pourrait également permettre de diminuer la fibrose rénale via une action sur la FAO. Quelques études montrent un rôle de la PGE2 dans le métabolisme mitochondrial, dans le tissu adipeux ou les macrophages par exemple (Ying et al., 2017; Sanin et al., 2018). De plus, une étude récente montre que la PGE2 peut activer la FAO via EP1 et EP3 dans les cellules cancéreuses (Tsai et al., 2022). Aucun lien entre la FAO et la NPH n'a encore été mentionné dans la littérature.

II. Résultats

1) Matrice extracellulaire (MEC)

a) La laminine $\gamma 2$

Dans un premier temps, j'ai validé par Western Blot (WB) l'inhibition de l'expression de LAMC2 en réponse à la PGE1 (**Figure 15A**). Des résultats similaires sont observés en immunofluorescence (IF ; **Figure 15B**). Afin de se rapprocher des conditions physiologiques, j'ai cultivé les URECs dans du matrigel permettant théoriquement de former des sphéroïdes, des structures 3D polarisées (Giles et al., 2014; Ajzenberg et al., 2015). Après sept et quatorze jours de culture, j'ai obtenu des structures cellulaires ressemblant à des sphéroïdes mais qui ne semblent pas polarisées, comme le montre l'absence de lumière centrale (**Figure 15C**) et de cils au pôle apical luminal (données non montrées), que ce soit pour les URECs contrôles et *NPHP1*. On observe tout de même une accumulation de LAMC2 en périphérie des structures (**Figure 15C**) suggérant leur polarisation partielle. La formation des sphéroïdes n'étant pas concluante, je n'ai pas quantifié les résultats obtenus, ni poursuivi ce protocole. En parallèle, j'ai étudié l'expression de *Lamc2* dans le rein des souris *Nphp1*^{-/-} et je n'ai pas observé de différence d'expression globale (**Figure 15D**). LAMC2 est localisée au niveau de la membrane basale des kystes dans des modèles murin de PKD (Shannon et al., 2006; Vijayakumar et al., 2014). Bien que les mécanismes pathophysiologiques soient différents entre les PKD et la NPHj, j'ai voulu étudier la localisation de LAMC2 sur des coupes de rein de souris *Nphp1*^{-/-}, à la recherche d'un enrichissement local au niveau des lésions que je n'aurais pu détecter en qRT-PCR. Je n'ai pas observé d'accumulation de LAMC2 autour des dilatations (**Figure 15E, cercle**). Aucun des anticorps n'a fonctionné sur des coupes de rein de

patients NPH. Bien qu'étant une piste intéressante et qu'un effet clair de la PGE1 soit observé sur l'expression de *LAMC2* dans les URECs, les limites actuelles imposées par nos modèles ne nous permettent pas de conclure quant à la surexpression de cette laminine ou à son rôle potentiel dans la NPH.

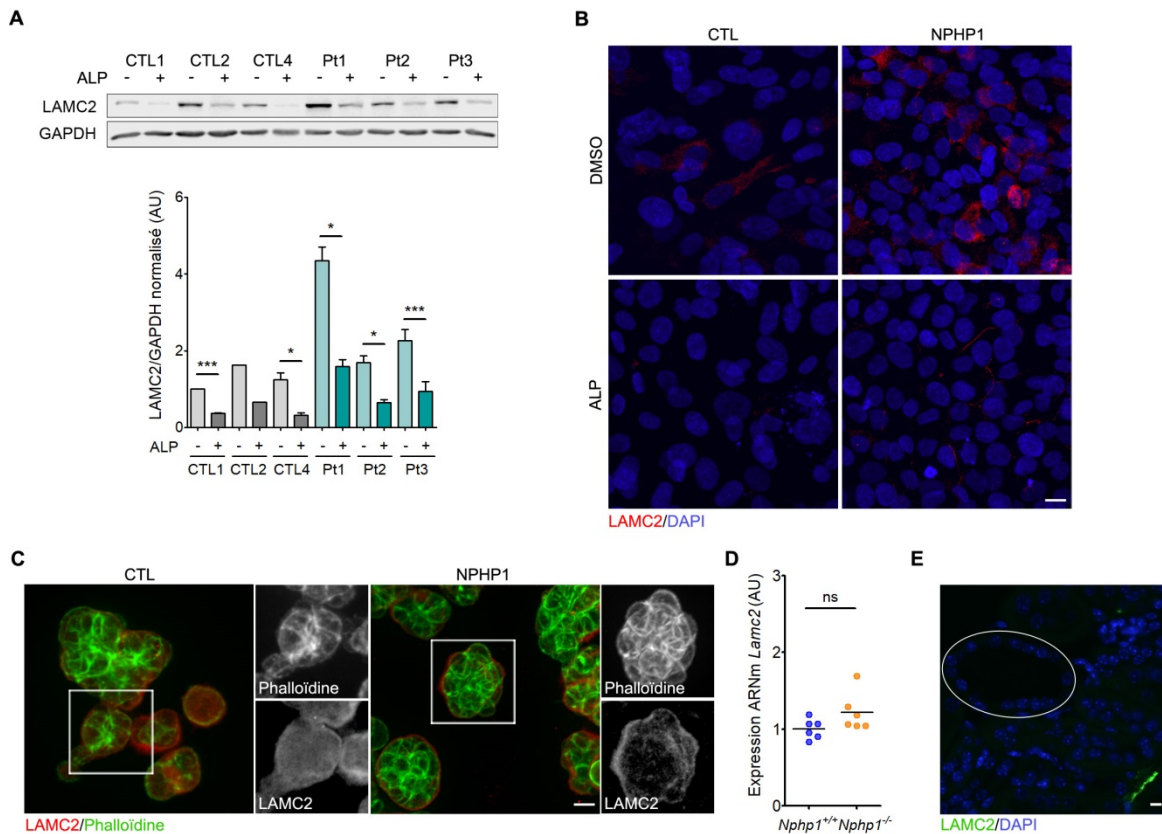


Figure 15 : Étude *in vitro* et *in vivo* de LAMC2 dans un contexte NPHP1 et en réponse à la PGE1.
(A) (*haut*) Image représentative d'un WB de LAMC2 dans les URECs contrôles (CTL, $n = 3$) et *NPHP1* (Pt, $n = 3$) après 24h de traitement au DMSO (0,04%) ou à la PGE1/Alprostadiol (ALP, 2 μ M). (*bas*) Quantification de LAMC2. Test t de Student pa r : * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$. $n = 1$ ou 3 expérience(s). **(B)** Images représentatives d'une IF de LAMC2 (rouge) et des noyaux (DAPI, bleu) dans les URECs CTL et *NPHP1* après 24h de traitement au DMSO (0,04%) ou à l'ALP (2 μ M).  chelle = 10 μ m. **(C)** Images représentatives d'une IF de LAMC2 (rouge) et de l'actine (Phallo idine, vert) dans les sph ro ides d'URECs CTL et *NPHP1* après 7j de culture.  chelle = 20 μ m. **(D)** Analyse qRT-PCR de l'expression de *Lamc2* dans les reins des souris *Nphp1*^{+/+} et *Nphp1*^{-/-} de 5 mois. Chaque point représente une souris ($n = 6$ par groupe). Mann Whitney : ns = non significatif. **(E)** Image représentative d'une IF de LAMC2 (vert) et des noyaux (DAPI, bleu) sur les reins de souris *Nphp1*^{-/-} de 5 mois. La dilatation est encerclée.  chelle = 5 μ m.

b) L'intégrine $\alpha 2$

Concernant l'intégrine $\alpha 2$, je n'ai pas observé d'augmentation significative de la quantité d'ITGA2 dans les URECs *NPHP1* (**Figure 16A**). J'ai observé une diminution significative d'ITGA2 après traitement à la PGE1 uniquement pour 2 lignées (**Figure 16A**). L'effet de la PGE1 n'est donc pas robuste au niveau protéique. De plus, je n'ai pas détecté

d'augmentation significative d'*Itga2* dans les reins des souris *Nphp1*^{-/-} (**Figure 16B**). Aucun des anticorps testés n'a fonctionné sur des coupes de rein de souris ou de patients.

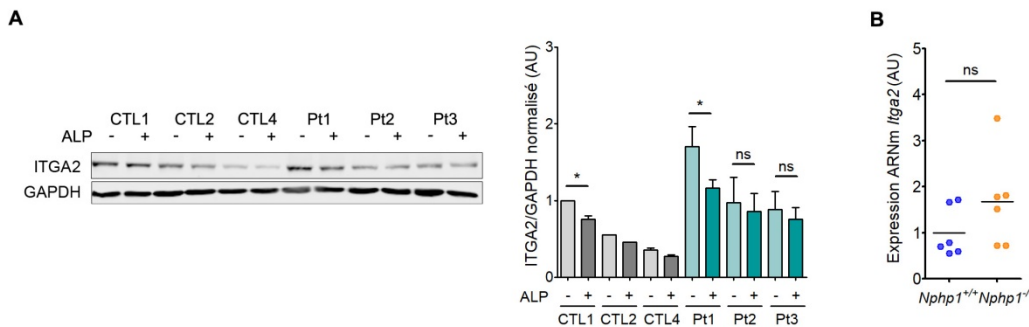


Figure 16 : Quantité d'ITGA2 dans les URECs en réponse à la PGE1 et dans les souris *Nphp1*^{-/-}.

(A) (gauche) Image représentative d'un WB d'ITGA2 dans les URECs contrôles (CTL, $n = 3$) et *NPHP1* (Pt, $n = 3$) après 24h de traitement au DMSO (0,04%) ou à la PGE1/Alprostadil (ALP, 2 μ M). (droite) Quantification d'ITGA2. Test t de Student païré : * $P < 0,05$, ns = non significatif. $n = 1$ à 3 expérience(s). **(B)** Analyse qRT-PCR de l'expression d'*Itga2* dans les reins des souris *Nphp1*^{+/+} et *Nphp1*^{-/-} de 5 mois. Chaque point représente une souris ($n = 6$ par groupe). Mann Whitney : ns = non significatif.

2) Oxydation des acides gras (FAO)

J'ai ensuite étudié les mitochondries et la FAO dans un contexte *NPHP1* et en réponse à la PGE1. Dans les URECs, l'absence de *NPHP1* ainsi que le traitement n'impactent pas la morphologie des mitochondries (**Figure 17A**). De manière cohérente, je n'ai pas observé de différence majeure de marquage mitochondrial au niveau des cellules tubulaires des souris *Nphp1*^{-/-}, que ce soit dans les tubules dilatés ou normaux (données non montrées). Les données de RNA-seq indiquent que l'expression de *PGC1A* est diminuée dans les URECs *NPHP1* et augmentée après traitement à la PGE1. *PGC1A* est un facteur de transcription impliqué dans le contrôle de la biogenèse des mitochondries (Halling et Pilegaard, 2020). La quantification de l'intensité de fluorescence de COXIV, une protéine de la membrane interne des mitochondries, ne montre pas de différence de masse mitochondriale (quantité totale de mitochondries) entre les URECs contrôles et *NPHP1*, ni d'effet de la PGE1 (données non montrées). J'ai confirmé cette observation en WB (**Figure 17B**) et en cytométrie en flux, avec la quantification de l'intensité du MitoTracker, une sonde fluorescente marquant toutes les mitochondries (**Figure 17C**). D'après la quantification de l'intensité du MitoSpy, une sonde fluorescente marquant les mitochondries actives, il n'y a pas de différence significative d'activité mitochondriale entre les URECs contrôles et *NPHP1* (**Figure 17D**). Le traitement à la PGE1 ne semble avoir qu'un faible impact positif sur l'activité mitochondriale (**Figure 17D**).

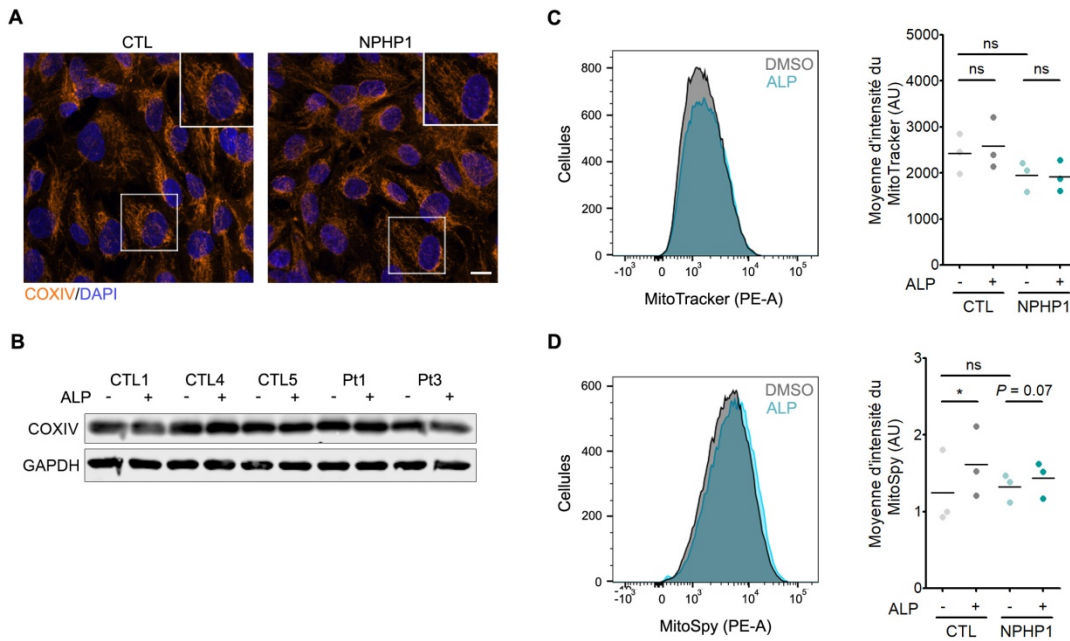


Figure 17 : Morphologie, masse et activité mitochondriale dans les URECs en réponse à la PGE1.

(A) Images représentatives d'une IF des mitochondries (COXIV, orange) et des noyaux (DAPI, bleu) dans les URECs contrôles (CTL) et *NPHP1*. Échelle = 10µm. (B) Image d'un WB de COXIV dans les URECs CTL ($n = 3$) et *NPHP1* (Pt, $n = 2$) après 48h de traitement au DMSO (0,04%) ou à la PGE1/Alprostadiil (ALP, 2µM). $n = 1$ expérience. (C, D) (gauche) Image représentative de l'intensité moyenne de fluorescence du MitoTracker (C) et du MitoSpy (D) en cytométrie en flux, dans les URECs après 48h de traitement au DMSO (0,04%, gris) ou à l'ALP (2µM, bleu). (droite) Quantification de l'intensité moyenne de fluorescence du MitoTracker (C) et du MitoSpy (D) dans les URECs CTL ($n = 3$) et *NPHP1* ($n = 3$). Chaque point représente une lignée d'URECs. Test t de Student pairé (DMSO vs ALP) ou non pairé (CTL vs *NPHP1*) : * $P < 0,05$, ns = non significatif. $n = 1$ ou 2 expérience(s).

J'ai ensuite étudié la FAO. Tout d'abord, j'ai analysé l'expression des autres acteurs clés de la voie par qRT-PCR. *CPT1A* et *CPT2* sont localisées au niveau de la membrane mitochondriale et permettent le transport de l'acétyl-coA. *ACOX1* et *ACOX2* sont localisées dans les peroxysomes où ils désaturent les longues chaînes d'acides gras pour qu'elles puissent être utilisées pour la FAO. *PPARA* et *PGC1A* sont deux facteurs de transcription activant la FAO. J'ai pu confirmer par qRT-PCR l'augmentation de l'expression de *CPT1A* et *PGC1A* observée dans le RNA-seq en réponse au traitement à la PGE1 (Figure 5C, article ; Figure 18A). *CPT2*, *ACOX1* et *PPARA* ne sont en revanche pas différemment exprimés en réponse au PGE1 (Figure 18A). *ACOX2* n'est pas exprimé par les URECs. En plus de ces gènes classiquement étudiés comme marqueur de la FAO, l'expression de *PDK4*, une kinase mitochondriale régulant le métabolisme du glucose et des acides gras, est positivement corrélée à l'activation de la FAO (Pettersen et al., 2019). De manière intéressante, l'expression de *PDK4* est augmentée après traitement à la PGE1 (Figure 18A). L'augmentation de *PDK4* n'est que partiellement confirmée par WB, la variabilité entre les

réplicas n'ayant pas permis d'atteindre le seuil de significativité pour toutes les lignées testées (**Figure 18B**). Enfin, *Cpt1a* n'est pas différemment exprimé dans le rein des souris *Nphp1*^{-/-} (**Figure 18C**). L'absence d'anticorps fonctionnant en IF sur les coupes histologiques ne nous a pas permis d'investiguer des modulations locales de la FAO au niveau des dilatations des souris *Nphp1*^{-/-} ou dans les reins des patients *NPHP1*.

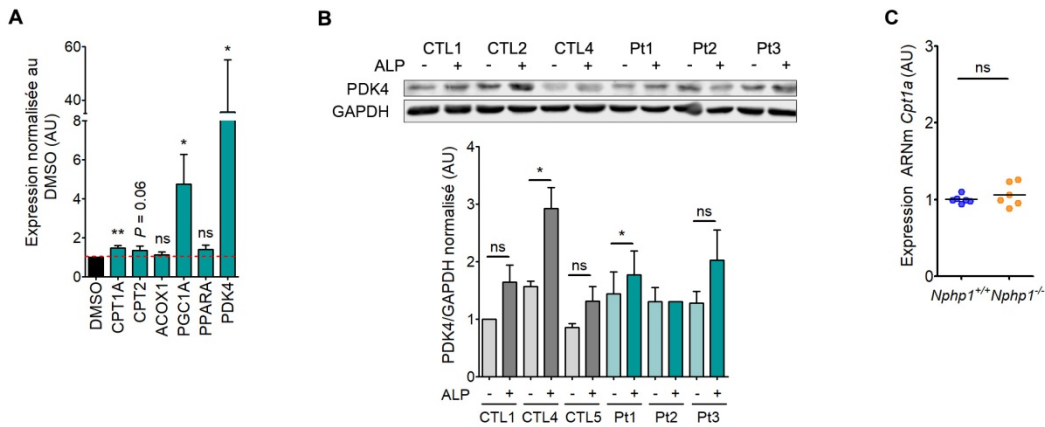


Figure 18 : Expression des acteurs de la FAO dans les URECs en réponse à la PGE1 et dans le rein des souris *Nphp1*^{-/-}.

(A) Analyse qRT-PCR de l'expression des acteurs de la FAO dans les URECs *NPHP1* ($n = 5$) après 24h de traitement à la PGE1/Alprostadil (ALP, 2 μ M). $n = 2$ expériences. **(B)** (*haut*) Image représentative d'un WB de PDK4 dans les URECs contrôles (CTL, $n = 3$) et *NPHP1* (Pt, $n = 3$) après 24h de traitement au DMSO (0,04%) ou à l'ALP (2 μ M). (*bas*) Quantification de PDK4. $n = 2$ ou 3 expériences. **(C)** Analyse qRT-PCR de l'expression de *Cpt1a* dans les reins des souris *Nphp1*^{+/+} et *Nphp1*^{-/-} de 5 mois. Chaque point représente une souris ($n = 6$ par groupe). Mann Whitney : ns = non significatif. **(A, B)** Test t de Student pairé : * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, ns = non significatif.

Face aux résultats partiellement informatifs du MitoSpy et des qRT-PCR, j'ai décidé d'utiliser la technique du Seahorse pour étudier l'activité des mitochondries et la FAO, en l'absence de *NPHP1* et après traitement à la PGE1. Le Seahorse est une technologie permettant d'étudier la respiration mitochondriale, en étudiant le taux de consommation d'oxygène (OCR) suite à différents traitements (**Figure 19A**). Brièvement, l'oligomycine inhibe la synthèse d'ATP par le complexe V dans les mitochondries. Le FCCP rend la membrane mitochondriale perméable aux protons et stimule la respiration mitochondriale à son maximum. L'antimycine A et la roténone inhibent les complexes I et III des mitochondries, et empêchent toute respiration mitochondriale. Je n'ai pas observé de différence de respiration mitochondriale entre les URECs contrôles et *NPHP1* en condition basale (**Figure 19B**). Après traitement à la PGE1, la respiration mitochondriale basale n'est pas modifiée pour les URECs contrôles mais semble plus faible la lignée *NPHP1* Pt3 (**Figure**

19C, droite). Afin d'étudier l'impact du traitement à la PGE1 sur la FAO, les cellules ont été traitées à l'étomoxir, un inhibiteur de CPT1A. Comme attendu, l'OCR diminue après traitement à l'étomoxir (courbes en orange), et ne peut pas atteindre le plateau maximum observé en condition basale après traitement avec le FCCP (**Figure 19C**). Le traitement à l'étomoxir diminue de manière plus importante l'OCR lorsque les URECs contrôles ont préalablement été traitées à la PGE1 pendant 24h, suggérant que la PGE1 augmente la contribution de la FAO dans la respiration mitochondriale (**Figure 19C, gauche et centre**). En revanche aucun effet n'est observé pour la lignée *NPHP1* Pt3 testée dans les mêmes conditions (**Figure 19C, droite**).

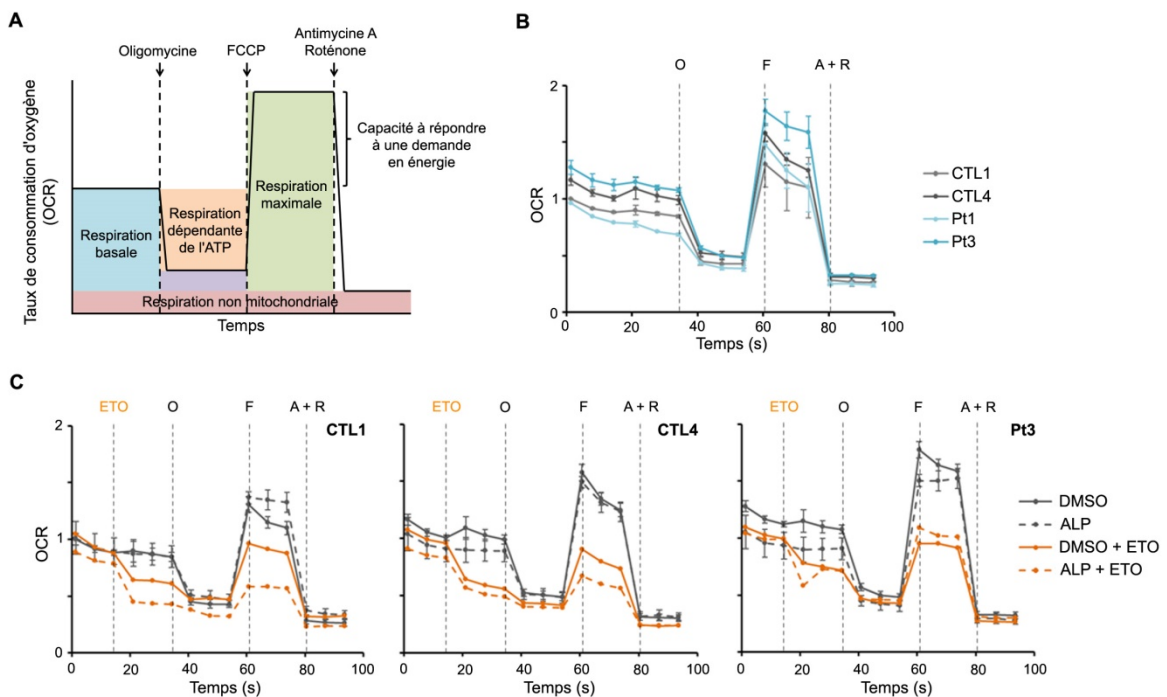


Figure 19 : Respiration mitochondriale et FAO dans les URECs en réponse à la PGE1.

(A) Profil du taux de consommation d'oxygène (OCR) au cours du temps lors d'une expérience de Seahorse. L'oligomycine inhibe la synthèse d'ATP par le complexe V dans les mitochondries. Le FCCP rend la membrane mitochondriale perméable aux protons et stimule la respiration mitochondriale à son maximum. L'antimycine A et la roténone inhibent les complexes I et III des mitochondries, et empêchent la respiration mitochondriale. L'ajout de différentes molécules permet d'analyser la capacité respiratoire des cellules. **(B)** OCR des URECs contrôles (CTL, $n = 2$) et *NPHP1* (Pt, $n = 2$) dans des conditions basales, après l'ajout d'oligomycine (O), de FCCP (F) et d'antimycine A et roténone (A+R). $n = 2$ expériences. **(C)** OCR des URECs contrôles ($n = 2$, gauche et centre) et *NPHP1* ($n = 1$, droite), avec ou sans inhibition de la FAO avec l'étomoxir (ETO, 25 μ M), après 24h de traitement au DMSO (0,04%) ou à la PGE1/Alprostadiol (ALP, 2 μ M). $n = 1$ ou 2 expérience(s).

III. Conclusion et discussion

Le traitement des URECs *NPHP1* avec la PGE1 a permis de restaurer la ciliogenèse via la régulation du cycle cellulaire et la modulation du cytosquelette d'actine. Les analyses transcriptomiques ont cependant mis en avant d'autres voies de signalisation dérégulées en l'absence de *NPHP1* et modulées par la PGE1.

La fibrose est communément observée dans les maladies rénales chroniques et les ciliopathies rénales comme la NPH. Un remodelage important de la MEC se produit pendant le processus fibrotique. Plusieurs études montrent l'importance du cil primaire dans le remodelage de la MEC (Seeger-Nukpezah et Golemis, 2012; Collins et Wann, 2020). En effet, des défauts ciliaires peuvent altérer la signalisation des intégrines et la production de MEC. Notamment, une étude montre que la perte du cil favorise la transition endothéliale-mésenchymateuse (Egorova et al., 2011). Nos résultats dans les URECs suggèrent que l'absence de *NPHP1* s'accompagne d'une modulation de l'expression de gènes codant des protéines en lien avec la MEC, notamment de certaines intégrines et laminines. De manière cohérente, d'autres modèles cellulaires de ciliopathies montrent une modification de l'activité des intégrines et de l'adhérence à la MEC (van Adelsberg, 1994; Battini et al., 2006).

La PGE2 est connue pour diminuer la fibrose, notamment via EP2 (Mutsaers et Nørregaard, 2022). De manière cohérente, les données de transcriptomique montrent que la PGE1 diminue l'expression de gènes codant pour des constituants de la MEC (laminines) ou interagissant avec la MEC (intégrines) dans les URECs *NPHP1*. L'effet de la PGE1 est particulièrement visible sur *LAMC2* qui est associé à la kystogenèse dans des modèles PKD (Joly et al., 2006; Vijayakumar et al., 2014). La laminine $\gamma 1$ peut être utilisée comme biomarqueur de remodelage de la MEC dans les maladies rénales chroniques et corrèle avec un risque élevé d'IRT (Holm Nielsen et al., 2018). Il serait intéressant d'étudier l'effet de la PGE1 sur *LAMC1*, et d'étudier plus en détail *LAMC2* dans la NPH pour déterminer s'il peut servir de biomarqueur.

Il a précédemment été décrit que l'absence de *NPHP1* dans les MDCK résulte en la formation de sphéroïdes désorganisés avec plusieurs lumières (Delous et al., 2009) ou une lumière irrégulière associée à des défauts de jonctions serrées dans les mIMCD3 (Sang et al., 2011). Cela est cohérent avec le rôle de *NPHP1* aux jonctions cellulaires, et avec nos résultats de transcriptomique qui soulignent le rôle de cette protéine dans l'organisation du

cytosquelette. Nous n'avons pas réussi à obtenir de sphéroïdes correctement polarisés avec formation d'une lumière centrale, bien que nous ayons suivi les protocoles publiés pour les URECs (Ajzenberg et al., 2015; Slaats et al., 2015). Ces précédentes études ont cependant été réalisées sur des URECs primaires tandis que les nôtres sont immortalisées. Les structures que nous avons obtenues semblent cependant être un minimum polarisées puisque LAMC2 est enrichie au niveau de la membrane basale. Nous avons cependant décidé d'abandonner cette approche dans les URECs.

Des défauts des mitochondries (diminution de la masse mitochondriale, fragmentation des mitochondries, augmentation du stress oxydatif) ainsi qu'une diminution de la FAO sont observés dans les maladies rénales aiguës et chroniques (Kang et al., 2015; Duann et Lin, 2017). Parallèlement, plusieurs études montrent un lien entre le métabolisme mitochondrial et le cil primaire. Le flux augmente la lipophagie, d'une manière dépendante du cil primaire, produisant des acides gras qui sont utilisés pour la FAO et la production d'ATP (Miceli et al., 2020). Des défauts des mitochondries peuvent influencer la ciliogenèse (Burkhalter et al., 2019; Failler et al., 2021) et sont observés dans l'ADPKD (Ishimoto et al., 2017; Cassina et al., 2020) où est aussi rapporté une diminution de la FAO (Menezes et al., 2016, Hajarnis et al., 2017). Malgré ces liens possibles, nous n'avons pas observé d'anomalie des mitochondries ou de la FAO dans nos modèles *NPHP1*. Les souris *Nphp1*^{-/-} présentent peu de lésions rénales (dilatations tubulaires) et ne développent pas de fibrose, ce qui peut expliquer l'absence de changements métaboliques. Même en prenant en compte la variabilité entre les lignées d'URECs, il ne semble pas que l'absence de *NPHP1* impacte la morphologie, la quantité ou l'activité des mitochondries. Il est toutefois intéressant de noter que l'absence de *XNPEP3*, une protéine mitochondriale, résulte en des phénotypes de type ciliopathie chez le ZF, et que des variants de ce gène sont à l'origine d'une maladie rénale ressemblant à la NPH chez l'Homme (O'Toole et al., 2010).

Les résultats concernant la modulation de la FAO par la PGE1 sont difficiles à interpréter. Tout d'abord, mis à part *PDK4*, seule l'expression de *CPT1A* et *PGC1A* est augmentée après traitement à la PGE1. Les autres études montrent une surexpression de tous les membres de la voie lorsque la FAO est augmentée dans les maladies rénales chroniques et la fibrose (Kang et al., 2015). Les expériences ayant eues pour but de mesurer l'activité des mitochondries (cytométrie en flux) ou la respiration mitochondriale (Seahorse) ne montrent pas un effet franc de la PGE1 sur la FAO. L'activation partielle des gènes de la voie pourrait expliquer l'absence d'effet fonctionnel. Une étude montre que la PGE2 peut moduler

positivement la FAO via les récepteurs EP1 et EP3 (Tsai et al., 2022). Les URECs expriment faiblement EP1 et EP3. Une modulation de la FAO par EP2, le récepteur le plus exprimé dans les URECs, est cependant possible. En effet, la production d'AMPc présente un effet positif sur l'expression de *PGC1A*, ce qui pourrait expliquer partiellement nos résultats (Louet et al., 2002; Lv et al., 2017; Wahlang et al., 2018).

IV. Matériel et méthodes

Les protocoles concernant les URECs, l'extraction d'ARN et de protéines, la qRT-PCR, l'IF, l'acquisition d'images, le WB et l'analyse statistique sont détaillés dans le **matériel et méthodes de l'article**.

Sphéroïdes. Les URECs ont étéensemencées dans une plaque 96 puits avec un fond en verre (655892, Greiner) à une concentration de 1.25×10^4 cellules/puit dans du REBM/50% matrigel (356331, Corning). Après 1h à 37°C, 150µL de REBM pré-chauffé à 37°C est ajouté. Le milieu est ensuite changé tous les 2 jours. Les sphéroïdes sont fixés après 7 jours et 14 jours.

Anticorps. Les anticorps suivants ont été utilisés : LAMC2 (1/1000^e pour les WB, 1/200^e pour les IF ; Sigma, AMAB91098), ITGA2 (1/1000^e ; Abcam, ab181548), COXIV (1/1000^e pour les WB, 1/300^e pour les IF ; Proteintech, 11242-1-AP) et PDK4 (1/1000^e ; Proteintech, 12949-1-AP).

Immunofluorescence (IF). Les sondes fluorescentes MitoSpy Orange CMTMRos (424803, BioLegend) et MitoTracker Red (M7512, ThermoFischer) ont été utilisées pour marquer respectivement les mitochondries actives et totales. Brièvement, les cellules ont été rincées au PBS 1X, avant d'être incubées avec la sonde, à une concentration de 250nM dans du milieu sans sérum, pendant 30min à 37°C.

Cytométrie en flux. Les URECs ont étéensemencées dans une plaque 6 puits à une concentration de 1.5×10^6 cellules/puit dans du REBM. Après 3 jours, les cellules ont été traitées avec 2µM d'Alprostadil ou 0.04% de DMSO. Après 48h, les sondes fluorescentes MitoSpy et MitoTracker sont ajoutées sur les cellules, à une concentration de 20nM, selon la description faite dans la partie IF. La viabilité cellulaire est déterminée avec un marquage

au Helix NP Blue (425305, BioLegend). Les études sont réalisées sur l'appareil Fortessa X-20 (BD Biosciences). Les résultats sont analysés avec le logiciel FlowJo.

qRT-PCR. Les primers utilisés pour l'étude de la FAO sont les suivants :

| Gène | Espèce | Primer forward (5' to 3') | Primer reverse (5' to 3') |
|--------------|--------|---------------------------|---------------------------|
| <i>CPT1A</i> | Homme | CCATGCCATCCTGCTTTACA | ATCGTGGATCCCAAAGACG |
| <i>CPT2</i> | Homme | GCTGCCTATTCCCAAAGTGA | TCTGTTTCCTGAACTGGCC |
| <i>ACOX1</i> | Homme | GGCGCATACATGAAGGAGACCT | AGGTGAAAGCCTTCAGTCCAGC |
| <i>PGC1A</i> | Homme | CCAAAGGATGCGCTCTCGTTCA | CGGTGTCTGTAGTGGCTTGACT |
| <i>PPARA</i> | Homme | CTATCATTGCTGTGGAGATCG | AAGATATCGTCCGGGTGGTT |
| <i>PDK4</i> | Homme | GGTGGTGTCCCTGAGAAT | GGCAAGCCGTAACCAAACC |

Seahorse. Les URECs ont étéensemencées dans une plaque 96 puits Seahorse (101085-004, Agilent) à une concentration de 1.5×10^5 cellules/puit dans du REBM. Après 3 jours, les cellules ont été traitées avec $2 \mu\text{M}$ d'Alprostadil ou 0.04% de DMSO. Après 24h, les cellules sont rincées au PBS 1X et le milieu est remplacé par du DMEM faible en phosphate. Les cellules sont placées dans un incubateur à 37°C sans CO_2 en attendant d'être analysées avec l'appareil Seahorse XF96 (Agilent). La respiration mitochondriale est analysée avec le kit Long Chain FAO Stress Test (103672-100, Agilent).

CONCLUSION ET DISCUSSION

Le criblage d'une banque de molécules présentant une biodisponibilité et une sécurité connues chez l'Homme a permis l'identification de la PGE1, un analogue de la PGE2, comme stratégie thérapeutique potentielle dans le cadre de la NPH. La PGE1 corrige les défauts phénotypiques associés à la perte d'expression de *NPHP1*, dans des lignées cellulaires invalidées pour ce gène et les URECs issues de patients *NPHP1*. De plus, elle atténue les lésions rénales et ciliaires des ZF *nphp4* et des souris *Nphp1*^{-/-}. Enfin, un agoniste spécifique du récepteur EP2 améliore la dégénérescence rétinienne sévère des souris *Nphp1*^{-/-}. La PGE1 exerce son effet bénéfique via des voies de signalisation communes entre les URECs *NPHP1* et les souris *Nphp1*^{-/-} : la stimulation de l'AMPC, le cycle cellulaire, la régulation de l'adhésion et de la MEC, et la réorganisation du cytosquelette. Notre étude démontre donc le potentiel thérapeutique de l'utilisation de molécules pharmacologiques dans la correction des phénotypes associés à la délétion du locus *NPHP1*.

I. Modèles utilisés

Ce travail de thèse a été principalement réalisé dans deux modèles d'études : les URECs *NPHP1* et les souris *Nphp1*^{-/-}.

1) URECs

Les URECs sont un modèle d'étude cellulaire très avantageux. Leur recueil est simple et non invasif, et permet de travailler sur des cellules épithéliales rénales exprimant les variants génétiques propres à chaque patient. Il en résulte cependant une relativement grande variabilité entre les lignées issues de différents donneurs. Les cellules primaires ne pouvant survivre au-delà de quelques passages, nous les immortalisons avec un vecteur lentiviral portant l'antigène grand T de SV40 thermosensible. Une fois les cellules placées à 39°C, l'expression de SV40 diminue et les cellules arrêtent de proliférer. Le cycle cellulaire et la ciliogenèse étant étroitement liés, j'ai vérifié que la dynamique d'extinction de SV40 était similaire entre les lignées contrôles et patients (**Figure S2C-D, article**). L'immortalisation ne change pas les caractéristiques des URECs (ciliogenèse, profil transcriptomique ; **Figure S2A, article**). Les URECs expriment des marqueurs des différents segments du tubule rénal (**Figure S2A, article**). Parallèlement, mes résultats de cytométrie en flux indiquent que les URECs expriment majoritairement des marqueurs des cellules proximales (GGT1) et des cellules souches (fortement CD24, faiblement CD133/PROM1 ; données non montrées). Plusieurs populations de cellules souches existent dans le rein. Les populations se distinguent les unes

des autres grâce à l'expression ou non des marqueurs CD24, CD133/PROM1 et CD106/VCAM1 (Huang et al., 2021a). Je n'ai pas étudié le marqueur CD106/VCAM1 en cytométrie, mais les analyses de RNA-seq montrent qu'il est exprimé par les URECs (**Figure S2A, article**). Ces résultats indiquent donc que les URECs sont principalement des cellules proximales et progénitrices. Leur capacité proliférative participe sans doute à leur établissement en culture après le recueil. De plus, les URECs expriment principalement *PTGER2* (EP2), qui est le récepteur EP le moins exprimé par les cellules épithéliales rénales. Il est cependant exprimé par les cellules progénitrices, renforçant l'hypothèse que les URECs sont des cellules souches rénales (Angelotti et al., 2012; Fuchs et al., 2022).

2) Modèles murins *Nphp1*

a) *Rein*

A l'exception des souris *Glis2/Nphp7*, aucun modèle murin orthologue décrit avant ce travail ne reproduisait les caractéristiques histologiques et le défaut de fonction rénal observés dans la NPHj. Aucune lésion rénale n'a été observée dans les deux modèles murins *Nphp1* précédemment générés, les souris *Nphp1^{del20}* et *Nphp1^{gt}* (Jiang et al., 2008; Louie et al., 2010). Pour cette raison, nous avons créé un modèle de souris *Nphp1^{-/-}* par CRISPR-Cas9, avec une délétion de l'ATG de l'exon 1, menant à une absence totale d'expression du gène et de la protéine (**Figure S5, article**). Mon travail a permis de montrer que les souris développent des dilatations rénales dans le DCT et le CNT (**Figure S8A,B, article**), comme le modèle murin de NPHi *jck/Nek8/Nphp9* (Blanc et al., 2021). La localisation des dilatations des souris *Nphp1^{-/-}* est en accord avec les marquages que nous avons effectués sur des biopsies de patients, qui montrent que les dilatations sont présentes majoritairement dans la partie distale du néphron, bien qu'elles soient également étendues à l'anse de Henlé (**Figure S8C, article**). La présence des dilatations dans un plus grand nombre de segments du néphron peut être expliquée par le prélèvement des biopsies à des stades tardifs de la NPH. La longueur des cils est augmentée dans les dilatations des souris *Nphp1^{-/-}*. Des cils plus longs sont également observés dans d'autres modèles murins de NPH comme les souris *Cep290* (Ramsbottom et al., 2018), dans les biopsies de patients CEP290 (Ramsbottom et al., 2018) et dans nos biopsies de patients *NPHP1* (**Figure S10B,C, article**). A l'inverse, une étude rapporte des cils plus courts dans une biopsie rénale de patient *NPHP1* (Ning et al., 2021). Bien que nos souris ne développent pas de fibrose d'un point de vue histologique, nous détectons une signature transcriptomique pro-fibrotique par RNA-seq et une augmentation de l'expression *Col1a1* (**Figure 3E, S11F, article**). Nos souris semblent donc récapituler les

premiers stades de la NPHj. Pendant la révision de l'article, un nouveau modèle murin *Nphp1* a été publié, avec une délétion des exons 2 à 22 du gène *Nphp1* (Li et al., 2021a). Les souris *Nphp1^{del2-22}* développent une polyurie dès l'âge de cinq semaines, mais ne présentent pas de dilatations tubulaires ou d'épaississement des membranes basales avant l'âge de neuf mois. De plus, elles n'ont pas de fibrose interstitielle majeure ou d'augmentation de la créatinine plasmatique avant l'âge d'un an et demi (Li et al., 2021a). Bien que reproduisant certaines caractéristiques de la NPHj, les souris *Nphp1^{-/-}* et *Nphp1^{del2-22}* développent peu de lésions et tardivement en comparaison de l'Homme.

b) Rétine

Les souris *Nphp1^{-/-}* développent une rétinopathie sévère dès le quatorzième jour après la naissance, avec une perte totale des photorécepteurs à quarante-cinq jours (**Figure S6, article**). La dégénérescence rétinienne est plus sévère que celle du modèle *Nphp1^{del20}*, où les premiers défauts sont observés à vingt-et-un jours avec une perte complète des photorécepteurs à huit mois (Jiang et al., 2009), et celle du modèle *Nphp1^{gt}*, où le nombre de photorécepteurs diminue jusqu'à quatre mois sans disparition totale par la suite (Louie et al., 2010; Datta et al., 2021). Les souris *Nphp1^{del2-22}* ne possèdent plus de photorécepteurs à l'âge de cinq semaines. Les temps précoces n'ont pas été étudiés et ne permettent pas de comparer la gravité du phénotype rétinien entre ce modèle et nos souris *Nphp1^{-/-}*. La perte des photorécepteurs dans les souris *Nphp1* est cohérente avec la dégénérescence rétinienne parfois observée dans les patients *NPHP1* (Birtel et al., 2021).

3) Comparaison des modèles *in vitro/in vivo*

Les défauts ciliaires de nos modèles sont variables : la ciliogenèse est diminuée dans les URECs *NPHP1* sans changement de la taille des cils, alors que la taille des cils est diminuée dans les ZF *nphp4*, mais augmentée dans les dilatations des souris *Nphp1^{-/-}*. Tous ces défauts sont pourtant restaurés par la PGE1. Comme pour les URECs, l'inactivation de *Nphp1* dans les cellules MDCK et mIMCD3 cause un défaut de ciliogenèse (Delous et al., 2009 ; **Figure S1, article**). De manière intéressante, le phénotype ciliaire change lorsque les MDCK *Nphp1* sont cultivées en 3D (sphéroïdes). Les cils deviennent alors plus longs que ceux des contrôles, comme dans les souris *Nphp1^{-/-}* et les biopsies de patients *NPHP1*. Les phénotypes ciliaires varient en fonction des modèles cellulaires de ciliopathies : on peut observer un défaut de ciliogenèse et/ou une augmentation de la longueur des cils (Bizet et al., 2015; Ramsbottom et al., 2018; Molinari et al., 2019; Kruczek et al., 2022). La diminution de la taille des cils est

un phénotype de ciliopathie classiquement observé chez le ZF (Song et al., 2016). La grande diversité des processus influençant la ciliogenèse et la longueur des cils peut expliquer pourquoi nous observons des différences de phénotype ciliaire en fonction du type cellulaire, de la méthode de culture (2D, 3D), de l'organe ou de l'organisme (Park, 2018).

II. Effet bénéfique de la PGE1 sur les phénotypes ciliaires des URECs *NPHP1*

1) Ciliogenèse et défaut de composition ciliaire

Les URECs *NPHP1* ont un défaut de ciliogenèse. La ciliogenèse est un critère qui a été utilisé dans plusieurs criblages cherchant à identifier des gènes de ciliopathies ou des molécules thérapeutiques (Kim et al., 2010, 2018; Wheway et al., 2015; Lake et al., 2020). Notre crible de molécules a montré l'effet robuste de la PGE1 dans l'augmentation de la ciliogenèse des URECs *NPHP1*. Deux autres études ont utilisé avec succès une approche similaire, à savoir la compensation des défauts de ciliogenèse provoqués par l'absence d'un gène *NPHP* par des molécules pharmacologiques. Les travaux de Kim et al. ont montré l'effet bénéfique de l'eupatiline sur le défaut de ciliogenèse de cellules RPE1 invalidées pour *CEP290/NPHP6* (Kim et al., 2018). Cet effet est expliqué par l'augmentation de l'expression et de la localisation ciliaire d'IQCB1/*NPHP5* après traitement, compensant l'absence de *CEP290/NPHP6*. L'eupatiline améliore également la sensibilité à la lumière des souris *Cep290/Nphp6*. Dans leur étude, Lake et al. utilisent des cellules RPE1 invalidées pour *RPGRIP1L/NPHP8* et *TMEM67/NPHP11* (Lake et al., 2020). La Fasudil, un inhibiteur de ROCK-1 et ROCK-2, restaure la ciliogenèse des RPE1 *RPGRIP1L/NPHP8*, mais pas des RPE1 *TMEM67/NPHP11*.

L'absence de *NPHP1* perturbe l'intégrité de la TZ. Ning et al. ont montré une augmentation de *NPHP4* dans le compartiment ciliaire sur une biopsie de patient *NPHP1* (Ning et al., 2021). J'ai étudié la localisation de *NPHP4* et *NPHP11* dans deux lignées d'URECs *NPHP1*. Contrairement à ce qui a été précédemment observé, la localisation de *NPHP4* et *NPHP11* est toujours restreinte à la TZ (donnée non montrées). L'une des deux lignées d'URECs *NPHP1* analysée présente une diminution de la quantité de ces deux protéines à la TZ. Cette lignée possède une délétion homozygote du locus *NPHP1*, tandis que l'autre lignée porte une délétion hétérozygote avec une mutation faux-sens. L'étude des phénotypes sur l'ensemble de nos URECs *NPHP1* ne permet cependant pas de conclure à une corrélation

entre le phénotype (diminution de la ciliogenèse, défaut de composition ciliaire, réponse à la PGE1) et le type de variant (délétion ou mutation faux/non-sens).

La perte d'intégrité de la TZ mène à un défaut de composition ciliaire. Ning *et al.* ont montré une diminution d'INPP5E dans le compartiment ciliaire sur une biopsie de patient *NPHP1* (Ning *et al.*, 2021). J'ai obtenu le même résultat dans les URECs *NPHP1* (**Annexe 4**). De plus, on observe une diminution du nombre de cils exprimant l'adénylate cyclase III (AC3), bien que sa quantité par cil positif ne soit pas diminuée (**Figure 2D-F, article**). La perte de la localisation ciliaire d'AC3 a été précédemment observée dans d'autres modèles de ciliopathies (Halbritter *et al.*, 2013a; Bizet *et al.*, 2015; Ryan *et al.*, 2018; Molinari *et al.*, 2019). La PGE1 permet de restaurer partiellement ce défaut de composition ciliaire.

2) Mécanismes d'action de la PGE1 sur la ciliogenèse

La signalisation AMPc stimule la ciliogenèse, en augmentant la vitesse du trafic IFT antérograde et en régulant des acteurs clés du processus de ciliogenèse (New et Wong, 2007; Besschetnova *et al.*, 2010; Oishi *et al.*, 2012; Gerarduzzi *et al.*, 2014; Senatore *et al.*, 2021). Plusieurs études montrent qu'EP4 stimule la ciliogenèse via l'augmentation de la production d'AMPc grâce à son activité *Gαs* (Jin *et al.*, 2014; May-Simera *et al.*, 2018). Bien qu'EP2 soit également couplé à une *Gαs*, aucun lien n'a encore été établi dans la littérature entre ce récepteur et la ciliogenèse. Les URECs expriment principalement *PTGER2* (EP2 ; **Figure S4A, article**). J'ai confirmé l'activation de la voie AMPc après l'ajout de la PGE1 (**Figure S14A-C, article**). De plus, la stimulation des URECs avec la forskoline, un activateur des adénylates cyclases, mime les résultats obtenus avec la PGE1 (**Figure S14A,D,E, article**). Enfin, l'utilisation d'un agoniste spécifique d'EP2 induit un effet similaire à la PGE1, alors qu'un agoniste spécifique d'EP4 n'augmente que faiblement la ciliogenèse des URECs *NPHP1* (données non montrées, brevet WO2019075369A1). Ainsi, EP2 est le récepteur principal permettant la restauration de la ciliogenèse dans les URECs *NPHP1* via l'AMPc. Nos résultats prouvent pour la première fois qu'EP2 a un effet positif sur la ciliogenèse *in vitro*.

Il a été précédemment démontré que la stimulation d'EP4 augmente la vitesse du trafic IFT antérograde (Jin *et al.*, 2014). Nous n'avons pas étudié la vitesse du trafic IFT. En revanche, j'ai démontré que la PGE1 augmente la quantité de p27^{Kip1}, une protéine du cycle cellulaire indispensable à l'entrée en quiescence des cellules (**Figure S14F-G, article**). p27^{Kip1} est un régulateur positif de la ciliogenèse (Izawa *et al.*, 2015; Yukimoto *et al.*, 2020). Ce

résultat est cohérent avec de précédents travaux montrant que l'AMPC, via le facteur de transcription CREB, et la PGE2 augmentent l'expression de p27^{Kip1} (New et Wong et al., 2007; Nasrallah et al., 2015; May-Simera et al., 2018). De plus, j'ai observé une diminution de l'activité de RhoA après traitement à la PGE1 (**Figure 5D, article**). RhoA augmente la contractilité du cytosquelette d'actine et est un régulateur négatif de la ciliogenèse (Valente et al., 2010; Hernandez-Hernandez et al., 2013; Streets et al., 2020). L'AMPC et p27^{Kip1} sont connus pour inhiber RhoA et les RhoGTPases (Besson et al., 2004; Zieba et al., 2011; Oishi et al., 2012; Gerarduzzi et al., 2014). De plus, une étude montre que la PGE2 diminue l'activité de ROCK-2, une protéine régulée par RhoA, via une phosphorylation spécifique de la PKA (Gerarduzzi et al., 2014). L'effet bénéfique du Fasudil (cité précédemment) sur la ciliogenèse est ainsi cohérent avec l'effet de la PGE1 sur le cytosquelette d'actine (Lake et al., 2020). Pour conclure, la PGE1, via les récepteurs EP2 et EP4, permet la restauration de la ciliogenèse des URECs *NPHP1* par une convergence de multiples voies de signalisation (**Figure 20**).

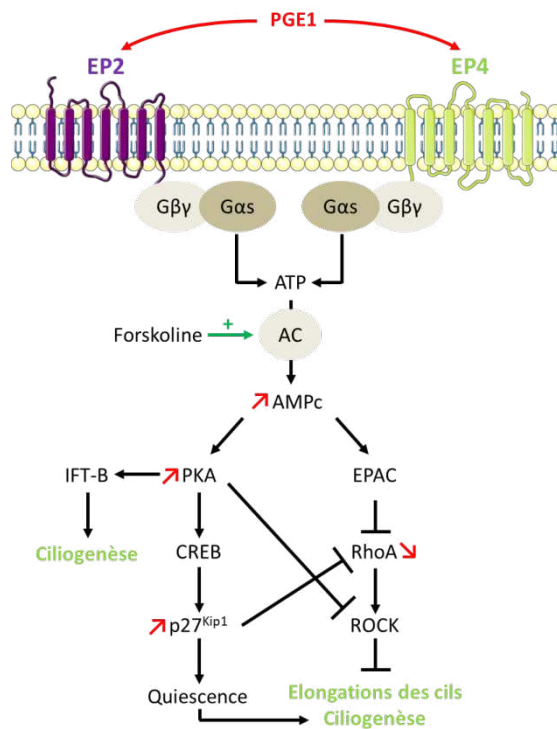


Figure 20 : Mode d'action de la PGE1 dans les URECs *NPHP1*.

3) Localisation ciliaire des EPs

Jin et al. ont été les premiers à démontrer la localisation ciliaire d'EP4 et l'effet de la stimulation de l'AMPC au niveau du cil sur la ciliogenèse (Jin et al., 2014). D'autres études

ont ensuite confirmé la localisation d'EP4 au cil primaire (Li et al., 2021b; Wu et al., 2021). En accord avec ces résultats, une étude récente montre que la localisation ciliaire d'EP4 est indispensable pour l'activation de la voie AMPc par la PGE2 et des mécanismes cellulaires qui en dépendent (ici la kystogénèse ; Hansen et al., 2022). De manière parallèle aux résultats de Jin et al. avec EP4, l'augmentation de la ciliogénèse dans les URECs *NPHP1* semble passer par EP2 via une production d'AMPc. Aucune étude n'a rapporté de localisation ciliaire pour les autres récepteurs EPs. J'ai donc transfecté des vecteurs exprimant les protéines humaines EP1, EP2 et EP4 couplées à la GFP dans les cellules mIMCD3. EP3 n'a pas été étudié en raison du nombre important de variants d'épissage exprimés chez l'Homme. En plus d'un marquage membranaire, on observe une localisation au cil primaire pour les protéines de fusion EP2-GFP et EP4-GFP (**Annexe 5**). Aucune localisation ciliaire n'a été observée pour EP1-GFP. De la même manière qu'EP4, il semble donc qu'EP2 soit localisé au cil primaire, d'où il peut activer une signalisation AMPc/PKA. Aucun des anticorps commerciaux que nous avons testés n'a fonctionné en IF et ne nous a permis de détecter la protéine endogène pour confirmer ces résultats. Les vecteurs EP-GFP n'ont pas été utilisés dans les URECs, les transfections transitoires étant difficilement réalisables. Bien qu'EP2 puisse être enrichi dans le cil primaire, la production ciliaire d'AMPc via ce récepteur ne semble pas être le mécanisme principal d'augmentation de la ciliogénèse dans les URECs. La production d'AMPc est en effet similaire entre les lignées contrôles et *NPHP1*, et n'est pas corrélée au pourcentage de ciliogénèse (**Figure S14A, article**). Elle repose donc probablement sur la présence des récepteurs à la membrane plasmique.

III. Effet bénéfique de la PGE1 sur les phénotypes des souris *Nphp1*^{-/-}

a) Rein

Le traitement quotidien des souris *Nphp1*^{-/-} avec une injection intra-péritonéale de PGE1 diminue la taille et le nombre de dilatations rénales et restaure la longueur des cils dans les dilatations. Le RNA-seq montre que la PGE1 abolit la signature pro-fibrotique des reins *Nphp1*^{-/-} (**Figure 3E,F, article**). Ce dernier résultat est en accord avec d'autres études montrant le rôle anti-fibrotique de la PGE2 (Bozyk et al., 2011; Elwakeel et al., 2019). Tout comme dans les études transcriptomiques réalisées dans les URECs, les termes de « Gene Ontology » les plus enrichis dans les reins des souris *Nphp1*^{-/-} après traitement concernent l'organisation du cytosquelette de microtubules, du cytosquelette d'actine et de la MEC. Ces données sont cohérentes avec le rôle de la PGE2 dans la régulation de l'actine (Gerarduzzi et al., 2014; Gong et al., 2014). Concernant la MEC, j'ai pu validé l'effet inhibiteur de la PGE1

sur la laminine $\gamma 2$ (**Figure 15A,B**), un constituant des membranes basales exprimé en condition pathologique (Joly et al., 2006; Vijayakumar et al., 2014). La laminine $\gamma 1$ peut être utilisée comme biomarqueur de remodelage de la MEC dans les maladies rénales chroniques et corrèle avec un risque élevé d'IRT (Holm Nielsen et al., 2018). Il serait ainsi intéressant d'étudier l'effet de la PGE1 sur LAMC1, et d'étudier plus en détail LAMC2 dans la NPH pour déterminer son potentiel de biomarqueur. De manière intéressante, la PGE1 semble également agir sur la réponse aux dommages à l'ADN, un mécanisme identifié dans de nombreux modèles cellulaires et animaux de NPH (**Figure 3F, article** ; Chaki et al., 2012; Choi et al., 2013; Slaats et al., 2015; Airik et al., 2014; Macia et al., 2017).

b) Rétine

Pour le traitement de la rétine, nous avons décidé d'utiliser un agoniste spécifique du récepteur EP2, le Taprenepag. EP2 est le récepteur le plus exprimé dans la rétine (Biswas et al., 2004). De plus, les agonistes d'EP2 comme l'Omidenepag sont déjà utilisés chez l'Homme dans le traitement du glaucome, une neuropathie optique chronique (Schachar et al., 2011; Impagnatiello et al., 2019). Ils diminuent la pression intraoculaire, un facteur aggravant du glaucome, grâce à leurs propriétés anti-hypertensives. Le traitement des souris *Nphp1*^{-/-} au Taprenepag, à partir du sixième jour après la naissance, permet le maintien partiel des photorécepteurs et augmente la perception de la lumière à quarante-cinq jours (**Figure 4, article**). Contrairement au glaucome, la dégénérescence rétinienne dans les ciliopathies n'est pas associée à augmentation de la pression intraoculaire. Parmi les mécanismes rapportés, on peut citer un stress du réticulum endoplasmique (Athanasίου et al., 2017), des défauts de polarité (Buskin et al., 2018), de l'inflammation (Liu et al., 2022) ou des défauts des jonctions cellulaires (Alves et al., 2013). De manière contre-intuitive par rapport à l'activité $G_{\alpha s}$ d'EP2, des études rapportent un effet délétère de l'AMPC sur la survie des photorécepteurs (Charish, 2019). La PGE2 est cependant essentielle au développement de la rétine. En effet, elle stimule la ciliogenèse et la maturation de l'épithélium de la rétine pigmentaire dans les cellules dérivées d'IPSCs (May-Simera et al., 2018). De plus, l'inactivation des synthases de la PGE2 ou du transporteur ABCC4 dans le ZF conduit à une dégénérescence rapide des photorécepteurs (Li et al., 2019). Au vu des effets pléiotropiques des PGs, il est possible que le Taprenepag exerce son effet bénéfique via certains des mécanismes pathophysiologiques de la rétinite pigmentaire précédemment cités.

La dégénérescence rétinienne est précoce et sévère dans les souris *Nphp1*^{-/-}, et la restauration par le Taprenepag, bien que significative, reste partielle. Les modèles *Nphp1*^{del20}

et *Nphp1^{gt}* développent une rétinopathie moins sévère (Jiang et al., 2009; Louie et al., 2010). Il serait donc intéressant de tester le Taprenepag dans ces souris, afin d'évaluer son effet sur le développement de lésions plus tardives. Il serait aussi intéressant de tester l'efficacité des injections intra-vitréennes, ce que nous n'avons pu tester sur des souris âgées de six jours. Les molécules injectées de manière systémique peinent en effet à atteindre l'œil. Les injections intra-vitréennes sont bien plus efficaces et limitent le risque d'effets secondaires sur d'autres organes (Tao et al., 2017).

IV. Mécanismes pathophysiologiques de la NPH

Alors que les mécanismes pathophysiologiques associés au développement des kystes dans l'ADPKD ont été largement étudiés, les études concernant la NPH sont moins nombreuses. Les modèles que j'ai utilisés pendant ma thèse permettent cependant d'éclairer plusieurs points, et de proposer des différences majeures entre les deux types de ciliopathies rénales.

1) Voie AMPc

La quantité d'AMPc est augmentée dans les reins et les urines des modèles animaux d'ADPKD (Starremans et al., 2008; Hopp et al., 2012; Verschuren et al., 2018). L'AMPc induit la kystogénèse via l'augmentation de la prolifération cellulaire et la sécrétion de fluides dans les kystes (Sussman et al., 2022). A l'inverse, la quantité d'AMPc est diminuée dans le cadre de la fibrose rénale (Schinner et al., 2015; Ding et al., 2018). Les niveaux d'AMPc dans la NPH n'ont pas été étudiés. La diminution de l'AC3 ciliaire dans les URECs *NPHP1* n'est pas associée à une perturbation de la production d'AMPc ou d'activation de la PKA, après stimulation à la forskoline ou à la PGE1 (**Figure S14A-C, article**). D'autres adénylate cyclases sont exprimées dans le cil primaire, comme AC5 et AC6, et peuvent compenser l'absence d'AC3 (Anvarian et al., 2019). Je n'ai pas pu étudier leur localisation ciliaire dans les URECs en raison de l'absence d'anticorps efficaces en IF. L'effet bénéfique de la PGE1 ne semble donc pas être dû à la correction d'un défaut de la voie AMPc/PKA dans les URECs *NPHP1*, mais plutôt à l'activation d'une signalisation favorisant la ciliogénèse. Un dosage de l'AMPc sur les reins des modèles murins de NPHj et dans les urines de patients NPH permettrait de conclure quant à l'activation ou à l'inhibition de cette voie dans la NPH. Les souris *Nphp1^{-/-}* développent peu de lésions rénales et il n'est donc pas certain que nous puissions mettre en évidence des différences de niveaux d'AMPc dans ce modèle. De manière intéressante, les

souris KO *Prkar1a*, codant une sous-unité régulatrice de la PKA, développent un phénotype de NPHj (Ye et al., 2017). La dérégulation de la voie AMPc/PKA pourrait donc bien aboutir à une NPH.

2) Voie des PGs

Une dérégulation de la voie de la PGE2 dans la NPH est une hypothèse probable. En effet, l'absence de stimulation d'EP2/EP4 ou une trop forte activation d'EP1/EP3 pourrait participer à la polyurie des patients. De manière similaire à l'AVP, EP2 et EP4 peuvent augmenter la présence d'AQP2 à la membrane apicale des cellules tubulaires pour réabsorber l'eau (Li et al., 2009; Olesen et al., 2011). A l'inverse, EP1 et EP3 peuvent bloquer l'action de l'AVP (Nasrallah et al., 2018, 2020; Hassouneh et al., 2016). De plus, la voie de la PGE2 peut aussi influencer l'inflammation et le développement de la fibrose rénale. Les niveaux de PGE2 sont augmentés dans les maladies rénales chroniques (Blum et al., 1981; Hommel et al., 1987). En revanche, aucune augmentation ou diminution de la quantité de PGE2 n'a été rapportée chez les patients NPH jusqu'ici (Stokman et al., 2021). Je n'ai pas observé de différence d'expression des différents membres de la voie de la PGE2 (synthases, transporteurs, récepteurs) dans les URECs *NPHP1* ou les souris *Nphp1*^{-/-} (données non montrées). Enfin, la réponse à la PGE1 est similaire entre les URECs contrôles et *NPHP1* (production d'AMPc et activation de la PKA ; **Figure S14A-C, article**). La voie de la PGE2 ne semble donc pas être impactée dans la NPH.

3) Contractilité du cytosquelette d'actine

Une augmentation de l'activité de RhoA a été observée dans des modèles de ciliopathies (ADPKD, MKS), et est associée à une diminution de la ciliogenèse (Dawe et al., 2009; Valente et al., 2010; Hernandez-Hernandez et al., 2013; Streets et al., 2020). Des données du laboratoire montrent une sur-activation de RhoA et CDC42, un autre membre de la famille des RhoGTPases, dans les cellules MDCK invalidées pour *Nphp1* ou *Nphp4* (donnée non publiées). Le RNA-seq réalisé sur les reins des souris *Nphp1*^{-/-} montre une augmentation de plusieurs voies de signalisation en lien avec le cytosquelette d'actine, comme les points d'adhésion focaux ou la migration cellulaire (**Figure S11F, article**). De manière cohérente, le RNA-seq indique que l'effet bénéfique de la PGE1 sur les phénotypes des reins des souris *Nphp1*^{-/-} semble passer par un effet sur le cytosquelette d'actine et une diminution de la signalisation des RhoGTPases (**Figure 3F, article**). De plus, nos résultats dans les URECs

indiquent que la restauration de la ciliogenèse est associée à une diminution de l'activité de RhoA (**Figure 5D, article**). L'augmentation de la contractilité du cytosquelette d'actine semble donc faire partie des mécanismes pathophysiologiques de la NPH, et peut être restauré par la PGE1.

4) Mitochondries et oxydation des acides gras (FAO)

Des défauts mitochondriaux (diminution de la masse mitochondriale, fragmentation des mitochondries, augmentation du stress oxydatif) sont classiquement observés dans les maladies rénales (Duann et Lin, 2017; Ishimoto et al., 2017; Cassina et al., 2020). De plus, l'absence de XNPEP3, une protéine mitochondriale, résulte en des phénotypes de ciliopathies chez le ZF et en une maladie rénale ressemblant à la NPH chez l'Homme (O'Toole et al., 2010). Je n'ai pas observé de différence de morphologie des mitochondries, de masse ou d'activité mitochondriale entre les lignées d'URECs contrôles et *NPHP1* (**Figure 17**). Pour vérifier ces résultats dans un modèle cellulaire présentant moins de variabilité que les URECs, j'ai généré des clones KO *Nphp1* dans les mIMCD3 par CRISPR-Cas9. Les résultats préliminaires ne montrent pas de différence entre les clones WT, KO et les clones KO ré-exprimant *NPHP1* (données non montrées). De la même façon, bien que la FAO soit diminuée dans un contexte de fibrose rénale et de maladie rénale chronique (Kang et al., 2015; Menezes et al., 2016; Hajarnis et al., 2017; Zhang et al., 2020; Miguel et al., 2021b), je n'ai pas observé de différence d'activation de cette voie dans les URECs *NPHP1* (**Figures 18 et 19**). De plus, je n'ai pas détecté de diminution d'expression des principaux membres de la voie dans les souris *iNphp3^{ΔTub}* de 5 mois, qui développent pourtant une fibrose rénale (modèle détaillé dans la suite de la discussion ; **Annexe 6Q**). Ces résultats suggèrent donc que, contrairement aux maladies rénales chroniques et à l'ADPKD, le développement des lésions rénales dans le NPH n'est pas lié à des défauts de la FAO, ni à des défauts mitochondriaux (morphologie, masse).

V. Utilisation des agonistes des récepteurs EPs dans le traitement de la NPH et des ciliopathies associées.

1) La PGE1 et les agonistes d'EP2/EP4 dans le traitement des lésions rénales

La PGE1 exerce son effet bénéfique dans les URECs principalement via la stimulation d'EP2. Nous ne savons cependant pas via quels récepteurs la PGE1 diminue la taille et le

nombre de dilatations, restaure la longueur des cils dans les dilatations et corrige la signature pro-fibrotique dans les souris *Nphp1*^{-/-}. L'utilisation d'agonistes spécifiques des EPs dans les souris *Nphp1*^{-/-} permettrait de répondre à cette question. Les agonistes spécifiques pourraient potentiellement améliorer l'effet du traitement en limitant l'activation des voies de signalisation contradictoires des quatre récepteurs EPs. La littérature s'accorde sur l'effet bénéfique des agonistes d'EP2 dans le traitement de la fibrose rénale et des maladies rénales chroniques (Vukicevic et al., 2006; Jensen et al., 2019). Les résultats sont beaucoup plus divergents pour EP4. A titre d'exemple, un antagoniste d'EP4 améliore la glomérulonéphrite des souris traitées au sérum néphrotoxique en diminuant l'inflammation (Aringer et al., 2018). Quelques années plus tard, la même équipe montre dans le même modèle murin l'effet bénéfique d'un agoniste d'EP4, qui augmente la régénération tissulaire (Aringer et al., 2021). D'après nos résultats et la littérature, les agonistes d'EP2 semblent les plus pertinents à tester dans le cadre de la NPH.

Les patients souffrants de NPH sont polyuriques et ont un volume urinaire supérieur à 50mL/kg/24h, soit plus de 3.8L pour un adulte moyen de 75kg (Christ-Crain et Gaisl, 2021). Bien que jamais testés chez l'Homme, les agonistes d'EP2 et/ou d'EP4 pourraient permettre de concentrer les urines. En effet, la stimulation des deux récepteurs augmente la réabsorption de l'eau dans des modèles de souris polyuriques (Li et al., 2009; Olesen et al., 2011). La modulation de la voie de la PGE2 pourrait donc permettre d'améliorer la qualité de vie des patients NPH.

Une limite à l'utilisation de la PGE1 est sa courte demi-vie. Ainsi, l'inhibition de la dégradation de la PGE1/2 par la 15-PGDH donne de meilleurs résultats chez la souris que la PGE1 et la PGE2 (Kim et al., 2021). De nouvelles technologies permettent d'allonger la demi-vie de la PGE1/2, comme la liaison à une matrice de collagène (Chen et al., 2021b). Le récepteur EP4 est rapidement internalisé par les β -arrestines après activation (Bastepe et Ashby, 1999; Desai et al., 2000; Penn et al., 2001). Ce paramètre est à garder à l'esprit lors de l'utilisation des agonistes d'EP4, qui nécessiteront probablement une prise de traitement plus fréquente que les agonistes d'EP2. La prise orale de médicaments est plus simple pour les patients, surtout si la courte demi-vie des molécules ou la réponse brève des récepteurs nécessite une dose quotidienne. Il sera donc intéressant de tester l'efficacité d'autres voies d'administration dans la souris comme le gavage.

2) Risques d'effets secondaires de la PGE1 et des agonistes des récepteurs EPs

La PGE2 est impliquée dans de nombreux processus physiologiques, dont l'inflammation, la régulation de la pression sanguine ou l'homéostasie tissulaire (cerveau, système gastro-intestinal, système reproducteur, etc). La modulation pharmacologique de la voie de la PGE2 est donc susceptible de déclencher de nombreux effets indésirables, comme avec l'utilisation prolongée des AINS (Vonkeman et van de Laar, 2010). La PGE1 est prescrite chez les nouveaux-nés souffrants de maladies cardiaques congénitales. Des effets secondaires ont été principalement observés sur la balance hydro-électrolytique et le système cardiovasculaire, avec une prévalence variant selon les études et la durée du traitement (Lewis et al., 1981; Tálosi et al., 2007). La PGE1 est également utilisée en local chez les adultes souffrant de troubles érectiles, avec peu d'effets indésirables sur le long terme (Linnet et Ogrinc, 1996). Aucun effet indésirable n'a été reporté dans les études utilisant la PGE1 dans le traitement des maladies rénales aiguës ou chronique chez l'adulte (Nakayama et al., 2005; Wang et al., 2010a; Li et al., 2018; Jia et al., 2021), même lors d'une utilisation prolongée sur une période d'1 an et demi (Nakayama et al., 2005). De manière cohérente, nous n'avons pas observé d'effets secondaires dans notre étude chez la souris. Comme écrit précédemment, des agonistes spécifiques des EPs pourraient être utilisés en alternative à la PGE1. L'administration d'un agoniste d'EP4 dans un essai clinique sur la rectocolite hémorragique ne déclenche pas d'effets secondaires significatifs (Nakase et al., 2010). Des effets secondaires ont été observés suite à l'utilisation du Taprenepag en local chez l'Homme dans le traitement du glaucome, notamment un épaissement de la cornée et une iritis (inflammation de l'iris ; Yanochko et al., 2014). Aucune cytotoxicité n'a été détectée, et les effets secondaires sont facilement réversibles après un arrêt bref du traitement (Yanochko et al., 2014). Aucune étude clinique n'a utilisé un agoniste d'EP2 en traitement systémique. D'après l'ensemble de ces études, il ne semble donc pas que la PGE1 ou les agonistes d'EP2/EP4 ne déclenchent d'effets secondaires majeurs chez l'Homme. Si de telles conséquences apparaissent, il est toujours possible d'adapter la durée du traitement, comme cela est fait pour les effets secondaires au niveau de l'œil, ou de combiner les molécules pharmacologiques en fonction des risques individuels, comme lors de l'anticipation des effets secondaires d'une administration à long-terme des AINS (Vonkeman et van de Laar, 2010). Cibler spécifiquement les cellules épithéliales rénales pourrait permettre de diminuer le risque d'effets indésirables dans d'autres organes. Bien qu'elles n'aient pas encore fait l'objet d'essais cliniques, de nouvelles stratégies utilisant des

nanomatériaux améliorent le traitement des maladies rénales dans les modèles animaux (Huang et al., 2021b).

3) Fenêtre thérapeutique

Une limite importante au développement de stratégies thérapeutiques dans le cadre de la NPH est la courte fenêtre thérapeutique. La NPH est majoritairement diagnostiquée au stade d'IRT, lorsque les reins ne fonctionnent presque plus. Cependant plusieurs études ont mis en avance la plasticité du rein (Chang-Panesso et Humphreys, 2017). Dans le cadre des ciliopathies rénales, une étude montre que la réexpression du gène *Pkd2* dans les souris *Pkd2*^{-/-} à un stade avancé reverse totalement le phénotype kystique, l'inflammation et la fibrose rénale (Dong et al., 2021). La réexpression du gène *NPHP* muté n'est pas encore envisageable dans le rein chez l'Homme à cause de la difficulté d'accès aux cellules rénales pour les vecteurs (Davis et Park, 2019). Mais, l'utilisation d'une molécule thérapeutique contrecarrant les voies de signalisation pathologiques de la NPH pourrait avoir un effet bénéfique, même si les lésions rénales sont à un stade avancé. La recherche de traitement doit se faire en parallèle de la recherche de biomarqueurs précoces et spécifiques. Le laboratoire fait d'ailleurs partie du projet de recherche hospitalo-universitaire (RHU) C'IL-LICO « Médecine du futur pour les ciliopathies avec atteinte rénale ». L'un des objectifs du RHU est de permettre le diagnostic précoce des patients souffrant de la NPH, grâce à la recherche de biomarqueurs dans les urines.

4) Extension de l'utilisation des agonistes des récepteurs EPs à d'autres formes de NPH

Une délétion homozygote du gène *NPHP1* est retrouvée dans la grande majorité des patients NPH (Braun et Hildebrandt, 2017). Notre recherche d'une molécule thérapeutique efficace s'est donc logiquement déroulée dans des modèles *NPHP1*. Nous possédons au laboratoire une large collection d'URECs avec des mutations dans d'autres gènes *NPHP*. Il serait intéressant de tester l'efficacité de la PGE1 dans d'autres contextes génétiques. Notamment, les gènes *NPHP4* et *NPHP5* sont aussi responsables d'une NPHj et les protéines sont localisées à la TZ où ils interagissent avec *NPHP1* (Sang et al., 2011). Les effets bénéfiques observés dans les ZF MO *nphp4* sont encourageants quant à l'utilisation de la PGE1 pour d'autres formes de NPH (**Figure S12, article**). Les ZF MO *nphp5* développent des kystes rénaux et pourraient donc être utilisés pour tester l'efficacité de notre molécule

(Tobin et Beales, 2008). Les modèles murins *Nphp4* et *Nphp5* ne développent en revanche pas de lésions rénales (Won et al., 2011; Ronquillo et al., 2016).

L'utilisation de la PGE1 ou des agonistes d'EP2 et/ou d'EP4 ne semble pas applicable aux maladies rénales kystiques comme la NPHi ou l'ADPKD. L'effet bénéfique du Tolvaptan dans le traitement de l'ADPKD est médié par l'inhibition de l'AMPc (Torres et al., 2012). La diminution de l'activité des COXs, réduisant la production de PGE2, restreint la croissance des kystes dans des modèles rongeurs de NPHi (Sankaran et al., 2004, 2007; Ibrahim et al., 2015; Yamaguchi et al., 2015). De plus, des agonistes d'EP2/EP4 stimulent la production d'AMPc et la kystogénèse *in vitro* (Elberg et al., 2007; Lannoy 2020) tandis que des antagonistes d'EP2/EP4 diminuent la kystogénèse *in vivo* (Lannoy et al., 2020). La PGE1 et les agonistes d'EP2 et/ou d'EP4 risquent donc probablement d'exacerber le phénotype kystique dans ces modèles et chez les patients.

VI. Nouveau modèle murin de NPHj

Il reste nécessaire de développer de nouveaux modèles murins de NPHj pour améliorer notre compréhension des mécanismes pathophysiologiques et tester des molécules thérapeutiques. Afin de répondre à ce besoin, j'ai généré au laboratoire au nouveau modèle de souris *Nphp3*. *NPHP3* est le troisième gène le plus fréquemment muté chez les patients NPH, et est à l'origine des formes de NPHi, NPHj et NPHa (Olbrich et al., 2003; Tory et al., 2009; Cohorte Necker,). Les modèles murins avec une délétion systémique de *Nphp3* développent un phénotype rénal kystique, avec une progression lente dans les souris *pcy* (mutation faux-sens) ou très rapide dans les souris *Nphp3^{ko/ko}* (mutation tronquante ; Takahashi et al., 1991; Olbrich et al., 2003; Bergmann et al., 2008). J'ai généré un modèle de KO inducible du gène *Nphp3* dans les cellules épithéliales rénales, en croisant les souris *Nphp3^{fl/fl}* avec une lignée murine Ksp.Cre.ER (**Annexe 6A-C**). L'induction du KO est réalisée à un mois. Les souris *iNphp3^{ΔTub}* présentent des lésions rénales dès l'âge de trois mois. Le phénotype est plus marqué quatre mois après l'induction, avec un défaut de concentration des urines et des lésions rénales comprenant des dilatations tubulaires à la jonction cortico-médullaire, un épaissement des membranes basales, de l'inflammation et de la fibrose (**Annexe 6D-P**). De manière cohérente, on observe une augmentation de l'expression des marqueurs de souffrance rénale *Kim1* et *Lcn2*, et des marqueurs de fibrose comme les collagènes et les cytokines pro-fibrotiques *Tgfb1* et *Pdgfb* (**Annexe 6I,J,M**). En accord avec les infiltrats interstitiels de cellules immunitaires au niveau des lésions, l'expression des onze

cytokines pro-inflammatoires spécifiques de la NPHj est augmentée (**Annexe 6N-P**). Ces résultats préliminaires indiquent que les souris *iNphp3^{ΔTub}* sont un modèle particulièrement pertinent pour l'étude de la NPHj. Elles pourront être utilisées pour tester de nouvelles stratégies thérapeutiques.

BIBLIOGRAPHIE

- Abo El Fotoh, W. M. M., and Al-Fiky, A. F. (2020). A Compound Heterozygous Mutation in the Ciliary Gene TTC21B Causes Nephronophthisis Type 12. *J. Pediatr. Genet.* 9, 198–202. doi: 10.1055/s-0039-1700804.
- Abouelkheir, M., Shabaan, D. A., and Shahien, M. A. (2021). Delayed blockage of prostaglandin EP4 receptors can reduce dedifferentiation, epithelial-to-mesenchymal transition and fibrosis following acute kidney injury. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 48, 791–800. doi: 10.1111/1440-1681.13478.
- Abramovitz, M., Adam, M., Boie, Y., Carrière, M., Denis, D., Godbout, C., et al. (2000). The utilization of recombinant prostanoid receptors to determine the affinities and selectivities of prostaglandins and related analogs. *Biochim. Biophys. Acta* 1483, 285–293. doi: 10.1016/s1388-1981(99)00164-x.
- Acosta, J. C., Banito, A., Wuestefeld, T., Georgilis, A., Janich, P., Morton, J. P., et al. (2013). A complex secretory program orchestrated by the inflammasome controls paracrine senescence. *Nat. Cell Biol.* 15, 978–990. doi: 10.1038/ncb2784.
- Adorno-Cruz, V., and Liu, H. (2019). Regulation and functions of integrin $\alpha 2$ in cell adhesion and disease. *Genes Dis.* 6, 16–24. doi: 10.1016/j.gendis.2018.12.003.
- Airik, R., Airik, M., Schueler, M., Bates, C. M., and Hildebrandt, F. (2019). Roscovitine blocks collecting duct cyst growth in Cep164-deficient kidneys. *Kidney Int.* 96, 320–326. doi: 10.1016/j.kint.2019.04.014.
- Airik, R., Slaats, G. G., Guo, Z., Weiss, A.-C., Khan, N., Ghosh, A., et al. (2014). Renal-retinal ciliopathy gene Sdccag8 regulates DNA damage response signaling. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 25, 2573–2583. doi: 10.1681/ASN.2013050565.
- Ajzenberg, H., Slaats, G. G., Stokman, M. F., Arts, H. H., Logister, I., Kroes, H. Y., et al. (2015). Non-invasive sources of cells with primary cilia from pediatric and adult patients. *Cilia* 4, 8. doi: 10.1186/s13630-015-0017-x.
- Ala-Mello, S., Koskimies, O., Rapola, J., and Kääriäinen, H. (1999). Nephronophthisis in Finland: epidemiology and comparison of genetically classified subgroups. *Eur. J. Hum. Genet. EJHG* 7, 205–211. doi: 10.1038/sj.ejhg.5200268.
- Alexander, R. A., Lot, I., Saha, K., Abadie, G., Lambert, M., Decosta, E., et al. (2020). Beta-arrestins operate an on/off control switch for focal adhesion kinase activity. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 77, 5259–5279. doi: 10.1007/s00018-020-03471-5.
- Ali, H. G., Ibrahim, K., Elsaid, M. F., Mohamed, R. B., Abeidah, M. I. A., Al Rawwas, A. O., et al. (2021). Gene therapy for spinal muscular atrophy: the Qatari experience. *Gene Ther.* 28, 676–680. doi: 10.1038/s41434-021-00273-7.
- Alves, C. H., Sanz, A. S., Park, B., Pellissier, L. P., Tanimoto, N., Beck, S. C., et al. (2013). Loss of CRB2 in the mouse retina mimics human retinitis pigmentosa due to mutations in the CRB1 gene. *Hum. Mol. Genet.* 22, 35–50. doi: 10.1093/hmg/ddt398.
- Angelotti, M. L., Ronconi, E., Ballerini, L., Peired, A., Mazzinghi, B., Sagrinati, C., et al. (2012). Characterization of renal progenitors committed toward tubular lineage and their regenerative potential in renal tubular injury. *Stem Cells Dayt. Ohio* 30, 1714–1725. doi: 10.1002/stem.1130.
- Ansari, S. S., Dillard, M. E., Zhang, Y., Austria, M. A., Boatwright, N., Shelton, E. L., et al.

- (2022). Morphogen Directed Coordination of GPCR Activity Promotes Primary Cilium Function for Downstream Signaling. 2022.05.06.490951. doi: 10.1101/2022.05.06.490951.
- Antignac, C., Arduy, C. H., Beckmann, J. S., Benessy, F., Gros, F., Medhioub, M., et al. (1993). A gene for familial juvenile nephronophthisis (recessive medullary cystic kidney disease) maps to chromosome 2p. *Nat. Genet.* 3, 342–345. doi: 10.1038/ng0493-342.
- Antoniades, I., Stylianou, P., and Skourides, P. A. (2014). Making the connection: ciliary adhesion complexes anchor basal bodies to the actin cytoskeleton. *Dev. Cell* 28, 70–80. doi: 10.1016/j.devcel.2013.12.003.
- Anvarian, Z., Mykytyn, K., Mukhopadhyay, S., Pedersen, L. B., and Christensen, S. T. (2019). Cellular signalling by primary cilia in development, organ function and disease. *Nat. Rev. Nephrol.* 15, 199–219. doi: 10.1038/s41581-019-0116-9.
- Apelt, K., Bijkerk, R., Lebrin, F., and Rabelink, T. J. (2021). Imaging the Renal Microcirculation in Cell Therapy. *Cells* 10, 1087. doi: 10.3390/cells10051087.
- Ares, G. R., Caceres, P. S., and Ortiz, P. A. (2011). Molecular regulation of NKCC2 in the thick ascending limb. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 301, F1143–1159. doi: 10.1152/ajprenal.00396.2011.
- Aringer, I., Artinger, K., Kirsch, A. H., Schabhüttl, C., Jandl, K., Bärnthaler, T., et al. (2018). Blockade of prostaglandin E2 receptor 4 ameliorates nephrotoxic serum nephritis. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 315, F1869–F1880. doi: 10.1152/ajprenal.00113.2018.
- Aringer, I., Artinger, K., Schabhüttl, C., Bärnthaler, T., Mooslechner, A. A., Kirsch, A., et al. (2021). Agonism of Prostaglandin E2 Receptor 4 Ameliorates Tubulointerstitial Injury in Nephrotoxic Serum Nephritis in Mice. *J. Clin. Med.* 10, 832. doi: 10.3390/jcm10040832.
- Arts, H. H., and Knoers, N. V. A. M. (2013). Current insights into renal ciliopathies: what can genetics teach us? *Pediatr. Nephrol. Berl. Ger.* 28, 863–874. doi: 10.1007/s00467-012-2259-9.
- Atala, A., Freeman, M. R., Mandell, J., and Beier, D. R. (1993). Juvenile cystic kidneys (jck): a new mouse mutation which causes polycystic kidneys. *Kidney Int.* 43, 1081–1085. doi: 10.1038/ki.1993.151.
- Athanasidou, D., Aguila, M., Bellingham, J., Kanuga, N., Adamson, P., and Cheetham, M. E. (2017). The role of the ER stress-response protein PERK in rhodopsin retinitis pigmentosa. *Hum. Mol. Genet.* 26, 4896–4905. doi: 10.1093/hmg/ddx370.
- Attanasio, M., Uhlenhaut, N. H., Sousa, V. H., O’Toole, J. F., Otto, E., Anlag, K., et al. (2007). Loss of GLIS2 causes nephronophthisis in humans and mice by increased apoptosis and fibrosis. *Nat. Genet.* 39, 1018–1024. doi: 10.1038/ng2072.
- Awata, J., Takada, S., Standley, C., Lechtreck, K. F., Bellvé, K. D., Pazour, G. J., et al. (2014). NPHP4 controls ciliary trafficking of membrane proteins and large soluble proteins at the transition zone. *J. Cell Sci.* 127, 4714–4727. doi: 10.1242/jcs.155275.
- Bachmann-Gagescu, R., and Neuhauss, S. C. (2019). The photoreceptor cilium and its diseases. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 56, 22–33. doi: 10.1016/j.gde.2019.05.004.
- Bai, X., Wang, J., Guo, Y., Pan, J., Yang, Q., Zhang, M., et al. (2014). Prostaglandin E2 stimulates β 1-integrin expression in hepatocellular carcinoma through the EP1 receptor/PKC/NF- κ B pathway. *Sci. Rep.* 4, 6538. doi: 10.1038/srep06538.

- Bakey, Z., Bihoreau, M.-T., Piedagnel, R., Delestré, L., Arnould, C., de Villiers, A. d'Hotman, et al. (2015). The SAM domain of ANKS6 has different interacting partners and mutations can induce different cystic phenotypes. *Kidney Int.* 88, 299–310. doi: 10.1038/ki.2015.122.
- Bangs, F., and Anderson, K. V. (2017). Primary Cilia and Mammalian Hedgehog Signaling. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 9, a028175. doi: 10.1101/cshperspect.a028175.
- Barbelanne, M., Song, J., Ahmadzai, M., and Tsang, W. Y. (2013). Pathogenic NPHP5 mutations impair protein interaction with Cep290, a prerequisite for ciliogenesis. *Hum. Mol. Genet.* 22, 2482–2494. doi: 10.1093/hmg/ddt100.
- Baron Gaillard, C. L., Pallesi-Pocachard, E., Massey-Harroche, D., Richard, F., Arsanto, J.-P., Chauvin, J.-P., et al. (2011). Hook2 is involved in the morphogenesis of the primary cilium. *Mol. Biol. Cell* 22, 4549–4562. doi: 10.1091/mbc.E11-05-0405.
- Barreiro-Iglesias, A. (2021). Role of cyclooxygenases and prostaglandins in adult brain neurogenesis. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 152, 106498. doi: 10.1016/j.prostaglandins.2020.106498.
- Bastepe, M., and Ashby, B. (1999). Identification of a region of the C-terminal domain involved in short-term desensitization of the prostaglandin EP4 receptor. *Br. J. Pharmacol.* 126, 365–371. doi: 10.1038/sj.bjp.0702291.
- Båtshake, B., Nilsson, C., and Sundelin, J. (1995). Molecular characterization of the mouse prostanoid EP1 receptor gene. *Eur. J. Biochem.* 231, 809–814. doi: 10.1111/j.1432-1033.1995.tb20765.x.
- Battini, L., Fedorova, E., Macip, S., Li, X., Wilson, P. D., and Gusella, G. L. (2006). Stable knockdown of polycystin-1 confers integrin-alpha2beta1-mediated anoikis resistance. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 17, 3049–3058. doi: 10.1681/ASN.2006030234.
- Beebe, S. J. (1994). The cAMP-dependent protein kinases and cAMP signal transduction. *Semin. Cancer Biol.* 5, 285–294.
- Bek, M., Nüsing, R., Kowark, P., Henger, A., Mundel, P., and Pavenstädt, H. (1999). Characterization of prostanoid receptors in podocytes. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 10, 2084–2093. doi: 10.1681/ASN.V10102084.
- Benmerah, A. (2013). The ciliary pocket. *Curr. Opin. Cell Biol.* 25, 78–84. doi: 10.1016/j.ceb.2012.10.011.
- Bennett, H. W., Gustavsson, A.-K., Bayas, C. A., Petrov, P. N., Mooney, N., Moerner, W. E., et al. (2020). Novel fibrillar structure in the inversin compartment of primary cilia revealed by 3D single-molecule superresolution microscopy. *Mol. Biol. Cell* 31, 619–639. doi: 10.1091/mbc.E19-09-0499.
- Benzing, T., Gerke, P., Höpker, K., Hildebrandt, F., Kim, E., and Walz, G. (2001). Nephrocystin interacts with Pyk2, p130(Cas), and tensin and triggers phosphorylation of Pyk2. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 9784–9789. doi: 10.1073/pnas.171269898.
- Berberi, N. F., Kin, N. W., Sharma, N., Michaud, E. J., Kesterson, R. A., and Yoder, B. K. (2011). Mutations in Traf3ip1 reveal defects in ciliogenesis, embryonic development, and altered cell size regulation. *Dev. Biol.* 360, 66–76. doi: 10.1016/j.ydbio.2011.09.001.
- Bergmann, C., Fliegauf, M., Brüchle, N. O., Frank, V., Olbrich, H., Kirschner, J., et al. (2008). Loss of nephrocystin-3 function can cause embryonic lethality, Meckel-Gruber-like

- syndrome, situs inversus, and renal-hepatic-pancreatic dysplasia. *Am. J. Hum. Genet.* 82, 959–970. doi: 10.1016/j.ajhg.2008.02.017.
- Bergmann, C., Guay-Woodford, L. M., Harris, P. C., Horie, S., Peters, D. J. M., and Torres, V. E. (2018). Polycystic kidney disease. *Nat. Rev. Dis. Primer* 4, 50. doi: 10.1038/s41572-018-0047-Y.
- Bernabé-Rubio, M., and Alonso, M. A. (2017). Routes and machinery of primary cilium biogenesis. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 74, 4077–4095. doi: 10.1007/s00018-017-2570-5.
- Bershteyn, M., Atwood, S. X., Woo, W.-M., Li, M., and Oro, A. E. (2010). MIM and cortactin antagonism regulates ciliogenesis and hedgehog signaling. *Dev. Cell* 19, 270–283. doi: 10.1016/j.devcel.2010.07.009.
- Bertram, J. F., Douglas-Denton, R. N., Diouf, B., Hughson, M. D., and Hoy, W. E. (2011). Human nephron number: implications for health and disease. *Pediatr. Nephrol. Berl. Ger.* 26, 1529–1533. doi: 10.1007/s00467-011-1843-8.
- Besschetnova, T. Y., Kolpakova-Hart, E., Guan, Y., Zhou, J., Olsen, B. R., and Shah, J. V. (2010). Identification of signaling pathways regulating primary cilium length and flow-mediated adaptation. *Curr. Biol. CB* 20, 182–187. doi: 10.1016/j.cub.2009.11.072.
- Besson, A., Gurian-West, M., Schmidt, A., Hall, A., and Roberts, J. M. (2004). p27Kip1 modulates cell migration through the regulation of RhoA activation. *Genes Dev.* 18, 862–876. doi: 10.1101/gad.1185504.
- Betz, R., Rensing, C., Otto, E., Mincheva, A., Zehnder, D., Lichter, P., et al. (2000). Children with ocular motor apraxia type Cogan carry deletions in the gene (NPHP1) for juvenile nephronophthisis. *J. Pediatr.* 136, 828–831.
- Bichet, D. G. (2009). V2R mutations and nephrogenic diabetes insipidus. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 89, 15–29. doi: 10.1016/S1877-1173(09)89002-9.
- Bichet, D. G., Arthus, M. F., Lonergan, M., Hendy, G. N., Paradis, A. J., Fujiwara, T. M., et al. (1993). X-linked nephrogenic diabetes insipidus mutations in North America and the Hopewell hypothesis. *J. Clin. Invest.* 92, 1262–1268. doi: 10.1172/JCI116698.
- Billot, K., Coquil, C., Villiers, B., Josselin-Foll, B., Desban, N., Delehouzé, C., et al. (2018). Casein kinase 1 ϵ and 1 α as novel players in polycystic kidney disease and mechanistic targets for (R)-roscovitine and (S)-CR8. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 315, F57–F73. doi: 10.1152/ajprenal.00489.2017.
- Bilson, H. A., Mitchell, D. L., and Ashby, B. (2004). Human prostaglandin EP3 receptor isoforms show different agonist-induced internalization patterns. *FEBS Lett.* 572, 271–275. doi: 10.1016/j.febslet.2004.06.089.
- Birch, J., and Gil, J. (2020). Senescence and the SASP: many therapeutic avenues. *Genes Dev.* 34, 1565–1576. doi: 10.1101/gad.343129.120.
- Birtel, J., Spital, G., Book, M., Habbig, S., Bäumner, S., Riehmer, V., et al. (2021). NPHP1 gene-associated nephronophthisis is associated with an occult retinopathy. *Kidney Int.* 100, 1092–1100. doi: 10.1016/j.kint.2021.06.012.
- Biswas, S., Bhattacharjee, P., and Paterson, C. A. (2004). Prostaglandin E2 receptor subtypes, EP1, EP2, EP3 and EP4 in human and mouse ocular tissues--a comparative immunohistochemical study. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 71, 277–288. doi:

10.1016/j.plefa.2004.03.021.

Bizet, A. A., Becker-Heck, A., Ryan, R., Weber, K., Filhol, E., Krug, P., et al. (2015). Mutations in TRAF3IP1/IFT54 reveal a new role for IFT proteins in microtubule stabilization. *Nat. Commun.* 6, 8666. doi: 10.1038/ncomms9666.

Blanc, T., Goudin, N., Zaidan, M., Traore, M. G., Bienaime, F., Turinsky, L., et al. (2021). Three-dimensional architecture of nephrons in the normal and cystic kidney. *Kidney Int.* 99, 632–645. doi: 10.1016/j.kint.2020.09.032.

Blasius, T. L., Takao, D., and Verhey, K. J. (2019). NPHP proteins are binding partners of nucleoporins at the base of the primary cilium. *PLoS One* 14, e0222924. doi: 10.1371/journal.pone.0222924.

Blondel-Tepaz, E., Leverage, M., Sokrat, B., Paradis, J. S., Kopic, M., Saha, K., et al. (2021). The RanBP2/RanGAP1-SUMO complex gates β -arrestin2 nuclear entry to regulate the Mdm2-p53 signaling axis. *Oncogene* 40, 2243–2257. doi: 10.1038/s41388-021-01704-w.

Bloom, G. (1954). Studies on the olfactory epithelium of the frog and the toad with the aid of light and electron microscopy. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. Vienna Austria 1948* 41, 89–100. doi: 10.1007/BF00340285.

Blowey, D. L., Querfeld, U., Geary, D., Warady, B. A., and Alon, U. (1996). Ultrasound findings in juvenile nephronophthisis. *Pediatr. Nephrol. Berl. Ger.* 10, 22–24. doi: 10.1007/BF00863431.

Blum, M., Bauminger, S., Algueti, A., Kisch, E., Ayalon, D., and Aviram, A. (1981). Urinary prostaglandin-E2 in chronic renal disease. *Clin. Nephrol.* 15, 87–89.

Boehlke, C., Kotsis, F., Patel, V., Braeg, S., Voelker, H., Brecht, S., et al. (2010). Primary cilia regulate mTORC1 activity and cell size through Lkb1. *Nat. Cell Biol.* 12, 1115–1122. doi: 10.1038/ncb2117.

Bollée, G., Fakhouri, F., Karras, A., Noël, L.-H., Salomon, R., Servais, A., et al. (2006). Nephronophthisis related to homozygous NPHP1 gene deletion as a cause of chronic renal failure in adults. *Nephrol. Dial. Transplant. Off. Publ. Eur. Dial. Transpl. Assoc. - Eur. Ren. Assoc.* 21, 2660–2663. doi: 10.1093/ndt/gfl348.

Bonvalet, J. P., Pradelles, P., and Farman, N. (1987). Segmental synthesis and actions of prostaglandins along the nephron. *Am. J. Physiol.* 253, F377–387. doi: 10.1152/ajprenal.1987.253.3.F377.

Bowler, M., Kong, D., Sun, S., Nanjundappa, R., Evans, L., Farmer, V., et al. (2019). High-resolution characterization of centriole distal appendage morphology and dynamics by correlative STORM and electron microscopy. *Nat. Commun.* 10, 993. doi: 10.1038/s41467-018-08216-4.

Bozyk, P. D., and Moore, B. B. (2011). Prostaglandin E2 and the pathogenesis of pulmonary fibrosis. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 45, 445–452. doi: 10.1165/rcmb.2011-0025RT.

Braun, D. A., and Hildebrandt, F. (2017). Ciliopathies. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 9, a028191. doi: 10.1101/cshperspect.a028191.

Braun, D. A., Schueler, M., Halbritter, J., Gee, H. Y., Porath, J. D., Lawson, J. A., et al. (2016). Whole exome sequencing identifies causative mutations in the majority of consanguineous or familial cases with childhood-onset increased renal echogenicity. *Kidney Int.* 89, 468–475.

doi: 10.1038/ki.2015.317.

Bredrup, C., Saunier, S., Oud, M. M., Fiskerstrand, T., Hoischen, A., Brackman, D., et al. (2011). Ciliopathies with skeletal anomalies and renal insufficiency due to mutations in the IFT-A gene WDR19. *Am. J. Hum. Genet.* 89, 634–643. doi: 10.1016/j.ajhg.2011.10.001.

Breslow, D. K., and Holland, A. J. (2019). Mechanism and Regulation of Centriole and Cilium Biogenesis. *Annu. Rev. Biochem.* 88, 691–724. doi: 10.1146/annurev-biochem-013118-111153.

Breslow, D. K., Koslover, E. F., Seydel, F., Spakowitz, A. J., and Nachury, M. V. (2013). An in vitro assay for entry into cilia reveals unique properties of the soluble diffusion barrier. *J. Cell Biol.* 203, 129–147. doi: 10.1083/jcb.201212024.

Breyer, M. D., Davis, L., Jacobson, H. R., and Breyer, R. M. (1996). Differential localization of prostaglandin E receptor subtypes in human kidney. *Am. J. Physiol.* 270, F912–918. doi: 10.1152/ajprenal.1996.270.5.F912.

Briscoe, J., and Théron, P. P. (2013). The mechanisms of Hedgehog signalling and its roles in development and disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 14, 416–429. doi: 10.1038/nrm3598.

Buchanan, F. G., Gorden, D. L., Matta, P., Shi, Q., Matrisian, L. M., and DuBois, R. N. (2006). Role of beta-arrestin 1 in the metastatic progression of colorectal cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 1492–1497. doi: 10.1073/pnas.0510562103.

Bukanov, N. O., Smith, L. A., Klinger, K. W., Ledbetter, S. R., and Ibraghimov-Beskrovnaya, O. (2006). Long-lasting arrest of murine polycystic kidney disease with CDK inhibitor roscovitine. *Nature* 444, 949–952. doi: 10.1038/nature05348.

Bulger, R. E., Siegel, F. L., and Pendergrass, R. (1974). Scanning and transmission electron microscopy of the rat kidney. *Am. J. Anat.* 139, 483–501. doi: 10.1002/aja.1001390403.

Burkhalter, M. D., Sridhar, A., Sampaio, P., Jacinto, R., Burczyk, M. S., Donow, C., et al. (2019). Imbalanced mitochondrial function provokes heterotaxy via aberrant ciliogenesis. *J. Clin. Invest.* 129, 2841–2855. doi: 10.1172/JCI98890.

Buskin, A., Zhu, L., Chichagova, V., Basu, B., Mozaffari-Jovin, S., Dolan, D., et al. (2018). Disrupted alternative splicing for genes implicated in splicing and ciliogenesis causes PRPF31 retinitis pigmentosa. *Nat. Commun.* 9, 4234. doi: 10.1038/s41467-018-06448-y.

Cai, J., Song, X., Wang, W., Watnick, T., Pei, Y., Qian, F., et al. (2018). A RhoA-YAP-c-Myc signaling axis promotes the development of polycystic kidney disease. *Genes Dev.* 32, 781–793. doi: 10.1101/gad.315127.118.

Čajánek, L., and Nigg, E. A. (2014). Cep164 triggers ciliogenesis by recruiting Tau tubulin kinase 2 to the mother centriole. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111, E2841–2850. doi: 10.1073/pnas.1401777111.

Calder, P. C. (2020). Eicosanoids. *Essays Biochem.* 64, 423–441. doi: 10.1042/EBC20190083.

Câmpean, V., Theilig, F., Paliege, A., Breyer, M., and Bachmann, S. (2003). Key enzymes for renal prostaglandin synthesis: site-specific expression in rodent kidney (rat, mouse). *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 285, F19–32. doi: 10.1152/ajprenal.00443.2002.

Cao, J., Shen, Y., Zhu, L., Xu, Y., Zhou, Y., Wu, Z., et al. (2012). miR-129-3p controls cilia assembly by regulating CP110 and actin dynamics. *Nat. Cell Biol.* 14, 697–706. doi:

10.1038/ncb2512.

Cao, Y., Semanchik, N., Lee, S. H., Somlo, S., Barbano, P. E., Coifman, R., et al. (2009). Chemical modifier screen identifies HDAC inhibitors as suppressors of PKD models. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 21819–21824. doi: 10.1073/pnas.0911987106.

Cassina, L., Chiaravalli, M., and Boletta, A. (2020). Increased mitochondrial fragmentation in polycystic kidney disease acts as a modifier of disease progression. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 34, 6493–6507. doi: 10.1096/fj.201901739RR.

Castrop, H. (2007). Mediators of tubuloglomerular feedback regulation of glomerular filtration: ATP and adenosine. *Acta Physiol. Oxf. Engl.* 189, 3–14. doi: 10.1111/j.1748-1716.2006.01610.x.

Cavazzana-Calvo, M., Hacein-Bey, S., de Saint Basile, G., Gross, F., Yvon, E., Nusbaum, P., et al. (2000). Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science* 288, 669–672. doi: 10.1126/science.288.5466.669.

Chaki, M., Airik, R., Ghosh, A. K., Giles, R. H., Chen, R., Slaats, G. G., et al. (2012). Exome capture reveals ZNF423 and CEP164 mutations, linking renal ciliopathies to DNA damage response signaling. *Cell* 150, 533–548. doi: 10.1016/j.cell.2012.06.028.

Chaki, M., Hoefele, J., Allen, S. J., Ramaswami, G., Janssen, S., Bergmann, C., et al. (2011). Genotype-phenotype correlation in 440 patients with NPHP-related ciliopathies. *Kidney Int.* 80, 1239–1245. doi: 10.1038/ki.2011.284.

Chambers, J. M., Addiego, A., Flores-Mireles, A. L., and Wingert, R. A. (2020). Ppargc1a Controls Ciliated Cell Development by Regulating Prostaglandin Biosynthesis. *Cell Rep.* 33, 108370. doi: 10.1016/j.celrep.2020.108370.

Chandrasekharan, N. V., Dai, H., Roos, K. L. T., Evanson, N. K., Tomsik, J., Elton, T. S., et al. (2002). COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99, 13926–13931. doi: 10.1073/pnas.162468699.

Chang, B., Khanna, H., Hawes, N., Jimeno, D., He, S., Lillo, C., et al. (2006). In-frame deletion in a novel centrosomal/ciliary protein CEP290/NPHP6 perturbs its interaction with RPGR and results in early-onset retinal degeneration in the rd16 mouse. *Hum. Mol. Genet.* 15, 1847–1857. doi: 10.1093/hmg/ddl107.

Chang-Panesso, M., and Humphreys, B. D. (2017). Cellular plasticity in kidney injury and repair. *Nat. Rev. Nephrol.* 13, 39–46. doi: 10.1038/nrneph.2016.169.

Charish, J. (2019). cAMP and Photoreceptor Cell Death in Retinal Degeneration. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1185, 301–304. doi: 10.1007/978-3-030-27378-1_49.

Charlton-Perkins, M., Almeida, A. D., MacDonald, R. B., and Harris, W. A. (2019). Genetic control of cellular morphogenesis in Müller glia. *Glia* 67, 1401–1411. doi: 10.1002/glia.23615.

Chen, J., Zhao, M., He, W., Milne, G. L., Howard, J. R. H., Morrow, J., et al. (2008). Increased dietary NaCl induces renal medullary PGE2 production and natriuresis via the EP2 receptor. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 295, F818–825. doi: 10.1152/ajprenal.90253.2008.

Chen, L., Chou, C.-L., and Knepper, M. A. (2021a). A Comprehensive Map of mRNAs and Their Isoforms across All 14 Renal Tubule Segments of Mouse. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN*,

ASN.2020101406. doi: 10.1681/ASN.2020101406.

Chen, N. X., Moe, S. M., Eggleston-Gulyas, T., Chen, X., Hoffmeyer, W. D., Bacallao, R. L., et al. (2011). Calcimimetics inhibit renal pathology in rodent nephronophthisis. *Kidney Int.* 80, 612–619. doi: 10.1038/ki.2011.139.

Chen, S., Huang, H., Liu, Y., Wang, C., Chen, X., Chang, Y., et al. (2021b). Renal subcapsular delivery of PGE2 promotes kidney repair by activating endogenous Sox9+ stem cells. *iScience* 24, 103243. doi: 10.1016/j.isci.2021.103243.

Chen, X., Jiang, D., Wang, J., Chen, X., Xu, X., Xi, P., et al. (2015). Prostaglandin E2 EP1 receptor enhances TGF- β 1-induced mesangial cell injury. *Int. J. Mol. Med.* 35, 285–293. doi: 10.3892/ijmm.2014.1979.

Chen, X., Yin, J., Xu, Y., Qiu, Z., Liu, J., and Chen, X. (2020). Effect of selective inhibition or activation of PGE2 EP1 receptor on glomerulosclerosis. *Mol. Med. Rep.* 22, 2887–2895. doi: 10.3892/mmr.2020.11353.

Cheng, H., Huang, H., Guo, Z., Chang, Y., and Li, Z. (2021). Role of prostaglandin E2 in tissue repair and regeneration. *Theranostics* 11, 8836–8854. doi: 10.7150/thno.63396.

Cheng, H., Wang, S., Jo, Y.-I., Hao, C.-M., Zhang, M., Fan, X., et al. (2007). Overexpression of cyclooxygenase-2 predisposes to podocyte injury. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 18, 551–559. doi: 10.1681/ASN.2006090990.

Chih, B., Liu, P., Chinn, Y., Chalouni, C., Komuves, L. G., Hass, P. E., et al. (2011). A ciliopathy complex at the transition zone protects the cilia as a privileged membrane domain. *Nat. Cell Biol.* 14, 61–72. doi: 10.1038/ncb2410.

Choi, H. J. C., Lin, J.-R., Vannier, J.-B., Slaats, G. G., Kile, A. C., Paulsen, R. D., et al. (2013). NEK8 links the ATR-regulated replication stress response and S phase CDK activity to renal ciliopathies. *Mol. Cell* 51, 423–439. doi: 10.1016/j.molcel.2013.08.006.

Choi, Y. J., Halbritter, J., Braun, D. A., Schueler, M., Schapiro, D., Rim, J. H., et al. (2019). Mutations of ADAMTS9 Cause Nephronophthisis-Related Ciliopathy. *Am. J. Hum. Genet.* 104, 45–54. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.11.003.

Christ-Crain, M., and Gaisl, O. (2021). Diabetes insipidus. *Presse Medicale Paris Fr.* 1983 50, 104093. doi: 10.1016/j.lpm.2021.104093.

Christensen, S. T., Clement, C. A., Satir, P., and Pedersen, L. B. (2012). Primary cilia and coordination of receptor tyrosine kinase (RTK) signalling. *J. Pathol.* 226, 172–184. doi: 10.1002/path.3004.

Chu, C.-H., Chen, S.-H., Wang, Q., Langenbach, R., Li, H., Zeldin, D., et al. (2015). PGE2 Inhibits IL-10 Production via EP2-Mediated β -Arrestin Signaling in Neuroinflammatory Condition. *Mol. Neurobiol.* 52, 587–600. doi: 10.1007/s12035-014-8889-0.

Chun, K.-S., Lao, H.-C., Trempus, C. S., Okada, M., and Langenbach, R. (2009). The prostaglandin receptor EP2 activates multiple signaling pathways and beta-arrestin1 complex formation during mouse skin papilloma development. *Carcinogenesis* 30, 1620–1627. doi: 10.1093/carcin/bgp168.

Cideciyan, A. V., Jacobson, S. G., Drack, A. V., Ho, A. C., Charng, J., Garafalo, A. V., et al. (2019). Effect of an intravitreal antisense oligonucleotide on vision in Leber congenital amaurosis due to a photoreceptor cilium defect. *Nat. Med.* 25, 225–228. doi:

10.1038/s41591-018-0295-0.

Clement, C. A., Ajbro, K. D., Koefoed, K., Vestergaard, M. L., Veland, I. R., Henriques de Jesus, M. P. R., et al. (2013). TGF- β signaling is associated with endocytosis at the pocket region of the primary cilium. *Cell Rep.* 3, 1806–1814. doi: 10.1016/j.celrep.2013.05.020.

Cohen, A. H., and Hoyer, J. R. (1986). Nephronophthisis. A primary tubular basement membrane defect. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* 55, 564–572.

Collins, I., and Wann, A. K. T. (2020). Regulation of the Extracellular Matrix by Ciliary Machinery. *Cells* 9, E278. doi: 10.3390/cells9020278.

Cook, S. A., Collin, G. B., Bronson, R. T., Naggert, J. K., Liu, D. P., Akeson, E. C., et al. (2009). A mouse model for Meckel syndrome type 3. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 20, 753–764. doi: 10.1681/ASN.2008040412.

Coppieters, F., Lefever, S., Leroy, B. P., and De Baere, E. (2010). CEP290, a gene with many faces: mutation overview and presentation of CEP290base. *Hum. Mutat.* 31, 1097–1108. doi: 10.1002/humu.21337.

Crescente, M., Menke, L., Chan, M. V., Armstrong, P. C., and Warner, T. D. (2019). Eicosanoids in platelets and the effect of their modulation by aspirin in the cardiovascular system (and beyond). *Br. J. Pharmacol.* 176, 988–999. doi: 10.1111/bph.14196.

Cruz, N. M., Reddy, R., McFaline-Figueroa, J. L., Tran, C., Fu, H., and Freedman, B. S. (2022). Modelling ciliopathy phenotypes in human tissues derived from pluripotent stem cells with genetically ablated cilia. *Nat. Biomed. Eng.* 6, 463–475. doi: 10.1038/s41551-022-00880-8.

Cruz, N. M., Song, X., Czerniecki, S. M., Gulieva, R. E., Churchill, A. J., Kim, Y. K., et al. (2017). Organoid cystogenesis reveals a critical role of microenvironment in human polycystic kidney disease. *Nat. Mater.* 16, 1112–1119. doi: 10.1038/nmat4994.

Cuppige, F. E., Huseman, R. A., Chapman, A., and Grantham, J. J. (1980). Ultrastructure and function of cysts from human adult polycystic kidneys. *Kidney Int.* 17, 372–381. doi: 10.1038/ki.1980.43.

Datta, P., Cribbs, J. T., and Seo, S. (2021). Differential requirement of NPHP1 for compartmentalized protein localization during photoreceptor outer segment development and maintenance. *PloS One* 16, e0246358. doi: 10.1371/journal.pone.0246358.

Davenport, J. R., Watts, A. J., Roper, V. C., Croyle, M. J., van Groen, T., Wyss, J. M., et al. (2007). Disruption of intraflagellar transport in adult mice leads to obesity and slow-onset cystic kidney disease. *Curr. Biol. CB* 17, 1586–1594. doi: 10.1016/j.cub.2007.08.034.

Davis, E. E., Zhang, Q., Liu, Q., Diplas, B. H., Davey, L. M., Hartley, J., et al. (2011). TTC21B contributes both causal and modifying alleles across the ciliopathy spectrum. *Nat. Genet.* 43, 189–196. doi: 10.1038/ng.756.

Davis, L., and Park, F. (2019). Gene therapy research for kidney diseases. *Physiol. Genomics* 51, 449–461. doi: 10.1152/physiolgenomics.00052.2019.

Dawe, H. R., Adams, M., Wheway, G., Szymanska, K., Logan, C. V., Noegel, A. A., et al. (2009). Nesprin-2 interacts with meckelin and mediates ciliogenesis via remodelling of the actin cytoskeleton. *J. Cell Sci.* 122, 2716–2726. doi: 10.1242/jcs.043794.

De Robertis, E. (1956). Electron microscope observations on the submicroscopic organization

- of the retinal rods. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 2, 319–330. doi: 10.1083/jcb.2.3.319.
- de Rooij, J., Zwartkruis, F. J., Verheijen, M. H., Cool, R. H., Nijman, S. M., Wittinghofer, A., et al. (1998). Epac is a Rap1 guanine-nucleotide-exchange factor directly activated by cyclic AMP. *Nature* 396, 474–477. doi: 10.1038/24884.
- de Waart, D. R., Paulusma, C. C., Kunne, C., and Oude Elferink, R. P. J. (2006). Multidrug resistance associated protein 2 mediates transport of prostaglandin E2. *Liver Int. Off. J. Int. Assoc. Study Liver* 26, 362–368. doi: 10.1111/j.1478-3231.2005.01234.x.
- Deane, J. A., Cole, D. G., Seeley, E. S., Diener, D. R., and Rosenbaum, J. L. (2001). Localization of intraflagellar transport protein IFT52 identifies basal body transitional fibers as the docking site for IFT particles. *Curr. Biol. CB* 11, 1586–1590. doi: 10.1016/s0960-9822(01)00484-5.
- Delaine-Smith, R. M., Sittichokechaiwut, A., and Reilly, G. C. (2014). Primary cilia respond to fluid shear stress and mediate flow-induced calcium deposition in osteoblasts. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 28, 430–439. doi: 10.1096/fj.13-231894.
- Delling, M., Indzhykulian, A. A., Liu, X., Li, Y., Xie, T., Corey, D. P., et al. (2016). Primary cilia are not calcium-responsive mechanosensors. *Nature* 531, 656–660. doi: 10.1038/nature17426.
- Delous, M., Baala, L., Salomon, R., Laclef, C., Vierkotten, J., Tory, K., et al. (2007). The ciliary gene RPGRIP1L is mutated in cerebello-oculo-renal syndrome (Joubert syndrome type B) and Meckel syndrome. *Nat. Genet.* 39, 875–881. doi: 10.1038/ng2039.
- Delous, M., Hellman, N. E., Gaudé, H.-M., Silbermann, F., Le Bivic, A., Salomon, R., et al. (2009). Nephrocystin-1 and nephrocystin-4 are required for epithelial morphogenesis and associate with PALS1/PATJ and Par6. *Hum. Mol. Genet.* 18, 4711–4723. doi: 10.1093/hmg/ddp434.
- Deren, M. E., Yang, X., Guan, Y., and Chen, Q. (2016). Biological and Chemical Removal of Primary Cilia Affects Mechanical Activation of Chondrogenesis Markers in Chondroprogenitors and Hypertrophic Chondrocytes. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 188. doi: 10.3390/ijms17020188.
- Desai, S., April, H., Nwaneshiudu, C., and Ashby, B. (2000). Comparison of agonist-induced internalization of the human EP2 and EP4 prostaglandin receptors: role of the carboxyl terminus in EP4 receptor sequestration. *Mol. Pharmacol.* 58, 1279–1286. doi: 10.1124/mol.58.6.1279.
- Desai, S., and Ashby, B. (2001). Agonist-induced internalization and mitogen-activated protein kinase activation of the human prostaglandin EP4 receptor. *FEBS Lett.* 501, 156–160. doi: 10.1016/s0014-5793(01)02640-0.
- Dinchuk, J. E., Car, B. D., Focht, R. J., Johnston, J. J., Jaffee, B. D., Covington, M. B., et al. (1995). Renal abnormalities and an altered inflammatory response in mice lacking cyclooxygenase II. *Nature* 378, 406–409. doi: 10.1038/378406a0.
- Ding, H., Bai, F., Cao, H., Xu, J., Fang, L., Wu, J., et al. (2018). PDE/cAMP/Epac/C/EBP- β Signaling Cascade Regulates Mitochondria Biogenesis of Tubular Epithelial Cells in Renal Fibrosis. *Antioxid. Redox Signal.* 29, 637–652. doi: 10.1089/ars.2017.7041.
- Dingemans, K. P. (1969). The relation between cilia and mitoses in the mouse

- adenohypophysis. *J. Cell Biol.* 43, 361–367. doi: 10.1083/jcb.43.2.361.
- Donaldson, J. C., Dempsey, P. J., Reddy, S., Bouton, A. H., Coffey, R. J., and Hanks, S. K. (2000). Crk-associated substrate p130(Cas) interacts with nephrocystin and both proteins localize to cell-cell contacts of polarized epithelial cells. *Exp. Cell Res.* 256, 168–178. doi: 10.1006/excr.2000.4822.
- Donaldson, J. C., Dise, R. S., Ritchie, M. D., and Hanks, S. K. (2002). Nephrocystin-conserved domains involved in targeting to epithelial cell-cell junctions, interaction with filamins, and establishing cell polarity. *J. Biol. Chem.* 277, 29028–29035. doi: 10.1074/jbc.M111697200.
- Dong, K., Zhang, C., Tian, X., Coman, D., Hyder, F., Ma, M., et al. (2021). Renal plasticity revealed through reversal of polycystic kidney disease in mice. *Nat. Genet.* 53, 1649–1663. doi: 10.1038/s41588-021-00946-4.
- Doucette, L. P., and Walter, M. A. (2017). Prostaglandins in the eye: Function, expression, and roles in glaucoma. *Ophthalmic Genet.* 38, 108–116. doi: 10.3109/13816810.2016.1164193.
- Drożdżal, S., Lechowicz, K., Szostak, B., Rosik, J., Kotfis, K., Machoy-Mokrzyńska, A., et al. (2021). Kidney damage from nonsteroidal anti-inflammatory drugs-Myth or truth? Review of selected literature. *Pharmacol. Res. Perspect.* 9, e00817. doi: 10.1002/prp2.817.
- Drummond, M. L., Li, M., Tarapore, E., Nguyen, T. T. L., Barouni, B. J., Cruz, S., et al. (2018). Actin polymerization controls cilia-mediated signaling. *J. Cell Biol.* 217, 3255–3266. doi: 10.1083/jcb.201703196.
- Duann, P., and Lin, P.-H. (2017). Mitochondria Damage and Kidney Disease. *Adv. Exp. Med. Biol.* 982, 529–551. doi: 10.1007/978-3-319-55330-6_27.
- Duffin, R., O'Connor, R. A., Crittenden, S., Forster, T., Yu, C., Zheng, X., et al. (2016). Prostaglandin E₂ constrains systemic inflammation through an innate lymphoid cell-IL-22 axis. *Science* 351, 1333–1338. doi: 10.1126/science.aad9903.
- Egorova, A. D., Khedoe, P. P. S. J., Goumans, M.-J. T. H., Yoder, B. K., Nauli, S. M., ten Dijke, P., et al. (2011). Lack of primary cilia primes shear-induced endothelial-to-mesenchymal transition. *Circ. Res.* 108, 1093–1101. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.231860.
- El Faza, S., Gharbi, N., Kamoun, A., and Somody, L. (2000). Vasopressin and A1 noradrenaline turnover during food or water deprivation in the rat. *Comp. Biochem. Physiol. Toxicol. Pharmacol. CBP* 126, 129–137. doi: 10.1016/s0742-8413(00)00105-5.
- Elberg, G., Elberg, D., Lewis, T. V., Guruswamy, S., Chen, L., Logan, C. J., et al. (2007). EP2 receptor mediates PGE₂-induced cystogenesis of human renal epithelial cells. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 293, F1622–F1632. doi: 10.1152/ajprenal.00036.2007.
- Eley, L., Gabrielides, C., Adams, M., Johnson, C. A., Hildebrandt, F., and Sayer, J. A. (2008a). Joubertin localizes to collecting ducts and interacts with nephrocystin-1. *Kidney Int.* 74, 1139–1149. doi: 10.1038/ki.2008.377.
- Eley, L., Mochhala, S. H., Simms, R., Hildebrandt, F., and Sayer, J. A. (2008b). Nephrocystin-1 interacts directly with Ack1 and is expressed in human collecting duct. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 371, 877–882. doi: 10.1016/j.bbrc.2008.05.016.
- Elmonem, M. A., Berlingerio, S. P., van den Heuvel, L. P., de Witte, P. A., Lowe, M., and Levtchenko, E. N. (2018). Genetic Renal Diseases: The Emerging Role of Zebrafish Models.

Cells 7, E130. doi: 10.3390/cells7090130.

Elwakeel, E., Brüne, B., and Weigert, A. (2019). PGE2 in fibrosis and cancer: Insights into fibroblast activation. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 143, 106339. doi: 10.1016/j.prostaglandins.2019.106339.

Endicott, S. J., and Brueckner, M. (2018). NUP98 Sets the Size-Exclusion Diffusion Limit through the Ciliary Base. *Curr. Biol. CB* 28, 1643-1650.e3. doi: 10.1016/j.cub.2018.04.014.

Esteva-Font, C., Krogager, T., Hoorn, E., and Fenton, R. (2021). Genetic Deletion of the Prostaglandin EP3 Receptor in the Kidney Tubule of Adult Mice Has No Impact on Kidney Water Handling. *FASEB J.* 35. doi: 10.1096/fasebj.2021.35.S1.00332.

Ezratty, E. J., Stokes, N., Chai, S., Shah, A. S., Williams, S. E., and Fuchs, E. (2011). A role for the primary cilium in Notch signaling and epidermal differentiation during skin development. *Cell* 145, 1129–1141. doi: 10.1016/j.cell.2011.05.030.

Failler, M., Gee, H. Y., Krug, P., Joo, K., Halbritter, J., Belkacem, L., et al. (2014). Mutations of CEP83 cause infantile nephronophthisis and intellectual disability. *Am. J. Hum. Genet.* 94, 905–914. doi: 10.1016/j.ajhg.2014.05.002.

Failler, M., Giro-Perafita, A., Owa, M., Srivastava, S., Yun, C., Kahler, D. J., et al. (2021). Whole-genome screen identifies diverse pathways that negatively regulate ciliogenesis. *Mol. Biol. Cell* 32, 169–185. doi: 10.1091/mbc.E20-02-0111.

Fan, J.-R., You, L.-R., Wang, W.-J., Huang, W.-S., Chu, C.-T., Chi, Y.-H., et al. (2020). Lamin A-mediated nuclear lamina integrity is required for proper ciliogenesis. *EMBO Rep.* 21, e49680. doi: 10.15252/embr.201949680.

Fanconi, G., Hanhart, E., von ALBERTINI, A., Uhlinger, E., Dolivo, G., and Prader, A. (1951). [Familial, juvenile nephronophthisis (idiopathic parenchymal contracted kidney)]. *Helv. Paediatr. Acta* 6, 1–49.

Farina, F., Gaillard, J., Guérin, C., Couté, Y., Sillibourne, J., Blanchoin, L., et al. (2016). The centrosome is an actin-organizing centre. *Nat. Cell Biol.* 18, 65–75. doi: 10.1038/ncb3285.

Fenton, R. A. (2009). Essential role of vasopressin-regulated urea transport processes in the mammalian kidney. *Pflugers Arch.* 458, 169–177. doi: 10.1007/s00424-008-0612-4.

Ferrante, M. I., Zullo, A., Barra, A., Bimonte, S., Messaddeq, N., Studer, M., et al. (2006). Oral-facial-digital type I protein is required for primary cilia formation and left-right axis specification. *Nat. Genet.* 38, 112–117. doi: 10.1038/ng1684.

Fleming, E. F., Athirakul, K., Oliverio, M. I., Key, M., Goulet, J., Koller, B. H., et al. (1998). Urinary concentrating function in mice lacking EP3 receptors for prostaglandin E2. *Am. J. Physiol.* 275, F955-961. doi: 10.1152/ajprenal.1998.275.6.F955.

Fliegauf, M., Horvath, J., von Schnakenburg, C., Olbrich, H., Müller, D., Thumfart, J., et al. (2006). Nephrocystin specifically localizes to the transition zone of renal and respiratory cilia and photoreceptor connecting cilia. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 17, 2424–2433. doi: 10.1681/ASN.2005121351.

Follit, J. A., Tuft, R. A., Fogarty, K. E., and Pazour, G. J. (2006). The intraflagellar transport protein IFT20 is associated with the Golgi complex and is required for cilia assembly. *Mol. Biol. Cell* 17, 3781–3792. doi: 10.1091/mbc.e06-02-0133.

- Forbes, T. A., Howden, S. E., Lawlor, K., Phipson, B., Maksimovic, J., Hale, L., et al. (2018). Patient-iPSC-Derived Kidney Organoids Show Functional Validation of a Ciliopathic Renal Phenotype and Reveal Underlying Pathogenetic Mechanisms. *Am. J. Hum. Genet.* 102, 816–831. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.03.014.
- Ford, M. J., Yeyati, P. L., Mali, G. R., Keighren, M. A., Waddell, S. H., Mjoseng, H. K., et al. (2018). A Cell/Cilia Cycle Biosensor for Single-Cell Kinetics Reveals Persistence of Cilia after G1/S Transition Is a General Property in Cells and Mice. *Dev. Cell* 47, 509–523.e5. doi: 10.1016/j.devcel.2018.10.027.
- Frank, V., den Hollander, A. I., Bröchle, N. O., Zonneveld, M. N., Nürnberg, G., Becker, C., et al. (2008). Mutations of the CEP290 gene encoding a centrosomal protein cause Meckel-Gruber syndrome. *Hum. Mutat.* 29, 45–52. doi: 10.1002/humu.20614.
- Frank, V., Habbig, S., Bartram, M. P., Eisenberger, T., Veenstra-Knol, H. E., Decker, C., et al. (2013). Mutations in NEK8 link multiple organ dysplasia with altered Hippo signalling and increased c-MYC expression. *Hum. Mol. Genet.* 22, 2177–2185. doi: 10.1093/hmg/ddt070.
- Frantz, C., Stewart, K. M., and Weaver, V. M. (2010). The extracellular matrix at a glance. *J. Cell Sci.* 123, 4195–4200. doi: 10.1242/jcs.023820.
- Freedman, B. S., Brooks, C. R., Lam, A. Q., Fu, H., Morizane, R., Agrawal, V., et al. (2015). Modelling kidney disease with CRISPR-mutant kidney organoids derived from human pluripotent epiblast spheroids. *Nat. Commun.* 6, 8715. doi: 10.1038/ncomms9715.
- Friedman, E. A., Ogletree, M. L., Haddad, E. V., and Boutaud, O. (2015). Understanding the role of prostaglandin E2 in regulating human platelet activity in health and disease. *Thromb. Res.* 136, 493–503. doi: 10.1016/j.thromres.2015.05.027.
- Frölich, S., Olliges, A., Kern, N., Schreiber, Y., Narumiya, S., and Nüsing, R. M. (2012). Temporal expression of the PGE2 synthetic system in the kidney is associated with the time frame of renal developmental vulnerability to cyclooxygenase-2 inhibition. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 303, F209–219. doi: 10.1152/ajprenal.00418.2011.
- Fu, S., Thompson, C. L., Ali, A., Wang, W., Chapple, J. P., Mitchison, H. M., et al. (2019). Mechanical loading inhibits cartilage inflammatory signalling via an HDAC6 and IFT-dependent mechanism regulating primary cilia elongation. *Osteoarthritis Cartilage* 27, 1064–1074. doi: 10.1016/j.joca.2019.03.003.
- Fuchs, M. A. A., Schrankl, J., Leupold, C., Wagner, C., Kurtz, A., and Broecker, K. A.-E. (2022). Intact prostaglandin signaling through EP2 and EP4 receptors in stromal progenitor cells is required for normal development of the renal cortex in mice. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 322, F295–F307. doi: 10.1152/ajprenal.00414.2021.
- Fujimaru, T., Kawanishi, K., Mori, T., Mishima, E., Sekine, A., Chiga, M., et al. (2021). Genetic Background and Clinicopathologic Features of Adult-onset Nephronophthisis. *Kidney Int. Rep.* 6, 1346–1354. doi: 10.1016/j.ekir.2021.02.005.
- Fujino, H., and Regan, J. W. (2006). EP(4) prostanoid receptor coupling to a pertussis toxin-sensitive inhibitory G protein. *Mol. Pharmacol.* 69, 5–10. doi: 10.1124/mol.105.017749.
- Funabashi, T., Katoh, Y., Okazaki, M., Sugawa, M., and Nakayama, K. (2018). Interaction of heterotrimeric kinesin-II with IFT-B-connecting tetramer is crucial for ciliogenesis. *J. Cell Biol.* 217, 2867–2876. doi: 10.1083/jcb.201801039.

- Funk, C. D. (2001). Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science* 294, 1871–1875. doi: 10.1126/science.294.5548.1871.
- Gagnadoux, M. F., Bacri, J. L., Broyer, M., and Habib, R. (1989). Infantile chronic tubulointerstitial nephritis with cortical microcysts: variant of nephronophthisis or new disease entity? *Pediatr. Nephrol. Berl. Ger.* 3, 50–55. doi: 10.1007/BF00859626.
- Ganga, A. K., Kennedy, M. C., Oguchi, M. E., Gray, S., Oliver, K. E., Knight, T. A., et al. (2021). Rab34 GTPase mediates ciliary membrane formation in the intracellular ciliogenesis pathway. *Curr. Biol. CB* 31, 2895–2905.e7. doi: 10.1016/j.cub.2021.04.075.
- Gansevoort, R. T., Arici, M., Benzing, T., Birn, H., Capasso, G., Covic, A., et al. (2016). Recommendations for the use of tolvaptan in autosomal dominant polycystic kidney disease: a position statement on behalf of the ERA-EDTA Working Groups on Inherited Kidney Disorders and European Renal Best Practice. *Nephrol. Dial. Transplant. Off. Publ. Eur. Dial. Transpl. Assoc. - Eur. Ren. Assoc.* 31, 337–348. doi: 10.1093/ndt/gfv456.
- Gao, M., Cao, R., Du, S., Jia, X., Zheng, S., Huang, S., et al. (2015). Disruption of prostaglandin E2 receptor EP4 impairs urinary concentration via decreasing aquaporin 2 in renal collecting ducts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 8397–8402. doi: 10.1073/pnas.1509565112.
- Garcia, G., Raleigh, D. R., and Reiter, J. F. (2018). How the Ciliary Membrane Is Organized Inside-Out to Communicate Outside-In. *Curr. Biol. CB* 28, R421–R434. doi: 10.1016/j.cub.2018.03.010.
- Garcia-Gonzalo, F. R., Corbit, K. C., Sirerol-Piquer, M. S., Ramaswami, G., Otto, E. A., Noriega, T. R., et al. (2011). A transition zone complex regulates mammalian ciliogenesis and ciliary membrane composition. *Nat. Genet.* 43, 776–784. doi: 10.1038/ng.891.
- Gattone, V. H., Wang, X., Harris, P. C., and Torres, V. E. (2003). Inhibition of renal cystic disease development and progression by a vasopressin V2 receptor antagonist. *Nat. Med.* 9, 1323–1326. doi: 10.1038/nm935.
- Gava, A. L., Freitas, F. P., Balarini, C. M., Vasquez, E. C., and Meyrelles, S. S. (2012). Effects of 5/6 nephrectomy on renal function and blood pressure in mice. *Int. J. Physiol. Pathophysiol. Pharmacol.* 4, 167–173.
- Gehrig, J., Pandey, G., and Westhoff, J. H. (2018). Zebrafish as a Model for Drug Screening in Genetic Kidney Diseases. *Front. Pediatr.* 6, 183. doi: 10.3389/fped.2018.00183.
- Georges, B., Cosyns, J. P., Dahan, K., Snyers, B., Carlier, B., Loute, G., et al. (2000). Late-onset renal failure in Senior-Loken syndrome. *Am. J. Kidney Dis. Off. J. Natl. Kidney Found.* 36, 1271–1275. doi: 10.1053/ajkd.2000.19845.
- Gerarduzzi, C., He, Q., Antoniou, J., and Di Battista, J. A. (2014). Prostaglandin E(2)-dependent blockade of actomyosin and stress fibre formation is mediated through S1379 phosphorylation of ROCK2. *J. Cell. Biochem.* 115, 1516–1527. doi: 10.1002/jcb.24806.
- Gerdes, J. M., Liu, Y., Zaghoul, N. A., Leitch, C. C., Lawson, S. S., Kato, M., et al. (2007). Disruption of the basal body compromises proteasomal function and perturbs intracellular Wnt response. *Nat. Genet.* 39, 1350–1360. doi: 10.1038/ng.2007.12.
- Ghosh, A. K., Hurd, T., and Hildebrandt, F. (2012). 3D spheroid defects in NPHP knockdown cells are rescued by the somatostatin receptor agonist octreotide. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 303, F1225–1229. doi: 10.1152/ajprenal.00135.2012.

- Ghossoub, R., Hu, Q., Failler, M., Rouyez, M.-C., Spitzbarth, B., Mostowy, S., et al. (2013). Septins 2, 7 and 9 and MAP4 colocalize along the axoneme in the primary cilium and control ciliary length. *J. Cell Sci.* 126, 2583–2594. doi: 10.1242/jcs.111377.
- Giles, R. H., Ajzenberg, H., and Jackson, P. K. (2014). 3D spheroid model of mIMCD3 cells for studying ciliopathies and renal epithelial disorders. *Nat. Protoc.* 9, 2725–2731. doi: 10.1038/nprot.2014.181.
- Gilula, N. B., and Satir, P. (1972). The ciliary necklace. A ciliary membrane specialization. *J. Cell Biol.* 53, 494–509. doi: 10.1083/jcb.53.2.494.
- Girgert, R., Martin, M., Kruegel, J., Miosge, N., Temme, J., Eckes, B., et al. (2010). Integrin α 2-deficient mice provide insights into specific functions of collagen receptors in the kidney. *Fibrogenesis Tissue Repair* 3, 19. doi: 10.1186/1755-1536-3-19.
- Goetz, J. G., Steed, E., Ferreira, R. R., Roth, S., Ramspacher, C., Boselli, F., et al. (2014). Endothelial cilia mediate low flow sensing during zebrafish vascular development. *Cell Rep.* 6, 799–808. doi: 10.1016/j.celrep.2014.01.032.
- Goetz, S. C., Liem, K. F., and Anderson, K. V. (2012). The spinocerebellar ataxia-associated gene Tau tubulin kinase 2 controls the initiation of ciliogenesis. *Cell* 151, 847–858. doi: 10.1016/j.cell.2012.10.010.
- Gökirmak, T., Nikan, M., Wiechmann, S., Prakash, T. P., Tanowitz, M., and Seth, P. P. (2021). Overcoming the challenges of tissue delivery for oligonucleotide therapeutics. *Trends Pharmacol. Sci.* 42, 588–604. doi: 10.1016/j.tips.2021.04.010.
- Goldstein, O., Mezey, J. G., Schweitzer, P. A., Boyko, A. R., Gao, C., Bustamante, C. D., et al. (2013). IQCB1 and PDE6B mutations cause similar early onset retinal degenerations in two closely related terrier dog breeds. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 54, 7005–7019. doi: 10.1167/iovs.13-12915.
- Gonçalves, J., and Pelletier, L. (2017). The Ciliary Transition Zone: Finding the Pieces and Assembling the Gate. *Mol. Cells* 40, 243–253. doi: 10.14348/molcells.2017.0054.
- Gong, X., Yang, W., Wang, L., Duncan, R. L., and Pan, J. (2014). Prostaglandin E2 modulates F-actin stress fiber in FSS-stimulated MC3T3-E1 cells in a PKA-dependent manner. *Acta Biochim. Biophys. Sin.* 46, 40–47. doi: 10.1093/abbs/gmt126.
- González, A. A., Céspedes, C., Villanueva, S., Michea, L., and Vio, C. P. (2009). E Prostanoid-1 receptor regulates renal medullary α ENaC in rats infused with angiotensin II. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 389, 372–377. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.08.157.
- Gonzalez, A. A., Cifuentes-Araneda, F., Ibaceta-Gonzalez, C., Gonzalez-Vergara, A., Zamora, L., Henriquez, R., et al. (2016). Vasopressin/V2 receptor stimulates renin synthesis in the collecting duct. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 310, F284-293. doi: 10.1152/ajprenal.00360.2015.
- Gonzalez, A. A., Liu, L., Lara, L. S., Bourgeois, C. R. T., Ibaceta-Gonzalez, C., Salinas-Parra, N., et al. (2015). PKC- α -dependent augmentation of cAMP and CREB phosphorylation mediates the angiotensin II stimulation of renin in the collecting duct. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 309, F880-888. doi: 10.1152/ajprenal.00155.2015.
- Gonzalez, A. A., Salinas-Parra, N., Leach, D., Navar, L. G., and Prieto, M. C. (2017). PGE2 upregulates renin through E-prostanoid receptor 1 via PKC/cAMP/CREB pathway in M-1

- cells. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 313, F1038–F1049. doi: 10.1152/ajprenal.00194.2017.
- Grantham, J. J., and Orloff, J. (1968). Effect of prostaglandin E1 on the permeability response of the isolated collecting tubule to vasopressin, adenosine 3',5'-monophosphate, and theophylline. *J. Clin. Invest.* 47, 1154–1161. doi: 10.1172/JCI105804.
- Graser, S., Stierhof, Y.-D., Lavoie, S. B., Gassner, O. S., Lamla, S., Le Clech, M., et al. (2007). Cep164, a novel centriole appendage protein required for primary cilium formation. *J. Cell Biol.* 179, 321–330. doi: 10.1083/jcb.200707181.
- Guan, Y., Zhang, Y., Breyer, R. M., Fowler, B., Davis, L., Hébert, R. L., et al. (1998). Prostaglandin E2 inhibits renal collecting duct Na⁺ absorption by activating the EP1 receptor. *J. Clin. Invest.* 102, 194–201. doi: 10.1172/JCI2872.
- Gulla, S., Lomada, D., Lade, A., Pallu, R., and Reddy, M. C. (2020). Role of Prostaglandins in Multiple Sclerosis. *Curr. Pharm. Des.* 26, 730–742. doi: 10.2174/1381612826666200107141328.
- Guo, N.-F., Qiu, Z., Chen, X.-L., Chen, X., Huang, J.-B., and Liu, J. (2020). Prostaglandin E2 receptor subtypes 1 and 2 play a role in TGF- β 1-induced renal fibrosis by regulating endoplasmic reticulum stress. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 24, 4954–4962. doi: 10.26355/eurrev_202005_21186.
- Gupta, P. R., Pendse, N., Greenwald, S. H., Leon, M., Liu, Q., Pierce, E. A., et al. (2018). Ift172 conditional knock-out mice exhibit rapid retinal degeneration and protein trafficking defects. *Hum. Mol. Genet.* 27, 2012–2024. doi: 10.1093/hmg/ddy109.
- Haider, N. B., Carmi, R., Shalev, H., Sheffield, V. C., and Landau, D. (1998). A Bedouin kindred with infantile nephronophthisis demonstrates linkage to chromosome 9 by homozygosity mapping. *Am. J. Hum. Genet.* 63, 1404–1410. doi: 10.1086/302108.
- Hajarnis, S., Lakhia, R., Yheskel, M., Williams, D., Sorourian, M., Liu, X., et al. (2017). microRNA-17 family promotes polycystic kidney disease progression through modulation of mitochondrial metabolism. *Nat. Commun.* 8, 14395. doi: 10.1038/ncomms14395.
- Halbritter, J., Bizet, A. A., Schmidts, M., Porath, J. D., Braun, D. A., Gee, H. Y., et al. (2013a). Defects in the IFT-B component IFT172 cause Jeune and Mainzer-Saldino syndromes in humans. *Am. J. Hum. Genet.* 93, 915–925. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.09.012.
- Halbritter, J., Diaz, K., Chaki, M., Porath, J. D., Tarrier, B., Fu, C., et al. (2012). High-throughput mutation analysis in patients with a nephronophthisis-associated ciliopathy applying multiplexed barcoded array-based PCR amplification and next-generation sequencing. *J. Med. Genet.* 49, 756–767. doi: 10.1136/jmedgenet-2012-100973.
- Halbritter, J., Porath, J. D., Diaz, K. A., Braun, D. A., Kohl, S., Chaki, M., et al. (2013b). Identification of 99 novel mutations in a worldwide cohort of 1,056 patients with a nephronophthisis-related ciliopathy. *Hum. Genet.* 132, 865–884. doi: 10.1007/s00439-013-1297-0.
- Halling, J. F., and Pilegaard, H. (2020). PGC-1 α -mediated regulation of mitochondrial function and physiological implications. *Appl. Physiol. Nutr. Metab. Physiol. Appl. Nutr. Metab.* 45, 927–936. doi: 10.1139/apnm-2020-0005.
- Hamiwka, L. A., Midgley, J. P., Wade, A. W., Martz, K. L., and Grisar, S. (2008). Outcomes of kidney transplantation in children with nephronophthisis: an analysis of the North American

- Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies (NAPRTCS) Registry. *Pediatr. Transplant.* 12, 878–882. doi: 10.1111/j.1399-3046.2008.00942.x.
- Hamzaoui, M., Djerada, Z., Brunel, V., Mulder, P., Richard, V., Bellien, J., et al. (2020). 5/6 nephrectomy induces different renal, cardiac and vascular consequences in 129/Sv and C57BL/6J mice. *Sci. Rep.* 10, 1524. doi: 10.1038/s41598-020-58393-w.
- Handa, A., Voss, U., Hammarsjö, A., Grigelioniene, G., and Nishimura, G. (2020). Skeletal ciliopathies: a pattern recognition approach. *Jpn. J. Radiol.* 38, 193–206. doi: 10.1007/s11604-020-00920-w.
- Hansen, J. N., Kaiser, F., Leyendecker, P., Stüven, B., Krause, J.-H., Derakhshandeh, F., et al. (2022). A cAMP signalosome in primary cilia drives gene expression and kidney cyst formation. *EMBO Rep.*, e54315. doi: 10.15252/embr.202154315.
- Hao, K., Chen, Y., Yan, X., and Zhu, X. (2021). Cilia locally synthesize proteins to sustain their ultrastructure and functions. *Nat. Commun.* 12, 6971. doi: 10.1038/s41467-021-27298-1.
- Hao, S., DelliPizzi, A., Quiroz-Munoz, M., Jiang, H., and Ferreri, N. R. (2016). The EP3 receptor regulates water excretion in response to high salt intake. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 311, F822–F829. doi: 10.1152/ajprenal.00589.2015.
- Hao, S., Hernandez, A., Quiroz-Munoz, M., Cespedes, C., Vio, C. P., and Ferreri, N. R. (2014). PGE₂ EP₃ receptor downregulates COX-2 expression in the medullary thick ascending limb induced by hypertonic NaCl. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 307, F736–746. doi: 10.1152/ajprenal.00204.2014.
- Hasegawa, H., Katoh, H., Yamaguchi, Y., Nakamura, K., Futakawa, S., and Negishi, M. (2000). Different membrane targeting of prostaglandin EP₃ receptor isoforms dependent on their carboxy-terminal tail structures. *FEBS Lett.* 473, 76–80. doi: 10.1016/s0014-5793(00)01508-8.
- Hashemi Goradel, N., Najafi, M., Salehi, E., Farhood, B., and Mortezaee, K. (2019). Cyclooxygenase-2 in cancer: A review. *J. Cell. Physiol.* 234, 5683–5699. doi: 10.1002/jcp.27411.
- Hassouneh, R., Nasrallah, R., Zimpelmann, J., Gutsol, A., Eckert, D., Ghossein, J., et al. (2016). PGE₂ receptor EP₃ inhibits water reabsorption and contributes to polyuria and kidney injury in a streptozotocin-induced mouse model of diabetes. *Diabetologia* 59, 1318–1328. doi: 10.1007/s00125-016-3916-5.
- Hébert, R. L. (1994). Cellular signalling of PGE₂ and its selective receptor analogue sulprostone in rabbit cortical collecting duct. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 51, 147–155. doi: 10.1016/0952-3278(94)90127-9.
- Herman, M. B., Rajkhowa, T., Cutuli, F., Springate, J. E., and Taub, M. (2010). Regulation of renal proximal tubule Na-K-ATPase by prostaglandins. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 298, F1222–1234. doi: 10.1152/ajprenal.00467.2009.
- Hernandez-Hernandez, V., Pravincumar, P., Diaz-Font, A., May-Simera, H., Jenkins, D., Knight, M., et al. (2013). Bardet-Biedl syndrome proteins control the cilia length through regulation of actin polymerization. *Hum. Mol. Genet.* 22, 3858–3868. doi: 10.1093/hmg/ddt241.
- Hierck, B. P., Van der Heiden, K., Alkemade, F. E., Van de Pas, S., Van Thienen, J. V., Groenendijk, B. C. W., et al. (2008). Primary cilia sensitize endothelial cells for fluid shear

- stress. *Dev. Dyn. Off. Publ. Am. Assoc. Anat.* 237, 725–735. doi: 10.1002/dvdy.21472.
- Hildebrandt, F., Otto, E., Rensing, C., Nothwang, H. G., Vollmer, M., Adolphs, J., et al. (1997a). A novel gene encoding an SH3 domain protein is mutated in nephronophthisis type 1. *Nat. Genet.* 17, 149–153. doi: 10.1038/ng1097-149.
- Hildebrandt, F., Strahm, B., Nothwang, H. G., Gretz, N., Schnieders, B., Singh-Sawhney, I., et al. (1997b). Molecular genetic identification of families with juvenile nephronophthisis type 1: rate of progression to renal failure. APN Study Group. Arbeitsgemeinschaft für Pädiatrische Nephrologie. *Kidney Int.* 51, 261–269. doi: 10.1038/ki.1997.31.
- Hill, N. R., Fatoba, S. T., Oke, J. L., Hirst, J. A., O’Callaghan, C. A., Lasserson, D. S., et al. (2016). Global Prevalence of Chronic Kidney Disease - A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 11, e0158765. doi: 10.1371/journal.pone.0158765.
- Hoefele, J., Nayir, A., Chaki, M., Imm, A., Allen, S. J., Otto, E. A., et al. (2011). Pseudodominant inheritance of nephronophthisis caused by a homozygous NPHP1 deletion. *Pediatr. Nephrol. Berl. Ger.* 26, 967–971. doi: 10.1007/s00467-011-1761-9.
- Hoefele, J., Sudbrak, R., Reinhardt, R., Lehrack, S., Hennig, S., Imm, A., et al. (2005). Mutational analysis of the NPHP4 gene in 250 patients with nephronophthisis. *Hum. Mutat.* 25, 411–411. doi: 10.1002/humu.9326.
- Hoefele, J., Wolf, M. T. F., O’Toole, J. F., Otto, E. A., Schultheiss, U., Dêschenes, G., et al. (2007). Evidence of oligogenic inheritance in nephronophthisis. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 18, 2789–2795. doi: 10.1681/ASN.2007020243.
- Hoff, S., Halbritter, J., Epting, D., Frank, V., Nguyen, T.-M. T., van Reeuwijk, J., et al. (2013). ANKS6 is a central component of a nephronophthisis module linking NEK8 to INVS and NPHP3. *Nat. Genet.* 45, 951–956. doi: 10.1038/ng.2681.
- Hoffman, H. K., and Prekeris, R. (2022). Roles of the actin cytoskeleton in ciliogenesis. *J. Cell Sci.* 135, jcs259030. doi: 10.1242/jcs.259030.
- Hohenester, E., and Yurchenco, P. D. (2013). Laminins in basement membrane assembly. *Cell Adhes. Migr.* 7, 56–63. doi: 10.4161/cam.21831.
- Holm Nielsen, S., Guldager Kring Rasmussen, D., Brix, S., Fenton, A., Jesky, M., Ferro, C. J., et al. (2018). A novel biomarker of laminin turnover is associated with disease progression and mortality in chronic kidney disease. *PLoS One* 13, e0204239. doi: 10.1371/journal.pone.0204239.
- Homan, K. A., Gupta, N., Kroll, K. T., Kolesky, D. B., Skylar-Scott, M., Miyoshi, T., et al. (2019). Flow-enhanced vascularization and maturation of kidney organoids in vitro. *Nat. Methods* 16, 255–262. doi: 10.1038/s41592-019-0325-y.
- Hommel, E., Mathiesen, E., Arnold-Larsen, S., Edsberg, B., Olsen, U. B., and Parving, H. H. (1987). Effects of indomethacin on kidney function in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with nephropathy. *Diabetologia* 30, 78–81. doi: 10.1007/BF00274575.
- Hong, C.-J., and Hamilton, B. A. (2016). Zfp423 Regulates Sonic Hedgehog Signaling via Primary Cilium Function. *PLoS Genet.* 12, e1006357. doi: 10.1371/journal.pgen.1006357.
- Hopp, K., Ward, C. J., Hommerding, C. J., Nasr, S. H., Tuan, H.-F., Gainullin, V. G., et al. (2012). Functional polycystin-1 dosage governs autosomal dominant polycystic kidney disease severity. *J. Clin. Invest.* 122, 4257–4273. doi: 10.1172/JCI64313.

- Hori, A., and Toda, T. (2017). Regulation of centriolar satellite integrity and its physiology. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 74, 213–229. doi: 10.1007/s00018-016-2315-x.
- Hsueh, Y.-C., Wu, J. M. F., Yu, C.-K., Wu, K. K., and Hsieh, P. C. H. (2014). Prostaglandin E₂ promotes post-infarction cardiomyocyte replenishment by endogenous stem cells. *EMBO Mol. Med.* 6, 496–503. doi: 10.1002/emmm.201303687.
- Hu, C., Beebe, K., Hernandez, E. J., Lazaro-Guevara, J. M., Revelo, M. P., Huang, Y., et al. (2022). Multiomic identification of factors associated with progression to cystic kidney disease in mice with nephron lft88 disruption. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 322, F175–F192. doi: 10.1152/ajprenal.00409.2021.
- Hu, Q., Milenkovic, L., Jin, H., Scott, M. P., Nachury, M. V., Spiliotis, E. T., et al. (2010). A septin diffusion barrier at the base of the primary cilium maintains ciliary membrane protein distribution. *Science* 329, 436–439. doi: 10.1126/science.1191054.
- Huang, E., Peng, N., Xiao, F., Hu, D., Wang, X., and Lu, L. (2020). The Roles of Immune Cells in the Pathogenesis of Fibrosis. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 5203. doi: 10.3390/ijms21155203.
- Huang, J., Kong, Y., Xie, C., and Zhou, L. (2021a). Stem/progenitor cell in kidney: characteristics, homing, coordination, and maintenance. *Stem Cell Res. Ther.* 12, 197. doi: 10.1186/s13287-021-02266-0.
- Huang, N., Zhang, D., Li, F., Chai, P., Wang, S., Teng, J., et al. (2018). M-Phase Phosphoprotein 9 regulates ciliogenesis by modulating CP110-CEP97 complex localization at the mother centriole. *Nat. Commun.* 9, 4511. doi: 10.1038/s41467-018-06990-9.
- Huang, X., Ma, Y., Li, Y., Han, F., and Lin, W. (2021b). Targeted Drug Delivery Systems for Kidney Diseases. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 9, 683247. doi: 10.3389/fbioe.2021.683247.
- Huangfu, D., Liu, A., Rakeman, A. S., Murcia, N. S., Niswander, L., and Anderson, K. V. (2003). Hedgehog signalling in the mouse requires intraflagellar transport proteins. *Nature* 426, 83–87. doi: 10.1038/nature02061.
- Husson, H., Moreno, S., Smith, L. A., Smith, M. M., Russo, R. J., Pitstick, R., et al. (2016). Reduction of ciliary length through pharmacologic or genetic inhibition of CDK5 attenuates polycystic kidney disease in a model of nephronophthisis. *Hum. Mol. Genet.* 25, 2245–2255. doi: 10.1093/hmg/ddw093.
- Iannicelli, M., Brancati, F., Mougou-Zerelli, S., Mazzotta, A., Thomas, S., Elkhartoufi, N., et al. (2010). Novel TMEM67 mutations and genotype-phenotype correlates in meckelin-related ciliopathies. *Hum. Mutat.* 31, E1319-1331. doi: 10.1002/humu.21239.
- Ibrahim, N. H. M., Gregoire, M., Devassy, J. G., Wu, Y., Yoshihara, D., Yamaguchi, T., et al. (2015). Cyclooxygenase product inhibition with acetylsalicylic acid slows disease progression in the Han:SPRD-Cy rat model of polycystic kidney disease. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 116–117, 19–25. doi: 10.1016/j.prostaglandins.2014.10.005.
- Imig, J. D., Breyer, M. D., and Breyer, R. M. (2002). Contribution of prostaglandin EP(2) receptors to renal microvascular reactivity in mice. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 283, F415-422. doi: 10.1152/ajprenal.00351.2001.
- Impagnatiello, F., Bastia, E., Almirante, N., Brambilla, S., Duquesroix, B., Kothe, A. C., et al. (2019). Prostaglandin analogues and nitric oxide contribution in the treatment of ocular hypertension and glaucoma. *Br. J. Pharmacol.* 176, 1079–1089. doi: 10.1111/bph.14328.

- Inoko, A., Matsuyama, M., Goto, H., Ohmuro-Matsuyama, Y., Hayashi, Y., Enomoto, M., et al. (2012). Trichoplein and Aurora A block aberrant primary cilia assembly in proliferating cells. *J. Cell Biol.* 197, 391–405. doi: 10.1083/jcb.201106101.
- Ishimoto, Y., Inagi, R., Yoshihara, D., Kugita, M., Nagao, S., Shimizu, A., et al. (2017). Mitochondrial Abnormality Facilitates Cyst Formation in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *Mol. Cell. Biol.* 37, e00337-17. doi: 10.1128/MCB.00337-17.
- Ito, S., Carretero, O. A., Abe, K., Juncos, L. A., and Yoshinaga, K. (1992). Macula densa control of renin release and glomerular hemodynamics. *Tohoku J. Exp. Med.* 166, 27–39. doi: 10.1620/tjem.166.27.
- Izawa, I., Goto, H., Kasahara, K., and Inagaki, M. (2015). Current topics of functional links between primary cilia and cell cycle. *Cilia* 4, 12. doi: 10.1186/s13630-015-0021-1.
- Jacobs, D. T., Silva, L. M., Allard, B. A., Schonfeld, M. P., Chatterjee, A., Talbott, G. C., et al. (2016). Dysfunction of intraflagellar transport-A causes hyperphagia-induced obesity and metabolic syndrome. *Dis. Model. Mech.* 9, 789–798. doi: 10.1242/dmm.025791.
- Jain, M. D., Bachmeier, C. A., Phuoc, V. H., and Chavez, J. C. (2018). Axicabtagene ciloleucel (KTE-C19), an anti-CD19 CAR T therapy for the treatment of relapsed/refractory aggressive B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Ther. Clin. Risk Manag.* 14, 1007–1017. doi: 10.2147/TCRM.S145039.
- Jain, M., Kaiser, R. W. J., Bohl, K., Hoehne, M., Göbel, H., Bartram, M. P., et al. (2019). Inactivation of Apoptosis Antagonizing Transcription Factor in tubular epithelial cells induces accumulation of DNA damage and nephronophthisis. *Kidney Int.* 95, 846–858. doi: 10.1016/j.kint.2018.10.034.
- Jang, Y., Kim, M., and Hwang, S. W. (2020). Molecular mechanisms underlying the actions of arachidonic acid-derived prostaglandins on peripheral nociception. *J. Neuroinflammation* 17, 30. doi: 10.1186/s12974-020-1703-1.
- Jauregui, A. R., and Barr, M. M. (2005). Functional characterization of the *C. elegans* nephrocystins NPHP-1 and NPHP-4 and their role in cilia and male sensory behaviors. *Exp. Cell Res.* 305, 333–342. doi: 10.1016/j.yexcr.2005.01.008.
- Jensen, B. L., Schmid, C., and Kurtz, A. (1996). Prostaglandins stimulate renin secretion and renin mRNA in mouse renal juxtaglomerular cells. *Am. J. Physiol.* 271, F659-669. doi: 10.1152/ajprenal.1996.271.3.F659.
- Jensen, B. L., Stubbe, J., Hansen, P. B., Andreasen, D., and Skøtt, O. (2001). Localization of prostaglandin E(2) EP2 and EP4 receptors in the rat kidney. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 280, F1001-1009. doi: 10.1152/ajprenal.2001.280.6.F1001.
- Jensen, M. S., Mutsaers, H. A. M., Tingskov, S. J., Christensen, M., Madsen, M. G., Olinga, P., et al. (2019). Activation of the prostaglandin E2 EP2 receptor attenuates renal fibrosis in unilateral ureteral obstructed mice and human kidney slices. *Acta Physiol. Oxf. Engl.* 227, e13291. doi: 10.1111/apha.13291.
- Ji, R., Chou, C.-L., Xu, W., Chen, X.-B., Woodward, D. F., and Regan, J. W. (2010). EP1 prostanoid receptor coupling to G i/o up-regulates the expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha through activation of a phosphoinositide-3 kinase signaling pathway. *Mol. Pharmacol.* 77, 1025–1036. doi: 10.1124/mol.110.063933.

- Jia, Y., Liu, L.-L., Su, J.-L., Meng, X.-H., Wang, W.-X., and Tian, C. (2021). Effect of alprostadil in the treatment of intensive care unit patients with acute renal injury. *World J. Clin. Cases* 9, 1284–1292. doi: 10.12998/wjcc.v9.i6.1284.
- Jiang, S.-T., Chiou, Y.-Y., Wang, E., Chien, Y.-L., Ho, H.-H., Tsai, F.-J., et al. (2009). Essential role of nephrocystin in photoreceptor intraflagellar transport in mouse. *Hum. Mol. Genet.* 18, 1566–1577. doi: 10.1093/hmg/ddp068.
- Jiang, S.-T., Chiou, Y.-Y., Wang, E., Lin, H.-K., Lee, S.-P., Lu, H.-Y., et al. (2008). Targeted disruption of Nphp1 causes male infertility due to defects in the later steps of sperm morphogenesis in mice. *Hum. Mol. Genet.* 17, 3368–3379. doi: 10.1093/hmg/ddn231.
- Jin, D., Ni, T. T., Sun, J., Wan, H., Amack, J. D., Yu, G., et al. (2014). Prostaglandin signalling regulates ciliogenesis by modulating intraflagellar transport. *Nat. Cell Biol.* 16, 841–851. doi: 10.1038/ncb3029.
- Jin, H., Zhang, Y., Liu, D., Wang, S. S., Ding, Q., Rastogi, P., et al. (2020). Innate Immune Signaling Contributes to Tubular Cell Senescence in the Glis2 Knockout Mouse Model of Nephronophthisis. *Am. J. Pathol.* 190, 176–189. doi: 10.1016/j.ajpath.2019.09.013.
- Jo, Y.-I., Cheng, H., Wang, S., Moeckel, G. W., and Harris, R. C. (2007). Puromycin induces reversible proteinuric injury in transgenic mice expressing cyclooxygenase-2 in podocytes. *Nephron Exp. Nephrol.* 107, e87-94. doi: 10.1159/000108653.
- Joly, D., Berissi, S., Bertrand, A., Strehl, L., Patey, N., and Knebelmann, B. (2006). Laminin 5 regulates polycystic kidney cell proliferation and cyst formation. *J. Biol. Chem.* 281, 29181–29189. doi: 10.1074/jbc.M606151200.
- Jones, T. J., and Nauli, S. M. (2012). Mechanosensory calcium signaling. *Adv. Exp. Med. Biol.* 740, 1001–1015. doi: 10.1007/978-94-007-2888-2_46.
- Joo, K., Kim, C. G., Lee, M.-S., Moon, H.-Y., Lee, S.-H., Kim, M. J., et al. (2013). CCDC41 is required for ciliary vesicle docking to the mother centriole. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 5987–5992. doi: 10.1073/pnas.1220927110.
- Juul, K. V., Bichet, D. G., Nielsen, S., and Nørgaard, J. P. (2014). The physiological and pathophysiological functions of renal and extrarenal vasopressin V2 receptors. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 306, F931-940. doi: 10.1152/ajprenal.00604.2013.
- Kaji, D. M., Chase, H. S., Eng, J. P., and Diaz, J. (1996). Prostaglandin E2 inhibits Na-K-2Cl cotransport in medullary thick ascending limb cells. *Am. J. Physiol.* 271, C354-361. doi: 10.1152/ajpcell.1996.271.1.C354.
- Kamei, D., Yamakawa, K., Takegoshi, Y., Mikami-Nakanishi, M., Nakatani, Y., Oh-Ishi, S., et al. (2004). Reduced pain hypersensitivity and inflammation in mice lacking microsomal prostaglandin e synthase-1. *J. Biol. Chem.* 279, 33684–33695. doi: 10.1074/jbc.M400199200.
- Kang, H. M., Ahn, S. H., Choi, P., Ko, Y.-A., Han, S. H., Chinga, F., et al. (2015). Defective fatty acid oxidation in renal tubular epithelial cells has a key role in kidney fibrosis development. *Nat. Med.* 21, 37–46. doi: 10.1038/nm.3762.
- Kang, Y.-J., Mbonye, U. R., DeLong, C. J., Wada, M., and Smith, W. L. (2007). Regulation of intracellular cyclooxygenase levels by gene transcription and protein degradation. *Prog. Lipid Res.* 46, 108–125. doi: 10.1016/j.plipres.2007.01.001.
- Kaplan, B. S., Restaino, I., Raval, D. S., Gottlieb, R. P., and Bernstein, J. (1994). Renal failure in

- the neonate associated with in utero exposure to non-steroidal anti-inflammatory agents. *Pediatr. Nephrol. Berl. Ger.* 8, 700–704. doi: 10.1007/BF00869093.
- Karger, C., Machura, K., Schneider, A., Hugo, C., Todorov, V. T., and Kurtz, A. (2018). COX-2-derived PGE2 triggers hyperplastic renin expression and hyperreninemia in aldosterone synthase-deficient mice. *Pflugers Arch.* 470, 1127–1137. doi: 10.1007/s00424-018-2118-z.
- Karlsson, M., Zhang, C., Méar, L., Zhong, W., Digre, A., Katona, B., et al. (2021). A single-cell type transcriptomics map of human tissues. *Sci. Adv.* 7, eabh2169. doi: 10.1126/sciadv.abh2169.
- Kasahara, K., Kawakami, Y., Kiyono, T., Yonemura, S., Kawamura, Y., Era, S., et al. (2014). Ubiquitin-proteasome system controls ciliogenesis at the initial step of axoneme extension. *Nat. Commun.* 5, 5081. doi: 10.1038/ncomms6081.
- Kato, A., and Touhara, K. (2009). Mammalian olfactory receptors: pharmacology, G protein coupling and desensitization. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 66, 3743–3753. doi: 10.1007/s00018-009-0111-6.
- Kayser, N., Zaiser, F., Veenstra, A. C., Wang, H., Göcmen, B., Eckert, P., et al. (2022). Clock genes rescue nphp mutations in zebrafish. *Hum. Mol. Genet.*, ddac160. doi: 10.1093/hmg/ddac160.
- Kechagia, J. Z., Ivaska, J., and Roca-Cusachs, P. (2019). Integrins as biomechanical sensors of the microenvironment. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 20, 457–473. doi: 10.1038/s41580-019-0134-2.
- Kellum, J. A., Romagnani, P., Ashuntantang, G., Ronco, C., Zarbock, A., and Anders, H.-J. (2021). Acute kidney injury. *Nat. Rev. Dis. Primer* 7, 52. doi: 10.1038/s41572-021-00284-z.
- Kennedy, C. R. J., Xiong, H., Rahal, S., Vanderluit, J., Slack, R. S., Zhang, Y., et al. (2007). Urine concentrating defect in prostaglandin EP1-deficient mice. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 292, F868-875. doi: 10.1152/ajprenal.00183.2005.
- Kennedy, C. R., Zhang, Y., Brandon, S., Guan, Y., Coffee, K., Funk, C. D., et al. (1999). Salt-sensitive hypertension and reduced fertility in mice lacking the prostaglandin EP2 receptor. *Nat. Med.* 5, 217–220. doi: 10.1038/5583.
- Khaminets, A., Behl, C., and Dikic, I. (2016). Ubiquitin-Dependent And Independent Signals In Selective Autophagy. *Trends Cell Biol.* 26, 6–16. doi: 10.1016/j.tcb.2015.08.010.
- Khan, S. M., Sung, J. Y., and Hébert, T. E. (2016). Gβγ subunits-Different spaces, different faces. *Pharmacol. Res.* 111, 434–441. doi: 10.1016/j.phrs.2016.06.026.
- Kiesel, P., Alvarez Viar, G., Tsoy, N., Maraschini, R., Gorilak, P., Varga, V., et al. (2020). The molecular structure of mammalian primary cilia revealed by cryo-electron tomography. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 27, 1115–1124. doi: 10.1038/s41594-020-0507-4.
- Kim, B. W., Kim, H. J., Kim, S.-H., Baik, H. J., Kang, M. S., Kim, D.-H., et al. (2021). 15-Hydroxyprostaglandin dehydrogenase inhibitor prevents contrast-induced acute kidney injury. *Ren. Fail.* 43, 168–179. doi: 10.1080/0886022X.2020.1870139.
- Kim, E. S., Shin, J. H., Park, S. J., Jo, Y. K., Kim, J.-S., Kang, I.-H., et al. (2015a). Inhibition of autophagy suppresses sertraline-mediated primary ciliogenesis in retinal pigment epithelium cells. *PLoS One* 10, e0118190. doi: 10.1371/journal.pone.0118190.

- Kim, G.-H., Choi, N. W., Jung, J.-Y., Song, J.-H., Lee, C. H., Kang, C. M., et al. (2008a). Treating lithium-induced nephrogenic diabetes insipidus with a COX-2 inhibitor improves polyuria via upregulation of AQP2 and NKCC2. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 294, F702-709. doi: 10.1152/ajprenal.00366.2007.
- Kim, J., Jo, H., Hong, H., Kim, M. H., Kim, J. M., Lee, J.-K., et al. (2015b). Actin remodelling factors control ciliogenesis by regulating YAP/TAZ activity and vesicle trafficking. *Nat. Commun.* 6, 6781. doi: 10.1038/ncomms7781.
- Kim, J., Krishnaswami, S. R., and Gleeson, J. G. (2008b). CEP290 interacts with the centriolar satellite component PCM-1 and is required for Rab8 localization to the primary cilium. *Hum. Mol. Genet.* 17, 3796–3805. doi: 10.1093/hmg/ddn277.
- Kim, J., Lee, J. E., Heynen-Genel, S., Suyama, E., Ono, K., Lee, K., et al. (2010). Functional genomic screen for modulators of ciliogenesis and cilium length. *Nature* 464, 1048–1051. doi: 10.1038/nature08895.
- Kim, S., Lee, K., Choi, J.-H., Ringstad, N., and Dynlacht, B. D. (2015c). Nek2 activation of Kif24 ensures cilium disassembly during the cell cycle. *Nat. Commun.* 6, 8087. doi: 10.1038/ncomms9087.
- Kim, Y. J., and Kim, J. (2019). Therapeutic perspectives for structural and functional abnormalities of cilia. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 76, 3695–3709. doi: 10.1007/s00018-019-03158-6.
- Kim, Y. J., Kim, S., Jung, Y., Jung, E., Kwon, H. J., and Kim, J. (2018). Epatilin rescues ciliary transition zone defects to ameliorate ciliopathy-related phenotypes. *J. Clin. Invest.* 128, 3642–3648. doi: 10.1172/JCI99232.
- Kim, Y.-S., Kang, H. S., Herbert, R., Beak, J. Y., Collins, J. B., Grissom, S. F., et al. (2008c). Kruppel-like zinc finger protein Glis2 is essential for the maintenance of normal renal functions. *Mol. Cell. Biol.* 28, 2358–2367. doi: 10.1128/MCB.01722-07.
- Kinzel, D., Boldt, K., Davis, E. E., Burtscher, I., Trümbach, D., Diplas, B., et al. (2010). Pitchfork regulates primary cilia disassembly and left-right asymmetry. *Dev. Cell* 19, 66–77. doi: 10.1016/j.devcel.2010.06.005.
- Kirkby, N. S., Chan, M. V., Zaiss, A. K., Garcia-Vaz, E., Jiao, J., Berglund, L. M., et al. (2016). Systematic study of constitutive cyclooxygenase-2 expression: Role of NF- κ B and NFAT transcriptional pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 113, 434–439. doi: 10.1073/pnas.1517642113.
- Kitahara, M., Eitner, F., Ostendorf, T., Kunter, U., Janssen, U., Westenfeld, R., et al. (2002). Selective cyclooxygenase-2 inhibition impairs glomerular capillary healing in experimental glomerulonephritis. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 13, 1261–1270. doi: 10.1681/ASN.V1351261.
- Kleta, R., and Bockenhauer, D. (2018). Salt-Losing Tubulopathies in Children: What's New, What's Controversial? *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 29, 727–739. doi: 10.1681/ASN.2017060600.
- Klussmann, E., Tamma, G., Lorenz, D., Wiesner, B., Maric, K., Hofmann, F., et al. (2001). An inhibitory role of Rho in the vasopressin-mediated translocation of aquaporin-2 into cell membranes of renal principal cells. *J. Biol. Chem.* 276, 20451–20457. doi: 10.1074/jbc.M010270200.

- Knepper, M., and Burg, M. (1983). Organization of nephron function. *Am. J. Physiol.* 244, F579-589. doi: 10.1152/ajprenal.1983.244.6.F579.
- Knödler, A., Feng, S., Zhang, J., Zhang, X., Das, A., Peränen, J., et al. (2010). Coordination of Rab8 and Rab11 in primary ciliogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 6346–6351. doi: 10.1073/pnas.1002401107.
- Kobayashi, T., and Dynlacht, B. D. (2011). Regulating the transition from centriole to basal body. *J. Cell Biol.* 193, 435–444. doi: 10.1083/jcb.201101005.
- Kobayashi, T., Ishida, Y., Hirano, T., Katoh, Y., and Nakayama, K. (2021). Cooperation of the IFT-A complex with the IFT-B complex is required for ciliary retrograde protein trafficking and GPCR import. *Mol. Biol. Cell* 32, 45–56. doi: 10.1091/mbc.E20-08-0556.
- Kobayashi, T., Kim, S., Lin, Y.-C., Inoue, T., and Dynlacht, B. D. (2014). The CP110-interacting proteins Talpid3 and Cep290 play overlapping and distinct roles in cilia assembly. *J. Cell Biol.* 204, 215–229. doi: 10.1083/jcb.201304153.
- Kobayashi, T., Tsang, W. Y., Li, J., Lane, W., and Dynlacht, B. D. (2011). Centriolar kinesin Kif24 interacts with CP110 to remodel microtubules and regulate ciliogenesis. *Cell* 145, 914–925. doi: 10.1016/j.cell.2011.04.028.
- Kobori, H., Harrison-Bernard, L. M., and Navar, L. G. (2001). Expression of angiotensinogen mRNA and protein in angiotensin II-dependent hypertension. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 12, 431–439. doi: 10.1681/ASN.V123431.
- Kolodsick, J. E., Peters-Golden, M., Larios, J., Toews, G. B., Thannickal, V. J., and Moore, B. B. (2003). Prostaglandin E2 inhibits fibroblast to myofibroblast transition via E. prostanoid receptor 2 signaling and cyclic adenosine monophosphate elevation. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 29, 537–544. doi: 10.1165/rcmb.2002-0243OC.
- Kömhoff, M., Grone, H. J., Klein, T., Seyberth, H. W., and Nüsing, R. M. (1997). Localization of cyclooxygenase-1 and -2 in adult and fetal human kidney: implication for renal function. *Am. J. Physiol.* 272, F460-468. doi: 10.1152/ajprenal.1997.272.4.F460.
- König, J. C., Karsay, R., Gerß, J., Schlingmann, K.-P., Dahmer-Heath, M., Telgmann, A.-K., et al. (2022). Refining Kidney Survival in 383 Genetically Characterized Patients With Nephronophthisis. *Kidney Int. Rep.* doi: 10.1016/j.ekir.2022.05.035.
- König, J., Kranz, B., König, S., Schlingmann, K. P., Titieni, A., Tönshoff, B., et al. (2017). Phenotypic Spectrum of Children with Nephronophthisis and Related Ciliopathies. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol. CJASN* 12, 1974–1983. doi: 10.2215/CJN.01280217.
- Konrad, M., Saunier, S., Heidet, L., Silbermann, F., Benessy, F., Calado, J., et al. (1996). Large homozygous deletions of the 2q13 region are a major cause of juvenile nephronophthisis. *Hum. Mol. Genet.* 5, 367–371. doi: 10.1093/hmg/5.3.367.
- Konya, V., Marsche, G., Schuligoi, R., and Heinemann, A. (2013). E-type prostanoid receptor 4 (EP4) in disease and therapy. *Pharmacol. Ther.* 138, 485–502. doi: 10.1016/j.pharmthera.2013.03.006.
- Kotani, M., Tanaka, I., Ogawa, Y., Usui, T., Mori, K., Ichikawa, A., et al. (1995). Molecular cloning and expression of multiple isoforms of human prostaglandin E receptor EP3 subtype generated by alternative messenger RNA splicing: multiple second messenger systems and tissue-specific distributions. *Mol. Pharmacol.* 48, 869–879.

- Kotani, M., Tanaka, I., Ogawa, Y., Usui, T., Tamura, N., Mori, K., et al. (1997). Structural organization of the human prostaglandin EP3 receptor subtype gene (PTGER3). *Genomics* 40, 425–434. doi: 10.1006/geno.1996.4585.
- Koyano, S., Ito, M., Takamatsu, N., Shiba, T., Yamamoto, K., and Yoshioka, K. (1999). A novel Jun N-terminal kinase (JNK)-binding protein that enhances the activation of JNK by MEK kinase 1 and TGF-beta-activated kinase 1. *FEBS Lett.* 457, 385–388. doi: 10.1016/s0014-5793(99)01084-4.
- Kruczek, K., Qu, Z., Welby, E., Shimada, H., Hiriyan, S., English, M. A., et al. (2022). In vitro modeling and rescue of ciliopathy associated with IQCB1/NPHP5 mutations using patient-derived cells. *Stem Cell Rep.*, S2213-6711(22)00415–5. doi: 10.1016/j.stemcr.2022.08.006.
- Kuhns, S., Schmidt, K. N., Reymann, J., Gilbert, D. F., Neuner, A., Hub, B., et al. (2013). The microtubule affinity regulating kinase MARK4 promotes axoneme extension during early ciliogenesis. *J. Cell Biol.* 200, 505–522. doi: 10.1083/jcb.201206013.
- Kuraoka, S., Tanigawa, S., Taguchi, A., Hotta, A., Nakazato, H., Osafune, K., et al. (2020). PKD1-Dependent Renal Cystogenesis in Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Ureteric Bud/Collecting Duct Organoids. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 31, 2355–2371. doi: 10.1681/ASN.2020030378.
- Kvirkvelia, N., McMenamin, M., Chaudhary, K., Bartoli, M., and Madaio, M. P. (2013). Prostaglandin E2 promotes cellular recovery from established nephrotoxic serum nephritis in mice, pro-survival, and regenerative effects on glomerular cells. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 304, F463–470. doi: 10.1152/ajprenal.00575.2012.
- Lake, A. V. R., Smith, C. E. L., Natarajan, S., Basu, B., Best, S. K., Stevenson, T., et al. (2020). Drug and siRNA screens identify ROCK2 as a therapeutic target for ciliopathies. 2020.11.26.393801. doi: 10.1101/2020.11.26.393801.
- Lake, B. B., Chen, S., Hoshi, M., Plongthongkum, N., Salamon, D., Knoten, A., et al. (2019). A single-nucleus RNA-sequencing pipeline to decipher the molecular anatomy and pathophysiology of human kidneys. *Nat. Commun.* 10, 2832. doi: 10.1038/s41467-019-10861-2.
- Lancaster, M. A., Louie, C. M., Silhavy, J. L., Sintasath, L., Decambre, M., Nigam, S. K., et al. (2009). Impaired Wnt-beta-catenin signaling disrupts adult renal homeostasis and leads to cystic kidney ciliopathy. *Nat. Med.* 15, 1046–1054. doi: 10.1038/nm.2010.
- Langenbach, R., Morham, S. G., Tian, H. F., Loftin, C. D., Ghanayem, B. I., Chulada, P. C., et al. (1995). Prostaglandin synthase 1 gene disruption in mice reduces arachidonic acid-induced inflammation and indomethacin-induced gastric ulceration. *Cell* 83, 483–492. doi: 10.1016/0092-8674(95)90126-4.
- Lannoy, M., Valluru, M. K., Chang, L., Abdela-Ali, F., Peters, D. J. M., Streets, A. J., et al. (2020). The positive effect of selective prostaglandin E2 receptor EP2 and EP4 blockade on cystogenesis in vitro is counteracted by increased kidney inflammation in vivo. *Kidney Int.* 98, 404–419. doi: 10.1016/j.kint.2020.02.012.
- Lara, L. S., Bourgeois, C. R. T., El-Dahr, S. S., and Prieto, M. C. (2017). Bradykinin/B2 receptor activation regulates renin in M-1 cells via protein kinase C and nitric oxide. *Physiol. Rep.* 5, e13211. doi: 10.14814/phy2.13211.

- Larsen, C. P., Bonsib, S. M., Beggs, M. L., and Wilson, J. D. (2018). Fluorescence in situ hybridization for the diagnosis of NPHP1 deletion-related nephronophthisis on renal biopsy. *Hum. Pathol.* 81, 71–77. doi: 10.1016/j.humpath.2018.06.021.
- Latta, H., Maunsbach, A. B., and Madden, S. C. (1961). Cilia in different segments of the rat nephron. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 11, 248–252. doi: 10.1083/jcb.11.1.248.
- Lechtreck, K. F. (2015). IFT-Cargo Interactions and Protein Transport in Cilia. *Trends Biochem. Sci.* 40, 765–778. doi: 10.1016/j.tibs.2015.09.003.
- Leduc, M., Breton, B., Galés, C., Le Gouill, C., Bouvier, M., Chemtob, S., et al. (2009). Functional selectivity of natural and synthetic prostaglandin EP4 receptor ligands. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 331, 297–307. doi: 10.1124/jpet.109.156398.
- Lee, K., Lee, S. H., and Kim, T. H. (2020). The Biology of Prostaglandins and Their Role as a Target for Allergic Airway Disease Therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 21, E1851. doi: 10.3390/ijms21051851.
- Legler, D. F., Bruckner, M., Uetz-von Allmen, E., and Krause, P. (2010). Prostaglandin E2 at new glance: novel insights in functional diversity offer therapeutic chances. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 42, 198–201. doi: 10.1016/j.biocel.2009.09.015.
- Legler, D. F., Krause, P., Scandella, E., Singer, E., and Groettrup, M. (2006). Prostaglandin E2 is generally required for human dendritic cell migration and exerts its effect via EP2 and EP4 receptors. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 176, 966–973. doi: 10.4049/jimmunol.176.2.966.
- Leitch, C. C., Zaghoul, N. A., Davis, E. E., Stoetzel, C., Diaz-Font, A., Rix, S., et al. (2008). Hypomorphic mutations in syndromic encephalocele genes are associated with Bardet-Biedl syndrome. *Nat. Genet.* 40, 443–448. doi: 10.1038/ng.97.
- Lemos, D. R., McMurdo, M., Karaca, G., Wilflingseder, J., Leaf, I. A., Gupta, N., et al. (2018). Interleukin-1 β Activates a MYC-Dependent Metabolic Switch in Kidney Stromal Cells Necessary for Progressive Tubulointerstitial Fibrosis. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 29, 1690–1705. doi: 10.1681/ASN.2017121283.
- Levy, M., and Feingold, J. (2000). Estimating prevalence in single-gene kidney diseases progressing to renal failure. *Kidney Int.* 58, 925–943. doi: 10.1046/j.1523-1755.2000.00250.x.
- Lewis, A. B., Freed, M. D., Heymann, M. A., Roehl, S. L., and Kensey, R. C. (1981). Side effects of therapy with prostaglandin E1 in infants with critical congenital heart disease. *Circulation* 64, 893–898. doi: 10.1161/01.cir.64.5.893.
- Li, C., Jensen, V. L., Park, K., Kennedy, J., Garcia-Gonzalo, F. R., Romani, M., et al. (2016). MKS5 and CEP290 Dependent Assembly Pathway of the Ciliary Transition Zone. *PLoS Biol.* 14, e1002416. doi: 10.1371/journal.pbio.1002416.
- Li, D., Hu, M., Chen, H., Wu, X., Wei, X., Lin, H., et al. (2021a). An Nphp1 knockout mouse model targeting exon 2-20 demonstrates characteristic phenotypes of human nephronophthisis. *Hum. Mol. Genet.* 31, 232–243. doi: 10.1093/hmg/ddab239.
- Li, J. H., Chou, C.-L., Li, B., Gavrilova, O., Eisner, C., Schnermann, J., et al. (2009). A selective EP4 PGE2 receptor agonist alleviates disease in a new mouse model of X-linked nephrogenic diabetes insipidus. *J. Clin. Invest.* 119, 3115–3126. doi: 10.1172/JCI39680.
- Li, M., Thompson, D. D., and Paralkar, V. M. (2007). Prostaglandin E(2) receptors in bone formation. *Int. Orthop.* 31, 767–772. doi: 10.1007/s00264-007-0406-x.

- Li, W., Jin, D., and Zhong, T. P. (2019). Photoreceptor cell development requires prostaglandin signaling in the zebrafish retina. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 510, 230–235. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.01.073.
- Li, Y.-H., Zhu, D., Cao, Z., Liu, Y., Sun, J., and Tan, L. (2020). Primary cilia respond to intermittent low-magnitude, high-frequency vibration and mediate vibration-induced effects in osteoblasts. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 318, C73–C82. doi: 10.1152/ajpcell.00273.2019.
- Li, Y.-H., Zhu, D., Yang, T., Cheng, L., Sun, J., and Tan, L. (2021b). Crosstalk between the COX2-PGE2-EP4 signaling pathway and primary cilia in osteoblasts after mechanical stimulation. *J. Cell. Physiol.* 236, 4764–4777. doi: 10.1002/jcp.30198.
- Li, Z.-C., Cai, Y.-Z., Tang, Z.-G., Zuo, P.-L., Liu, R.-B., and Liu, F. (2018). Lipo-prostaglandin E1 improves renal hypoxia evaluated by BOLD-MRI in patients with diabetic kidney disease. *Clin. Imaging* 50, 239–242. doi: 10.1016/j.clinimag.2018.04.015.
- Liem, K. F., Ashe, A., He, M., Satir, P., Moran, J., Beier, D., et al. (2012). The IFT-A complex regulates Shh signaling through cilia structure and membrane protein trafficking. *J. Cell Biol.* 197, 789–800. doi: 10.1083/jcb.201110049.
- Lima, I. V. de A., Bastos, L. F. S., Limborço-Filho, M., Fiebich, B. L., and de Oliveira, A. C. P. (2012). Role of prostaglandins in neuroinflammatory and neurodegenerative diseases. *Mediators Inflamm.* 2012, 946813. doi: 10.1155/2012/946813.
- Lin, C.-R., Amaya, F., Barrett, L., Wang, H., Takada, J., Samad, T. A., et al. (2006). Prostaglandin E2 receptor EP4 contributes to inflammatory pain hypersensitivity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 319, 1096–1103. doi: 10.1124/jpet.106.105569.
- Lin, F., Hiesberger, T., Cordes, K., Sinclair, A. M., Goldstein, L. S. B., Somlo, S., et al. (2003). Kidney-specific inactivation of the KIF3A subunit of kinesin-II inhibits renal ciliogenesis and produces polycystic kidney disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 5286–5291. doi: 10.1073/pnas.0836980100.
- Lindgren, D., Sjölund, J., and Axelson, H. (2018). Tracing Renal Cell Carcinomas back to the Nephron. *Trends Cancer* 4, 472–484. doi: 10.1016/j.trecan.2018.05.003.
- Lindstrand, A., Davis, E. E., Carvalho, C. M. B., Pehlivan, D., Willer, J. R., Tsai, I.-C., et al. (2014). Recurrent CNVs and SNVs at the NPHP1 locus contribute pathogenic alleles to Bardet-Biedl syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 94, 745–754. doi: 10.1016/j.ajhg.2014.03.017.
- Linnet, O. I., and Ogrinc, F. G. (1996). Efficacy and safety of intracavernosal alprostadil in men with erectile dysfunction. The Alprostadil Study Group. *N. Engl. J. Med.* 334, 873–877. doi: 10.1056/NEJM199604043341401.
- Lisowska, B., Kosson, D., and Domaracka, K. (2018). Lights and shadows of NSAIDs in bone healing: the role of prostaglandins in bone metabolism. *Drug Des. Devel. Ther.* 12, 1753–1758. doi: 10.2147/DDDT.S164562.
- Liu, J., Zhang, Y., Chen, X.-L., Zhu, X.-L., Chen, X., Wu, J.-H., et al. (2018a). The protective effect of the EP2 receptor on TGF- β 1 induced podocyte injury via the PI3K / Akt signaling pathway. *PLoS One* 13, e0197158. doi: 10.1371/journal.pone.0197158.
- Liu, M., Zhang, W., Li, M., Feng, J., Kuang, W., Chen, X., et al. (2021). NudCL2 is an autophagy receptor that mediates selective autophagic degradation of CP110 at mother centrioles to promote ciliogenesis. *Cell Res.* 31, 1199–1211. doi: 10.1038/s41422-021-00560-3.

- Liu, S., Lu, W., Obara, T., Kuida, S., Lehoczky, J., Dewar, K., et al. (2002). A defect in a novel Nek-family kinase causes cystic kidney disease in the mouse and in zebrafish. *Dev. Camb. Engl.* 129, 5839–5846. doi: 10.1242/dev.00173.
- Liu, W., Liu, S., Li, P., and Yao, K. (2022). Retinitis Pigmentosa: Progress in Molecular Pathology and Biotherapeutic Strategies. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 4883. doi: 10.3390/ijms23094883.
- Liu, W., Murcia, N. S., Duan, Y., Weinbaum, S., Yoder, B. K., Schwiebert, E., et al. (2005). Mechanoregulation of intracellular Ca²⁺ concentration is attenuated in collecting duct of monocilia-impaired orpk mice. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 289, F978–988. doi: 10.1152/ajprenal.00260.2004.
- Liu, Z.-Q., Lee, J. N., Son, M., Lim, J.-Y., Dutta, R. K., Maharjan, Y., et al. (2018b). Ciliogenesis is reciprocally regulated by PPARA and NR1H4/FXR through controlling autophagy in vitro and in vivo. *Autophagy* 14, 1011–1027. doi: 10.1080/15548627.2018.1448326.
- Lim, S., Wang, W., Ba, A., Ts, P., Dts, J., and Pvs, T. (2019). Analysis of primary cilia in renal tissue and cells. *Methods Cell Biol.* 153. doi: 10.1016/bs.mcb.2019.04.008.
- Louet, J.-F., Hayhurst, G., Gonzalez, F. J., Girard, J., and Decaux, J.-F. (2002). The coactivator PGC-1 is involved in the regulation of the liver carnitine palmitoyltransferase I gene expression by cAMP in combination with HNF4 alpha and cAMP-response element-binding protein (CREB). *J. Biol. Chem.* 277, 37991–38000. doi: 10.1074/jbc.M205087200.
- Louie, C. M., Caridi, G., Lopes, V. S., Brancati, F., Kispert, A., Lancaster, M. A., et al. (2010). AHI1 is required for photoreceptor outer segment development and is a modifier for retinal degeneration in nephronophthisis. *Nat. Genet.* 42, 175–180. doi: 10.1038/ng.519.
- Low, J. H., Li, P., Chew, E. G. Y., Zhou, B., Suzuki, K., Zhang, T., et al. (2019). Generation of Human PSC-Derived Kidney Organoids with Patterned Nephron Segments and a De Novo Vascular Network. *Cell Stem Cell* 25, 373–387.e9. doi: 10.1016/j.stem.2019.06.009.
- Lu, Q., Insinna, C., Ott, C., Stauffer, J., Pintado, P. A., Rahajeng, J., et al. (2015). Early steps in primary cilium assembly require EHD1/EHD3-dependent ciliary vesicle formation. *Nat. Cell Biol.* 17, 228–240. doi: 10.1038/ncb3109.
- Łukasik, P., Załuski, M., and Gutowska, I. (2021). Cyclin-Dependent Kinases (CDK) and Their Role in Diseases Development-Review. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 2935. doi: 10.3390/ijms22062935.
- Luo, R., Kakizoe, Y., Wang, F., Fan, X., Hu, S., Yang, T., et al. (2017). Deficiency of mPGES-1 exacerbates renal fibrosis and inflammation in mice with unilateral ureteral obstruction. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 312, F121–F133. doi: 10.1152/ajprenal.00231.2016.
- Luschnig-Schratl, P., Sturm, E. M., Konya, V., Philipose, S., Marsche, G., Fröhlich, E., et al. (2011). EP4 receptor stimulation down-regulates human eosinophil function. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 68, 3573–3587. doi: 10.1007/s00018-011-0642-5.
- Lv, S., Qiu, X., Li, J., Liang, J., Li, W., Zhang, C., et al. (2017). Glucagon-induced extracellular cAMP regulates hepatic lipid metabolism. *J. Endocrinol.* 234, 73–87. doi: 10.1530/JOE-16-0649.
- Lx, L., Jx, Z., X, W., H, Z., Pc, H., Jp, C., et al. (2020). Cross-talk between CDK4/6 and SMYD2 regulates gene transcription, tubulin methylation, and ciliogenesis. *Sci. Adv.* 6. doi: 10.1126/sciadv.abb3154.

- Ma, L.-J., and Fogo, A. B. (2003). Model of robust induction of glomerulosclerosis in mice: importance of genetic background. *Kidney Int.* 64, 350–355. doi: 10.1046/j.1523-1755.2003.00058.x.
- Ma, M., Tian, X., Igarashi, P., Pazour, G. J., and Somlo, S. (2013). Loss of cilia suppresses cyst growth in genetic models of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nat. Genet.* 45, 1004–1012. doi: 10.1038/ng.2715.
- Ma, Y., Hong, F.-F., and Yang, S.-L. (2021). Role of prostaglandins in rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Rheumatol.* 39, 162–172.
- Mabuchi, T., Kojima, H., Abe, T., Takagi, K., Sakurai, M., Ohmiya, Y., et al. (2004). Membrane-associated prostaglandin E synthase-1 is required for neuropathic pain. *Neuroreport* 15, 1395–1398. doi: 10.1097/01.wnr.0000129372.89000.31.
- Macia, M. S., Halbritter, J., Delous, M., Bredrup, C., Gutter, A., Filhol, E., et al. (2017). Mutations in MAPKBP1 Cause Juvenile or Late-Onset Cilia-Independent Nephronophthisis. *Am. J. Hum. Genet.* 100, 323–333. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.12.011.
- Majed, B. H., and Khalil, R. A. (2012). Molecular mechanisms regulating the vascular prostacyclin pathways and their adaptation during pregnancy and in the newborn. *Pharmacol. Rev.* 64, 540–582. doi: 10.1124/pr.111.004770.
- Makino, H., Tanaka, I., Mukoyama, M., Sugawara, A., Mori, K., Muro, S., et al. (2002). Prevention of diabetic nephropathy in rats by prostaglandin E receptor EP1-selective antagonist. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 13, 1757–1765. doi: 10.1097/01.asn.0000019782.37851.bf.
- Malicki, J. J., and Johnson, C. A. (2017). The Cilium: Cellular Antenna and Central Processing Unit. *Trends Cell Biol.* 27, 126–140. doi: 10.1016/j.tcb.2016.08.002.
- Mamenko, M., Zaika, O., Ilatovskaya, D. V., Staruschenko, A., and Pochynyuk, O. (2012). Angiotensin II increases activity of the epithelial Na⁺ channel (ENaC) in distal nephron additively to aldosterone. *J. Biol. Chem.* 287, 660–671. doi: 10.1074/jbc.M111.298919.
- Mann, B., Hartner, A., Jensen, B. L., Kammerl, M., Krämer, B. K., and Kurtz, A. (2001). Furosemide stimulates macula densa cyclooxygenase-2 expression in rats. *Kidney Int.* 59, 62–68. doi: 10.1046/j.1523-1755.2001.00466.x.
- Manning, D. K., Sergeev, M., van Heesbeen, R. G., Wong, M. D., Oh, J.-H., Liu, Y., et al. (2013). Loss of the ciliary kinase Nek8 causes left-right asymmetry defects. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 24, 100–112. doi: 10.1681/ASN.2012050490.
- Marinissen, M. J., and Gutkind, J. S. (2001). G-protein-coupled receptors and signaling networks: emerging paradigms. *Trends Pharmacol. Sci.* 22, 368–376. doi: 10.1016/s0165-6147(00)01678-3.
- Marion, V., Schlicht, D., Mockel, A., Caillard, S., Imhoff, O., Stoetzel, C., et al. (2011). Bardet-Biedl syndrome highlights the major role of the primary cilium in efficient water reabsorption. *Kidney Int.* 79, 1013–1025. doi: 10.1038/ki.2010.538.
- Markovič, T., Jakopin, Ž., Dolenc, M. S., and Mlinarič-Raščan, I. (2017). Structural features of subtype-selective EP receptor modulators. *Drug Discov. Today* 22, 57–71. doi: 10.1016/j.drudis.2016.08.003.
- Marra, A. N., Adeeb, B. D., Chambers, B. E., Drummond, B. E., Ulrich, M., Addiego, A., et al.

- (2019). Prostaglandin signaling regulates renal multiciliated cell specification and maturation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 116, 8409–8418. doi: 10.1073/pnas.1813492116.
- Martínez-Klimova, E., Aparicio-Trejo, O. E., Tapia, E., and Pedraza-Chaverri, J. (2019). Unilateral Ureteral Obstruction as a Model to Investigate Fibrosis-Attenuating Treatments. *Biomolecules* 9, E141. doi: 10.3390/biom9040141.
- Maskey, D., Marlin, M. C., Kim, S., Kim, S., Ong, E.-C., Li, G., et al. (2015). Cell cycle-dependent ubiquitylation and destruction of NDE1 by CDK5-FBW7 regulates ciliary length. *EMBO J.* 34, 2424–2440. doi: 10.15252/embj.201490831.
- Masyuk, A. I., Masyuk, T. V., Splinter, P. L., Huang, B. Q., Stroope, A. J., and LaRusso, N. F. (2006). Cholangiocyte cilia detect changes in luminal fluid flow and transmit them into intracellular Ca²⁺ and cAMP signaling. *Gastroenterology* 131, 911–920. doi: 10.1053/j.gastro.2006.07.003.
- May-Simera, H. L., Wan, Q., Jha, B. S., Hartford, J., Khristov, V., Dejene, R., et al. (2018). Primary Cilium-Mediated Retinal Pigment Epithelium Maturation Is Disrupted in Ciliopathy Patient Cells. *Cell Rep.* 22, 189–205. doi: 10.1016/j.celrep.2017.12.038.
- Mc Fie, M., Koneva, L., Collins, I., Coveney, C. R., Clube, A. M., Chanalaris, A., et al. (2020). Ciliary proteins specify the cell inflammatory response by tuning NFκB signalling, independently of primary cilia. *J. Cell Sci.* 133, jcs239871. doi: 10.1242/jcs.239871.
- Menezes, L. F., Lin, C.-C., Zhou, F., and Germino, G. G. (2016). Fatty Acid Oxidation is Impaired in An Orthologous Mouse Model of Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *EBioMedicine* 5, 183–192. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.01.027.
- Meng, X.-M., Tang, P. M.-K., Li, J., and Lan, H. Y. (2015). TGF-β/Smad signaling in renal fibrosis. *Front. Physiol.* 6, 82. doi: 10.3389/fphys.2015.00082.
- Menotti-Raymond, M., David, V. A., Schäffer, A. A., Stephens, R., Wells, D., Kumar-Singh, R., et al. (2007). Mutation in CEP290 discovered for cat model of human retinal degeneration. *J. Hered.* 98, 211–220. doi: 10.1093/jhered/esm019.
- Miceli, C., Roccio, F., Penalva-Mousset, L., Burtin, M., Leroy, C., Nemazanyy, I., et al. (2020). The primary cilium and lipophagy translate mechanical forces to direct metabolic adaptation of kidney epithelial cells. *Nat. Cell Biol.* 22, 1091–1102. doi: 10.1038/s41556-020-0566-0.
- Mick, D. U., Rodrigues, R. B., Leib, R. D., Adams, C. M., Chien, A. S., Gygi, S. P., et al. (2015). Proteomics of Primary Cilia by Proximity Labeling. *Dev. Cell* 35, 497–512. doi: 10.1016/j.devcel.2015.10.015.
- Miguel, V., Ramos, R., García-Bermejo, L., Rodríguez-Puyol, D., and Lamas, S. (2021a). The program of renal fibrogenesis is controlled by microRNAs regulating oxidative metabolism. *Redox Biol.* 40, 101851. doi: 10.1016/j.redox.2020.101851.
- Miguel, V., Tituaña, J., Herrero, J. I., Herrero, L., Serra, D., Cuevas, P., et al. (2021b). Renal tubule Cpt1a overexpression protects from kidney fibrosis by restoring mitochondrial homeostasis. *J. Clin. Invest.* 131, 140695. doi: 10.1172/JCI140695.
- Mijalkovic, J., van Krugten, J., Oswald, F., Acar, S., and Peterman, E. J. G. (2018). Single-Molecule Turnarounds of Intraflagellar Transport at the *C. elegans* Ciliary Tip. *Cell Rep.* 25, 1701-1707.e2. doi: 10.1016/j.celrep.2018.10.050.
- Miller, S. B. (2006). Prostaglandins in health and disease: an overview. *Semin. Arthritis*

- Rheum.* 36, 37–49. doi: 10.1016/j.semarthrit.2006.03.005.
- Mitchell, J. A., and Kirkby, N. S. (2019). Eicosanoids, prostacyclin and cyclooxygenase in the cardiovascular system. *Br. J. Pharmacol.* 176, 1038–1050. doi: 10.1111/bph.14167.
- Miyamoto, T., Hosoba, K., Ochiai, H., Royba, E., Izumi, H., Sakuma, T., et al. (2015). The Microtubule-Depolymerizing Activity of a Mitotic Kinesin Protein KIF2A Drives Primary Cilia Disassembly Coupled with Cell Proliferation. *Cell Rep.* 10, 664–673. doi: 10.1016/j.celrep.2015.01.003.
- Mizukami, K., Yoshida, H., Nozawa, E., Wada, K., and Ugawa, T. (2019). Renoprotective effects of the novel prostaglandin EP4 receptor-selective antagonist ASP7657 in 5/6 nephrectomized chronic kidney disease rats. *Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 392, 451–459. doi: 10.1007/s00210-018-01600-3.
- Mochizuki, T., Wu, G., Hayashi, T., Xenophontos, S. L., Veldhuisen, B., Saris, J. J., et al. (1996). PKD2, a gene for polycystic kidney disease that encodes an integral membrane protein. *Science* 272, 1339–1342. doi: 10.1126/science.272.5266.1339.
- Mohamed, R., Jayakumar, C., and Ramesh, G. (2013). Chronic administration of EP4-selective agonist exacerbates albuminuria and fibrosis of the kidney in streptozotocin-induced diabetic mice through IL-6. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* 93, 933–945. doi: 10.1038/labinvest.2013.85.
- Mohammed, S. G., Arjona, F. J., Verschuren, E. H. J., Bakey, Z., Alkema, W., van Hijum, S., et al. (2018). Primary cilia-regulated transcriptome in the renal collecting duct. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 32, 3653–3668. doi: 10.1096/fj.201701228R.
- Molinari, E., Ramsbottom, S. A., Srivastava, S., Booth, P., Alkanderi, S., McLafferty, S. M., et al. (2019). Targeted exon skipping rescues ciliary protein composition defects in Joubert syndrome patient fibroblasts. *Sci. Rep.* 9, 10828. doi: 10.1038/s41598-019-47243-z.
- Molinari, E., and Sayer, J. A. (2020). Disease Modeling To Understand the Pathomechanisms of Human Genetic Kidney Disorders. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol. CJASN* 15, 855–872. doi: 10.2215/CJN.08890719.
- Molinari, E., Srivastava, S., Dewhurst, R. M., and Sayer, J. A. (2020). Use of patient derived urine renal epithelial cells to confirm pathogenicity of PKHD1 alleles. *BMC Nephrol.* 21, 435. doi: 10.1186/s12882-020-02094-z.
- Mollet, G., Salomon, R., Gribouval, O., Silbermann, F., Bacq, D., Landthaler, G., et al. (2002). The gene mutated in juvenile nephronophthisis type 4 encodes a novel protein that interacts with nephrocystin. *Nat. Genet.* 32, 300–305. doi: 10.1038/ng996.
- Mollet, G., Silbermann, F., Delous, M., Salomon, R., Antignac, C., and Saunier, S. (2005). Characterization of the nephrocystin/nephrocystin-4 complex and subcellular localization of nephrocystin-4 to primary cilia and centrosomes. *Hum. Mol. Genet.* 14, 645–656. doi: 10.1093/hmg/ddi061.
- Morath, R., Klein, T., Seyberth, H. W., and Nüsing, R. M. (1999). Immunolocalization of the four prostaglandin E2 receptor proteins EP1, EP2, EP3, and EP4 in human kidney. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 10, 1851–1860. doi: 10.1681/ASN.V1091851.
- Morham, S. G., Langenbach, R., Loftin, C. D., Tiano, H. F., Vouloumanos, N., Jennette, J. C., et al. (1995). Prostaglandin synthase 2 gene disruption causes severe renal pathology in the

- mouse. *Cell* 83, 473–482. doi: 10.1016/0092-8674(95)90125-6.
- Mukhopadhyay, S., Badgandi, H. B., Hwang, S.-H., Somatilaka, B., Shimada, I. S., and Pal, K. (2017). Trafficking to the primary cilium membrane. *Mol. Biol. Cell* 28, 233–239. doi: 10.1091/mbc.E16-07-0505.
- Mukhopadhyay, S., Wen, X., Chih, B., Nelson, C. D., Lane, W. S., Scales, S. J., et al. (2010). TULP3 bridges the IFT-A complex and membrane phosphoinositides to promote trafficking of G protein-coupled receptors into primary cilia. *Genes Dev.* 24, 2180–2193. doi: 10.1101/gad.1966210.
- Mukhopadhyay, S., Wen, X., Ratti, N., Loktev, A., Rangell, L., Scales, S. J., et al. (2013). The ciliary G-protein-coupled receptor Gpr161 negatively regulates the Sonic hedgehog pathway via cAMP signaling. *Cell* 152, 210–223. doi: 10.1016/j.cell.2012.12.026.
- Murakami, M., Naraba, H., Tanioka, T., Semmyo, N., Nakatani, Y., Kojima, F., et al. (2000). Regulation of prostaglandin E2 biosynthesis by inducible membrane-associated prostaglandin E2 synthase that acts in concert with cyclooxygenase-2. *J. Biol. Chem.* 275, 32783–32792. doi: 10.1074/jbc.M003505200.
- Musgrave, A., de Wildt, P., van Etten, I., Pijst, H., Scholma, C., Kooyman, R., et al. (1986). Evidence for a functional membrane barrier in the transition zone between the flagellum and cell body of *Chlamydomonas eugametos* gametes. *Planta* 167, 544–553. doi: 10.1007/BF00391231.
- Mutsaers, H. A. M., and Nørregaard, R. (2022). Prostaglandin E2 receptors as therapeutic targets in renal fibrosis. *Kidney Res. Clin. Pract.* 41, 4–13. doi: 10.23876/j.krcp.21.222.
- Mykytyn, K., and Askwith, C. (2017). G-Protein-Coupled Receptor Signaling in Cilia. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 9, a028183. doi: 10.1101/cshperspect.a028183.
- Nachury, M. V., Loktev, A. V., Zhang, Q., Westlake, C. J., Peränen, J., Merdes, A., et al. (2007). A core complex of BBS proteins cooperates with the GTPase Rab8 to promote ciliary membrane biogenesis. *Cell* 129, 1201–1213. doi: 10.1016/j.cell.2007.03.053.
- Nachury, M. V., and Mick, D. U. (2019). Establishing and regulating the composition of cilia for signal transduction. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 20, 389–405. doi: 10.1038/s41580-019-0116-4.
- Nagai, T., and Mizuno, K. (2017). Jasplakinolide induces primary cilium formation through cell rounding and YAP inactivation. *PLoS One* 12, e0183030. doi: 10.1371/journal.pone.0183030.
- Nagamatsu, T., Imai, H., Yokoi, M., Nishiyama, T., Hirasawa, Y., Nagao, T., et al. (2006). Protective effect of prostaglandin EP4-receptor agonist on anti-glomerular basement membrane antibody-associated nephritis. *J. Pharmacol. Sci.* 102, 182–188. doi: 10.1254/jphs.fp0060401.
- Nager, A. R., Goldstein, J. S., Herranz-Pérez, V., Portran, D., Ye, F., Garcia-Verdugo, J. M., et al. (2017). An Actin Network Dispatches Ciliary GPCRs into Extracellular Vesicles to Modulate Signaling. *Cell* 168, 252–263.e14. doi: 10.1016/j.cell.2016.11.036.
- Nakagawa, N., Yuhki, K., Kawabe, J., Fujino, T., Takahata, O., Kabara, M., et al. (2012). The intrinsic prostaglandin E2-EP4 system of the renal tubular epithelium limits the development of tubulointerstitial fibrosis in mice. *Kidney Int.* 82, 158–171. doi: 10.1038/ki.2012.115.

- Nakamura, Y., Nakanishi, T., and Tamai, I. (2018). Membrane Transporters Contributing to PGE2 Distribution in Central Nervous System. *Biol. Pharm. Bull.* 41, 1337–1347. doi: 10.1248/bpb.b18-00169.
- Nakase, H., Fujiyama, Y., Oshitani, N., Oga, T., Nonomura, K., Matsuoka, T., et al. (2010). Effect of EP4 agonist (ONO-4819CD) for patients with mild to moderate ulcerative colitis refractory to 5-aminosalicylates: a randomized phase II, placebo-controlled trial. *Inflamm. Bowel Dis.* 16, 731–733. doi: 10.1002/ibd.21080.
- Nakayama, Y., Nonoguchi, H., Kiyama, S., Kohda, Y., Inoue, T., and Tomita, K. (2005). Long-term renoprotective effect of combination therapy with prostaglandin E1 and angiotensin-converting enzyme inhibitor in patients with chronic renal failure. *Hypertens. Res. Off. J. Jpn. Soc. Hypertens.* 28, 733–739. doi: 10.1291/hypres.28.733.
- Nakayama, Y., Omote, K., Kawamata, T., and Namiki, A. (2004). Role of prostaglandin receptor subtype EP1 in prostaglandin E2-induced nociceptive transmission in the rat spinal dorsal horn. *Brain Res.* 1010, 62–68. doi: 10.1016/j.brainres.2004.03.002.
- Nandadasa, S., Kraft, C. M., Wang, L. W., O'Donnell, A., Patel, R., Gee, H. Y., et al. (2019). Secreted metalloproteases ADAMTS9 and ADAMTS20 have a non-canonical role in ciliary vesicle growth during ciliogenesis. *Nat. Commun.* 10, 953. doi: 10.1038/s41467-019-08520-7.
- Nasrallah, R., Hassouneh, R., Zimpelmann, J., Karam, A. J., Thibodeau, J.-F., Burger, D., et al. (2015). Prostaglandin E2 increases proximal tubule fluid reabsorption, and modulates cultured proximal tubule cell responses via EP1 and EP4 receptors. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* 95, 1044–1055. doi: 10.1038/labinvest.2015.79.
- Nasrallah, R., Zimpelmann, J., Eckert, D., Ghossein, J., Geddes, S., Beique, J.-C., et al. (2018). PGE2 EP1 receptor inhibits vasopressin-dependent water reabsorption and sodium transport in mouse collecting duct. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* 98, 360–370. doi: 10.1038/labinvest.2017.133.
- Nasrallah, R., Zimpelmann, J., Robertson, S. J., Ghossein, J., Thibodeau, J.-F., Kennedy, C. R. J., et al. (2020). Prostaglandin E2 receptor EP1 (PGE2/EP1) deletion promotes glomerular podocyte and endothelial cell injury in hypertensive TTRhRen mice. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* 100, 414–425. doi: 10.1038/s41374-019-0317-7.
- Nauli, S. M., Alenghat, F. J., Luo, Y., Williams, E., Vassilev, P., Li, X., et al. (2003). Polycystins 1 and 2 mediate mechanosensation in the primary cilium of kidney cells. *Nat. Genet.* 33, 129–137. doi: 10.1038/ng1076.
- Nauli, S. M., Kawanabe, Y., Kaminski, J. J., Pearce, W. J., Ingber, D. E., and Zhou, J. (2008). Endothelial cilia are fluid shear sensors that regulate calcium signaling and nitric oxide production through polycystin-1. *Circulation* 117, 1161–1171. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.710111.
- Neal, C. R. (2015). Podocytes ... What's Under Yours? (Podocytes and Foot Processes and How They Change in Nephropathy). *Front. Endocrinol.* 6, 9. doi: 10.3389/fendo.2015.00009.
- Negishi, M., Hasegawa, H., and Ichikawa, A. (1996). Prostaglandin E receptor EP3gamma isoform, with mostly full constitutive Gi activity and agonist-dependent Gs activity. *FEBS Lett.* 386, 165–168. doi: 10.1016/0014-5793(96)00354-7.
- Negishi, M., Sugimoto, Y., Irie, A., Narumiya, S., and Ichikawa, A. (1993). Two isoforms of

- prostaglandin E receptor EP3 subtype. Different COOH-terminal domains determine sensitivity to agonist-induced desensitization. *J. Biol. Chem.* 268, 9517–9521.
- Neufeld, T. P. (2010). TOR-dependent control of autophagy: biting the hand that feeds. *Curr. Opin. Cell Biol.* 22, 157–168. doi: 10.1016/j.ceb.2009.11.005.
- New, D. C., and Wong, Y. H. (2007). Molecular mechanisms mediating the G protein-coupled receptor regulation of cell cycle progression. *J. Mol. Signal.* 2, 2. doi: 10.1186/1750-2187-2-2.
- Newton, A. C., Bootman, M. D., and Scott, J. D. (2016). Second Messengers. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 8, a005926. doi: 10.1101/cshperspect.a005926.
- Nigg, E. A., and Stearns, T. (2011). The centrosome cycle: Centriole biogenesis, duplication and inherent asymmetries. *Nat. Cell Biol.* 13, 1154–1160. doi: 10.1038/ncb2345.
- Nilsson, L., Madsen, K., Krag, S., Frøkiær, J., Jensen, B. L., and Nørregaard, R. (2015). Disruption of cyclooxygenase type 2 exacerbates apoptosis and renal damage during obstructive nephropathy. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 309, F1035-1048. doi: 10.1152/ajprenal.00253.2015.
- Ning, K., Song, E., Sendayen, B. E., Prosseda, P. P., Chang, K.-C., Ghaffarieh, A., et al. (2021). Defective INPP5E distribution in NPHP1-related Senior-Loken syndrome. *Mol. Genet. Genomic Med.* 9, e1566. doi: 10.1002/mgg3.1566.
- Niringiyumukiza, J. D., Cai, H., and Xiang, W. (2018). Prostaglandin E2 involvement in mammalian female fertility: ovulation, fertilization, embryo development and early implantation. *Reprod. Biol. Endocrinol. RBE* 16, 43. doi: 10.1186/s12958-018-0359-5.
- Nishinakamura, R. (2019). Human kidney organoids: progress and remaining challenges. *Nat. Rev. Nephrol.* 15, 613–624. doi: 10.1038/s41581-019-0176-x.
- Noda, Y., Sohara, E., Ohta, E., and Sasaki, S. (2010). Aquaporins in kidney pathophysiology. *Nat. Rev. Nephrol.* 6, 168–178. doi: 10.1038/nrneph.2009.231.
- Nonaka, S., Tanaka, Y., Okada, Y., Takeda, S., Harada, A., Kanai, Y., et al. (1998). Randomization of left-right asymmetry due to loss of nodal cilia generating leftward flow of extraembryonic fluid in mice lacking KIF3B motor protein. *Cell* 95, 829–837. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81705-5.
- Nørregaard, R., Kwon, T.-H., and Frøkiær, J. (2015). Physiology and pathophysiology of cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 in the kidney. *Kidney Res. Clin. Pract.* 34, 194–200. doi: 10.1016/j.krcp.2015.10.004.
- Norris, D. P., and Grimes, D. T. (2012). Mouse models of ciliopathies: the state of the art. *Dis. Model. Mech.* 5, 299–312. doi: 10.1242/dmm.009340.
- Norwood, V. F., Morham, S. G., and Smithies, O. (2000). Postnatal development and progression of renal dysplasia in cyclooxygenase-2 null mice. *Kidney Int.* 58, 2291–2300. doi: 10.1046/j.1523-1755.2000.00413.x.
- Nüsing, R. M., Reinalter, S. C., Peters, M., Kömhoff, M., and Seyberth, H. W. (2001). Pathogenetic role of cyclooxygenase-2 in hyperprostaglandin E syndrome/antenatal Bartter syndrome: therapeutic use of the cyclooxygenase-2 inhibitor nimesulide. *Clin. Pharmacol. Ther.* 70, 384–390.
- Oh, A., Pearce, J. W., Gandolfi, B., Creighton, E. K., Suedmeyer, W. K., Selig, M., et al. (2017).

- Early-Onset Progressive Retinal Atrophy Associated with an IQCB1 Variant in African Black-Footed Cats (*Felis nigripes*). *Sci. Rep.* 7, 43918. doi: 10.1038/srep43918.
- Oishi, A., Makita, N., Sato, J., and Iiri, T. (2012). Regulation of RhoA signaling by the cAMP-dependent phosphorylation of RhoGDI α . *J. Biol. Chem.* 287, 38705–38715. doi: 10.1074/jbc.M112.401547.
- Okada, T., Ernst, O. P., Palczewski, K., and Hofmann, K. P. (2001). Activation of rhodopsin: new insights from structural and biochemical studies. *Trends Biochem. Sci.* 26, 318–324. doi: 10.1016/s0968-0004(01)01799-6.
- Oki, Y., Katsuma, A., Okabe, M., Watanabe, M., Sagasaki, M., Takahashi, D., et al. (2022). Different Clinical Courses of Nephronophthisis in Dizygotic Twins. *Intern. Med. Tokyo Jpn.* doi: 10.2169/internalmedicine.8707-21.
- Olbrich, H., Fliegau, M., Hoefele, J., Kispert, A., Otto, E., Volz, A., et al. (2003). Mutations in a novel gene, NPHP3, cause adolescent nephronophthisis, tapeto-retinal degeneration and hepatic fibrosis. *Nat. Genet.* 34, 455–459. doi: 10.1038/ng1216.
- Olesen, E. T. B., and Fenton, R. A. (2013). Is there a role for PGE2 in urinary concentration? *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 24, 169–178. doi: 10.1681/ASN.2012020217.
- Olesen, E. T. B., Rützler, M. R., Moeller, H. B., Praetorius, H. A., and Fenton, R. A. (2011). Vasopressin-independent targeting of aquaporin-2 by selective E-prostanoid receptor agonists alleviates nephrogenic diabetes insipidus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 12949–12954. doi: 10.1073/pnas.1104691108.
- Oliveira, L. C., Oliveira, R. G., and Pires-Oliveira, D. a. A. (2016). Effects of whole body vibration on bone mineral density in postmenopausal women: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos. Int. J. Establ. Result Coop. Eur. Found. Osteoporos. Natl. Osteoporos. Found. USA* 27, 2913–2933. doi: 10.1007/s00198-016-3618-3.
- Omran, H., Fernandez, C., Jung, M., Häffner, K., Fargier, B., Villaquiran, A., et al. (2000). Identification of a new gene locus for adolescent nephronophthisis, on chromosome 3q22 in a large Venezuelan pedigree. *Am. J. Hum. Genet.* 66, 118–127. doi: 10.1086/302705.
- Onuchic, L. F., Furu, L., Nagasawa, Y., Hou, X., Eggermann, T., Ren, Z., et al. (2002). PKHD1, the polycystic kidney and hepatic disease 1 gene, encodes a novel large protein containing multiple immunoglobulin-like plexin-transcription-factor domains and parallel beta-helix 1 repeats. *Am. J. Hum. Genet.* 70, 1305–1317. doi: 10.1086/340448.
- Orhon, I., Dupont, N., Zaidan, M., Boitez, V., Burtin, M., Schmitt, A., et al. (2016). Primary-cilium-dependent autophagy controls epithelial cell volume in response to fluid flow. *Nat. Cell Biol.* 18, 657–667. doi: 10.1038/ncb3360.
- O’Sullivan, J., Finnie, S. L., Teenan, O., Cairns, C., Boyd, A., Bailey, M. A., et al. (2019). Refining the Mouse Subtotal Nephrectomy in Male 129S2/SV Mice for Consistent Modeling of Progressive Kidney Disease With Renal Inflammation and Cardiac Dysfunction. *Front. Physiol.* 10, 1365. doi: 10.3389/fphys.2019.01365.
- O’Toole, J. F., Liu, Y., Davis, E. E., Westlake, C. J., Attanasio, M., Otto, E. A., et al. (2010). Individuals with mutations in XPNPEP3, which encodes a mitochondrial protein, develop a nephronophthisis-like nephropathy. *J. Clin. Invest.* 120, 791–802. doi: 10.1172/JCI40076.
- Otto, E. A., Hurd, T. W., Airik, R., Chaki, M., Zhou, W., Stoetzel, C., et al. (2010). Candidate

- exome capture identifies mutation of SDCCAG8 as the cause of a retinal-renal ciliopathy. *Nat. Genet.* 42, 840–850. doi: 10.1038/ng.662.
- Otto, E. A., Loeyes, B., Khanna, H., Hellemans, J., Sudbrak, R., Fan, S., et al. (2005). Nephrocystin-5, a ciliary IQ domain protein, is mutated in Senior-Loken syndrome and interacts with RPGR and calmodulin. *Nat. Genet.* 37, 282–288. doi: 10.1038/ng1520.
- Otto, E. A., Ramaswami, G., Janssen, S., Chaki, M., Allen, S. J., Zhou, W., et al. (2011). Mutation analysis of 18 nephronophthisis associated ciliopathy disease genes using a DNA pooling and next generation sequencing strategy. *J. Med. Genet.* 48, 105–116. doi: 10.1136/jmg.2010.082552.
- Otto, E. A., Schermer, B., Obara, T., O’Toole, J. F., Hiller, K. S., Mueller, A. M., et al. (2003). Mutations in INVS encoding inversin cause nephronophthisis type 2, linking renal cystic disease to the function of primary cilia and left-right axis determination. *Nat. Genet.* 34, 413–420. doi: 10.1038/ng1217.
- Otto, E. A., Tory, K., Attanasio, M., Zhou, W., Chaki, M., Paruchuri, Y., et al. (2009). Hypomorphic mutations in meckelin (MKS3/TMEM67) cause nephronophthisis with liver fibrosis (NPHP11). *J. Med. Genet.* 46, 663–670. doi: 10.1136/jmg.2009.066613.
- Otto, E. A., Trapp, M. L., Schultheiss, U. T., Helou, J., Quarmby, L. M., and Hildebrandt, F. (2008). NEK8 mutations affect ciliary and centrosomal localization and may cause nephronophthisis. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 19, 587–592. doi: 10.1681/ASN.2007040490.
- Pal, K., Hwang, S.-H., Somatilaka, B., Badgandi, H., Jackson, P. K., DeFea, K., et al. (2016). Smoothed determines β -arrestin-mediated removal of the G protein-coupled receptor Gpr161 from the primary cilium. *J. Cell Biol.* 212, 861–875. doi: 10.1083/jcb.201506132.
- Pallone, T. L., Edwards, A., Ma, T., Silldorff, E. P., and Verkman, A. S. (2000). Requirement of aquaporin-1 for NaCl-driven water transport across descending vasa recta. *J. Clin. Invest.* 105, 215–222. doi: 10.1172/JCI8214.
- Pampliega, O., and Cuervo, A. M. (2016). Autophagy and primary cilia: dual interplay. *Curr. Opin. Cell Biol.* 39, 1–7. doi: 10.1016/j.ceb.2016.01.008.
- Pan, Y., Cao, S., Terker, A. S., Tang, J., Sasaki, K., Wang, Y., et al. (2022). Myeloid cyclooxygenase-2/prostaglandin E2/E-type prostanoid receptor 4 promotes transcription factor MafB-dependent inflammatory resolution in acute kidney injury. *Kidney Int.* 101, 79–91. doi: 10.1016/j.kint.2021.09.033.
- Parelkar, S. V., Kapadnis, S. P., Sanghvi, B. V., Joshi, P. B., Mundada, D., and Oak, S. N. (2013). Meckel-Gruber syndrome: A rare and lethal anomaly with review of literature. *J. Pediatr. Neurosci.* 8, 154–157. doi: 10.4103/1817-1745.117855.
- Parisi, M. A., Bennett, C. L., Eckert, M. L., Dobyens, W. B., Gleeson, J. G., Shaw, D. W. W., et al. (2004). The NPHP1 gene deletion associated with juvenile nephronophthisis is present in a subset of individuals with Joubert syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 75, 82–91. doi: 10.1086/421846.
- Parisi, M. A., Doherty, D., Chance, P. F., and Glass, I. A. (2007). Joubert syndrome (and related disorders) (OMIM 213300). *Eur. J. Hum. Genet. EJHG* 15, 511–521. doi: 10.1038/sj.ejhg.5201648.
- Parisi, M. A., Doherty, D., Eckert, M. L., Shaw, D. W. W., Ozyurek, H., Aysun, S., et al. (2006).

- AHI1 mutations cause both retinal dystrophy and renal cystic disease in Joubert syndrome. *J. Med. Genet.* 43, 334–339. doi: 10.1136/jmg.2005.036608.
- Park, K. M. (2018). Can Tissue Cilia Lengths and Urine Cilia Proteins Be Markers of Kidney Diseases? *Chonnam Med. J.* 54, 83–89. doi: 10.4068/cmj.2018.54.2.83.
- Pattaragarn, A., and Alon, U. S. (2003). Treatment of congenital nephrogenic diabetes insipidus by hydrochlorothiazide and cyclooxygenase-2 inhibitor. *Pediatr. Nephrol. Berl. Ger.* 18, 1073–1076. doi: 10.1007/s00467-003-1195-0.
- Pazour, G. J., Dickert, B. L., Vucica, Y., Seeley, E. S., Rosenbaum, J. L., Witman, G. B., et al. (2000). Chlamydomonas IFT88 and its mouse homologue, polycystic kidney disease gene tg737, are required for assembly of cilia and flagella. *J. Cell Biol.* 151, 709–718. doi: 10.1083/jcb.151.3.709.
- Pazour, G. J., Wilkerson, C. G., and Witman, G. B. (1998). A dynein light chain is essential for the retrograde particle movement of intraflagellar transport (IFT). *J. Cell Biol.* 141, 979–992. doi: 10.1083/jcb.141.4.979.
- Penchev, V., Boueva, A., Kamenarova, K., Roussinov, D., Tzveova, R., Ivanova, M., et al. (2017). A familial case of severe infantile nephronophthisis explained by oligogenic inheritance. *Eur. J. Med. Genet.* 60, 321–325. doi: 10.1016/j.ejmg.2017.04.002.
- Penn, R. B., Pascual, R. M., Kim, Y. M., Mundell, S. J., Krymskaya, V. P., Panettieri, R. A., et al. (2001). Arrestin specificity for G protein-coupled receptors in human airway smooth muscle. *J. Biol. Chem.* 276, 32648–32656. doi: 10.1074/jbc.M104143200.
- Perrault, I., Saunier, S., Hanein, S., Filhol, E., Bizet, A. A., Collins, F., et al. (2012). Mainzer-Saldino syndrome is a ciliopathy caused by IFT140 mutations. *Am. J. Hum. Genet.* 90, 864–870. doi: 10.1016/j.ajhg.2012.03.006.
- Perrin, B. J., and Ervasti, J. M. (2010). The actin gene family: function follows isoform. *Cytoskelet. Hoboken NJ* 67, 630–634. doi: 10.1002/cm.20475.
- Peterson, Y. K., and Luttrell, L. M. (2017). The Diverse Roles of Arrestin Scaffolds in G Protein-Coupled Receptor Signaling. *Pharmacol. Rev.* 69, 256–297. doi: 10.1124/pr.116.013367.
- Pettersen, I. K. N., Tusubira, D., Ashrafi, H., Dyrstad, S. E., Hansen, L., Liu, X.-Z., et al. (2019). Upregulated PDK4 expression is a sensitive marker of increased fatty acid oxidation. *Mitochondrion* 49, 97–110. doi: 10.1016/j.mito.2019.07.009.
- Phillips, C. L., Miller, K. J., Filson, A. J., Nürnberger, J., Clendenon, J. L., Cook, G. W., et al. (2004). Renal cysts of inv/inv mice resemble early infantile nephronophthisis. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 15, 1744–1755. doi: 10.1097/01.asn.0000131520.07008.b3.
- Phua, S. C., Chiba, S., Suzuki, M., Su, E., Roberson, E. C., Pusapati, G. V., et al. (2017). Dynamic Remodeling of Membrane Composition Drives Cell Cycle through Primary Cilia Excision. *Cell* 168, 264–279.e15. doi: 10.1016/j.cell.2016.12.032.
- Pickart, M. A., and Klee, E. W. (2014). Zebrafish approaches enhance the translational research tackle box. *Transl. Res. J. Lab. Clin. Med.* 163, 65–78. doi: 10.1016/j.trsl.2013.10.007.
- Pigino, G., Geimer, S., Lanzavecchia, S., Paccagnini, E., Cantele, F., Diener, D. R., et al. (2009). Electron-tomographic analysis of intraflagellar transport particle trains in situ. *J. Cell Biol.* 187, 135–148. doi: 10.1083/jcb.200905103.

- Pitaval, A., Senger, F., Letort, G., Gidrol, X., Guyon, L., Sillibourne, J., et al. (2017). Microtubule stabilization drives 3D centrosome migration to initiate primary ciliogenesis. *J. Cell Biol.* 216, 3713–3728. doi: 10.1083/jcb.201610039.
- Plotnikova, O. V., Nikonova, A. S., Loskutov, Y. V., Kozyulina, P. Y., Pugacheva, E. N., and Golemis, E. A. (2012). Calmodulin activation of Aurora-A kinase (AURKA) is required during ciliary disassembly and in mitosis. *Mol. Biol. Cell* 23, 2658–2670. doi: 10.1091/mbc.E11-12-1056.
- Polycystic kidney disease: the complete structure of the PKD1 gene and its protein. The International Polycystic Kidney Disease Consortium (1995). *Cell* 81, 289–298. doi: 10.1016/0092-8674(95)90339-9.
- Porpora, M., Sauchella, S., Rinaldi, L., Delle Donne, R., Sepe, M., Torres-Quesada, O., et al. (2018). Counterregulation of cAMP-directed kinase activities controls ciliogenesis. *Nat. Commun.* 9, 1224. doi: 10.1038/s41467-018-03643-9.
- Poureteezadi, S. J., Cheng, C. N., Chambers, J. M., Drummond, B. E., and Wingert, R. A. (2016). Prostaglandin signaling regulates nephron segment patterning of renal progenitors during zebrafish kidney development. *eLife* 5, e17551. doi: 10.7554/eLife.17551.
- Praetorius, H. A., and Spring, K. R. (2001). Bending the MDCK cell primary cilium increases intracellular calcium. *J. Membr. Biol.* 184, 71–79. doi: 10.1007/s00232-001-0075-4.
- Praetorius, H. A., and Spring, K. R. (2003). Removal of the MDCK cell primary cilium abolishes flow sensing. *J. Membr. Biol.* 191, 69–76. doi: 10.1007/s00232-002-1042-4.
- Prager-Khoutorsky, M., and Bourque, C. W. (2010). Osmosensation in vasopressin neurons: changing actin density to optimize function. *Trends Neurosci.* 33, 76–83. doi: 10.1016/j.tins.2009.11.004.
- Prieto, I., Villarejo, A. B., Segarra, A. B., Banegas, I., Wangenstein, R., Martinez-Cañamero, M., et al. (2014). Brain, heart and kidney correlate for the control of blood pressure and water balance: role of angiotensinases. *Neuroendocrinology* 100, 198–208. doi: 10.1159/000368835.
- Prieto, M. C., Gonzalez, A. A., Visniauskas, B., and Navar, L. G. (2021). The evolving complexity of the collecting duct renin-angiotensin system in hypertension. *Nat. Rev. Nephrol.* 17, 481–492. doi: 10.1038/s41581-021-00414-6.
- Prieto-Carrasquero, M. C., Botros, F. T., Pagan, J., Kobori, H., Seth, D. M., Casarini, D. E., et al. (2008). Collecting duct renin is upregulated in both kidneys of 2-kidney, 1-clip goldblatt hypertensive rats. *Hypertens. Dallas Tex 1979* 51, 1590–1596. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.110916.
- Prieto-Carrasquero, M. C., Harrison-Bernard, L. M., Kobori, H., Ozawa, Y., Hering-Smith, K. S., Hamm, L. L., et al. (2004). Enhancement of collecting duct renin in angiotensin II-dependent hypertensive rats. *Hypertens. Dallas Tex 1979* 44, 223–229. doi: 10.1161/01.HYP.0000135678.20725.54.
- Priya, S., Nampoothiri, S., Sen, P., and Sripriya, S. (2016). Bardet-Biedl syndrome: Genetics, molecular pathophysiology, and disease management. *Indian J. Ophthalmol.* 64, 620–627. doi: 10.4103/0301-4738.194328.
- Pugacheva, E. N., Jablonski, S. A., Hartman, T. R., Henske, E. P., and Golemis, E. A. (2007).

- HEF1-dependent Aurora A activation induces disassembly of the primary cilium. *Cell* 129, 1351–1363. doi: 10.1016/j.cell.2007.04.035.
- Purdy, K. E., and Arendshorst, W. J. (1999). Prostaglandins buffer ANG II-mediated increases in cytosolic calcium in preglomerular VSMC. *Am. J. Physiol.* 277, F850-858. doi: 10.1152/ajprenal.1999.277.6.F850.
- Quatredenié, M., Bienaimé, F., Ferri, G., Isnard, P., Porée, E., Billot, K., et al. (2021). The renal inflammatory network of nephronophthisis. *bioRxiv*, 2021.01.07.425719. doi: 10.1101/2021.01.07.425719.
- Quemener, A. M., Centomo, M. L., Sax, S. L., and Panella, R. (2022). Small Drugs, Huge Impact: The Extraordinary Impact of Antisense Oligonucleotides in Research and Drug Development. *Mol. Basel Switz.* 27, 536. doi: 10.3390/molecules27020536.
- Rahilly, M. A., and Fleming, S. (1995). Abnormal integrin receptor expression in two cases of familial nephronophthisis. *Histopathology* 26, 345–349. doi: 10.1111/j.1365-2559.1995.tb00196.x.
- Ramsbottom, S. A., Molinari, E., Srivastava, S., Silberman, F., Henry, C., Alkanderi, S., et al. (2018). Targeted exon skipping of a CEP290 mutation rescues Joubert syndrome phenotypes in vitro and in a murine model. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 115, 12489–12494. doi: 10.1073/pnas.1809432115.
- Ramsbottom, S., Miles, C., and Sayer, J. (2015). Murine Cep290 phenotypes are modified by genetic backgrounds and provide an impetus for investigating disease modifier alleles. *F1000Research* 4, 590. doi: 10.12688/f1000research.6959.1.
- Ran, J., Yang, Y., Li, D., Liu, M., and Zhou, J. (2015). Deacetylation of α -tubulin and cortactin is required for HDAC6 to trigger ciliary disassembly. *Sci. Rep.* 5, 12917. doi: 10.1038/srep12917.
- Rangel, L., Bernabé-Rubio, M., Fernández-Barrera, J., Casares-Arias, J., Millán, J., Alonso, M. A., et al. (2019). Caveolin-1 α regulates primary cilium length by controlling RhoA GTPase activity. *Sci. Rep.* 9, 1116. doi: 10.1038/s41598-018-38020-5.
- Ransick, A., Lindström, N. O., Liu, J., Zhu, Q., Guo, J.-J., Alvarado, G. F., et al. (2019). Single-Cell Profiling Reveals Sex, Lineage, and Regional Diversity in the Mouse Kidney. *Dev. Cell* 51, 399-413.e7. doi: 10.1016/j.devcel.2019.10.005.
- Rao, R., Zhang, M.-Z., Zhao, M., Cai, H., Harris, R. C., Breyer, M. D., et al. (2005). Lithium treatment inhibits renal GSK-3 activity and promotes cyclooxygenase 2-dependent polyuria. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 288, F642-649. doi: 10.1152/ajprenal.00287.2004.
- Rao, Y., Hao, R., Wang, B., and Yao, T.-P. (2014). A Mec17-Myosin II Effector Axis Coordinates Microtubule Acetylation and Actin Dynamics to Control Primary Cilium Biogenesis. *PLoS One* 9, e114087. doi: 10.1371/journal.pone.0114087.
- Raychowdhury, M. K., Ramos, A. J., Zhang, P., McLaughlin, M., Dai, X.-Q., Chen, X.-Z., et al. (2009). Vasopressin receptor-mediated functional signaling pathway in primary cilia of renal epithelial cells. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 296, F87-97. doi: 10.1152/ajprenal.90509.2008.
- Redublo Quinto, B. M., Camargo de Andrade, M. C., Ronchi, F. A., Santos, E. L., Alves Correa, S. A., Shimuta, S. I., et al. (2008). Expression of angiotensin I-converting enzymes and bradykinin B2 receptors in mouse inner medullary-collecting duct cells. *Int.*

Immunopharmacol. 8, 254–260. doi: 10.1016/j.intimp.2007.09.013.

Reid, G., Wielinga, P., Zelcer, N., van der Heijden, I., Kuil, A., de Haas, M., et al. (2003). The human multidrug resistance protein MRP4 functions as a prostaglandin efflux transporter and is inhibited by nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 9244–9249. doi: 10.1073/pnas.1033060100.

Reinold, H., Ahmadi, S., Depner, U. B., Layh, B., Heindl, C., Hamza, M., et al. (2005). Spinal inflammatory hyperalgesia is mediated by prostaglandin E receptors of the EP2 subtype. *J. Clin. Invest.* 115, 673–679. doi: 10.1172/JCI23618.

Reiter, J. F., Blacque, O. E., and Leroux, M. R. (2012). The base of the cilium: roles for transition fibres and the transition zone in ciliary formation, maintenance and compartmentalization. *EMBO Rep.* 13, 608–618. doi: 10.1038/embor.2012.73.

Reiter, J. F., and Leroux, M. R. (2017). Genes and molecular pathways underpinning ciliopathies. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 18, 533–547. doi: 10.1038/nrm.2017.60.

Ren, Z.-L., Zhang, H.-B., Li, L., Yang, Z.-L., and Jiang, L. (2022). Characterization of two novel knock-in mouse models of syndromic retinal ciliopathy carrying hypomorphic *Sdccag8* mutations. *Zool. Res.* 43, 442–456. doi: 10.24272/j.issn.2095-8137.2021.387.

Ricciotti, E., and FitzGerald, G. A. (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 31, 986–1000. doi: 10.1161/ATVBAHA.110.207449.

Ridley, A. J., and Hall, A. (1992). The small GTP-binding protein rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell* 70, 389–399. doi: 10.1016/0092-8674(92)90163-7.

Rodrigues, G. A., Shalaev, E., Karami, T. K., Cunningham, J., Slater, N. K. H., and Rivers, H. M. (2018). Pharmaceutical Development of AAV-Based Gene Therapy Products for the Eye. *Pharm. Res.* 36, 29. doi: 10.1007/s11095-018-2554-7.

Rojek, A., Füchtbauer, E.-M., Kwon, T.-H., Frøkiaer, J., and Nielsen, S. (2006). Severe urinary concentrating defect in renal collecting duct-selective AQP2 conditional-knockout mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 6037–6042. doi: 10.1073/pnas.0511324103.

Ronquillo, C. C., Hanke-Gogokhia, C., Revelo, M. P., Frederick, J. M., Jiang, L., and Baehr, W. (2016). Ciliopathy-associated IQCB1/NPHP5 protein is required for mouse photoreceptor outer segment formation. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 30, 3400–3412. doi: 10.1096/fj.201600511R.

Rubin, C., Turner, A. S., Bain, S., Mallinckrodt, C., and McLeod, K. (2001). Anabolism. Low mechanical signals strengthen long bones. *Nature* 412, 603–604. doi: 10.1038/35088122.

Ryan, A. R., England, A. R., Chaney, C. P., Cowdin, M. A., Hiltabidle, M., Daniel, E., et al. (2021). Vascular deficiencies in renal organoids and ex vivo kidney organogenesis. *Dev. Biol.* 477, 98–116. doi: 10.1016/j.ydbio.2021.04.009.

Ryan, R., Failler, M., Reilly, M. L., Garfa-Traore, M., Delous, M., Filhol, E., et al. (2018). Functional characterization of tektin-1 in motile cilia and evidence for TEKT1 as a new candidate gene for motile ciliopathies. *Hum. Mol. Genet.* 27, 266–282. doi: 10.1093/hmg/ddx396.

Rydell-Törmänen, K., and Johnson, J. R. (2019). The Applicability of Mouse Models to the Study of Human Disease. *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* 1940, 3–22. doi: 10.1007/978-1-4939-

9086-3_1.

Saigusa, T., Dang, Y., Mullick, A. E., Yeh, S. T., Zile, M. R., Baicu, C. F., et al. (2016). Suppressing angiotensinogen synthesis attenuates kidney cyst formation in a Pkd1 mouse model. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 30, 370–379. doi: 10.1096/fj.15-279299.

Saito, M., Otsu, W., Hsu, K.-S., Chuang, J.-Z., Yanagisawa, T., Shieh, V., et al. (2017). Tctex-1 controls ciliary resorption by regulating branched actin polymerization and endocytosis. *EMBO Rep.* 18, 1460–1472. doi: 10.15252/embr.201744204.

Salehi-Najafabadi, Z., Li, B., Valentino, V., Ng, C., Martin, H., Yu, Y., et al. (2017). Extracellular Loops Are Essential for the Assembly and Function of Polycystin Receptor-Ion Channel Complexes. *J. Biol. Chem.* 292, 4210–4221. doi: 10.1074/jbc.M116.767897.

Sang, L., Miller, J. J., Corbit, K. C., Giles, R. H., Brauer, M. J., Otto, E. A., et al. (2011). Mapping the NPHP-JBTS-MKS protein network reveals ciliopathy disease genes and pathways. *Cell* 145, 513–528. doi: 10.1016/j.cell.2011.04.019.

Sanin, D. E., Matsushita, M., Klein Geltink, R. I., Grzes, K. M., van Teijlingen Bakker, N., Corrado, M., et al. (2018). Mitochondrial Membrane Potential Regulates Nuclear Gene Expression in Macrophages Exposed to Prostaglandin E2. *Immunity* 49, 1021-1033.e6. doi: 10.1016/j.immuni.2018.10.011.

Sankaran, D., Bankovic-Calic, N., Ogborn, M. R., Crow, G., and Aukema, H. M. (2007). Selective COX-2 inhibition markedly slows disease progression and attenuates altered prostanoid production in Han:SPRD-cy rats with inherited kidney disease. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 293, F821-830. doi: 10.1152/ajprenal.00257.2006.

Sankaran, D., Lu, J., Bankovic-Calic, N., Ogborn, M. R., and Aukema, H. M. (2004). Modulation of renal injury in pcy mice by dietary fat containing n-3 fatty acids depends on the level and type of fat. *Lipids* 39, 207–214. doi: 10.1007/s11745-004-1221-7.

Sassone-Corsi, P. (2012). The cyclic AMP pathway. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 4, a011148. doi: 10.1101/cshperspect.a011148.

Satir, P., and Christensen, S. T. (2007). Overview of structure and function of mammalian cilia. *Annu. Rev. Physiol.* 69, 377–400. doi: 10.1146/annurev.physiol.69.040705.141236.

Saunier, S., Calado, J., Benessy, F., Silbermann, F., Heilig, R., Weissenbach, J., et al. (2000). Characterization of the NPHP1 locus: mutational mechanism involved in deletions in familial juvenile nephronophthisis. *Am. J. Hum. Genet.* 66, 778–789. doi: 10.1086/302819.

Saunier, S., Calado, J., Heilig, R., Silbermann, F., Benessy, F., Morin, G., et al. (1997). A novel gene that encodes a protein with a putative src homology 3 domain is a candidate gene for familial juvenile nephronophthisis. *Hum. Mol. Genet.* 6, 2317–2323. doi: 10.1093/hmg/6.13.2317.

Sauvant, C., Holzinger, H., and Gekle, M. (2003). Short-term regulation of basolateral organic anion uptake in proximal tubular opossum kidney cells: prostaglandin E2 acts via receptor-mediated activation of protein kinase A. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 14, 3017–3026. doi: 10.1097/01.asn.0000099376.87890.71.

Sauvant, C., Holzinger, H., and Gekle, M. (2006). Prostaglandin E2 inhibits its own renal transport by downregulation of organic anion transporters rOAT1 and rOAT3. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 17, 46–53. doi: 10.1681/ASN.2005070727.

- Saxton, R. A., and Sabatini, D. M. (2017). mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. *Cell* 168, 960–976. doi: 10.1016/j.cell.2017.02.004.
- Sayer, J. A., Otto, E. A., O'Toole, J. F., Nurnberg, G., Kennedy, M. A., Becker, C., et al. (2006). The centrosomal protein nephrocystin-6 is mutated in Joubert syndrome and activates transcription factor ATF4. *Nat. Genet.* 38, 674–681. doi: 10.1038/ng1786.
- Schachar, R. A., Raber, S., Courtney, R., and Zhang, M. (2011). A phase 2, randomized, dose-response trial of taprenepag isopropyl (PF-04217329) versus latanoprost 0.005% in open-angle glaucoma and ocular hypertension. *Curr. Eye Res.* 36, 809–817. doi: 10.3109/02713683.2011.593725.
- Schaefer, E., Stoetzel, C., Scheidecker, S., Geoffroy, V., Prasad, M. K., Redin, C., et al. (2016). Identification of a novel mutation confirms the implication of IFT172 (BBS20) in Bardet-Biedl syndrome. *J. Hum. Genet.* 61, 447–450. doi: 10.1038/jhg.2015.162.
- Schaefer, E., Zaloszczyk, A., Lauer, J., Durand, M., Stutzmann, F., Perdomo-Trujillo, Y., et al. (2011). Mutations in SDCCAG8/NPHP10 Cause Bardet-Biedl Syndrome and Are Associated with Penetrant Renal Disease and Absent Polydactyly. *Mol. Syndromol.* 1, 273–281. doi: 10.1159/000331268.
- Schinner, E., Wetzl, V., and Schlossmann, J. (2015). Cyclic nucleotide signalling in kidney fibrosis. *Int. J. Mol. Sci.* 16, 2320–2351. doi: 10.3390/ijms16022320.
- Schmidt, K. N., Kuhns, S., Neuner, A., Hub, B., Zentgraf, H., and Pereira, G. (2012). Cep164 mediates vesicular docking to the mother centriole during early steps of ciliogenesis. *J. Cell Biol.* 199, 1083–1101. doi: 10.1083/jcb.201202126.
- Schneider, L., Clement, C. A., Teilmann, S. C., Pazour, G. J., Hoffmann, E. K., Satir, P., et al. (2005). PDGFR α signaling is regulated through the primary cilium in fibroblasts. *Curr. Biol.* 15, 1861–1866. doi: 10.1016/j.cub.2005.09.012.
- Schnell, J., Achieng, M., and Lindström, N. O. (2022). Principles of human and mouse nephron development. *Nat. Rev. Nephrol.* doi: 10.1038/s41581-022-00598-5.
- Schnermann, J., Chou, C. L., Ma, T., Traynor, T., Knepper, M. A., and Verkman, A. S. (1998). Defective proximal tubular fluid reabsorption in transgenic aquaporin-1 null mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 9660–9664. doi: 10.1073/pnas.95.16.9660.
- Schou, K. B., Pedersen, L. B., and Christensen, S. T. (2015). Ins and outs of GPCR signaling in primary cilia. *EMBO Rep.* 16, 1099–1113. doi: 10.15252/embr.201540530.
- Schueler, M., Braun, D. A., Chandrasekar, G., Gee, H. Y., Klasson, T. D., Halbritter, J., et al. (2015). DCDC2 mutations cause a renal-hepatic ciliopathy by disrupting Wnt signaling. *Am. J. Hum. Genet.* 96, 81–92. doi: 10.1016/j.ajhg.2014.12.002.
- Schueler, M., Halbritter, J., Phelps, I. G., Braun, D. A., Otto, E. A., Porath, J. D., et al. (2016). Large-scale targeted sequencing comparison highlights extreme genetic heterogeneity in nephronophthisis-related ciliopathies. *J. Med. Genet.* 53, 208–214. doi: 10.1136/jmedgenet-2015-103304.
- Schwartz, E. A., Leonard, M. L., Bizios, R., and Bowser, S. S. (1997). Analysis and modeling of the primary cilium bending response to fluid shear. *Am. J. Physiol.* 272, F132–138. doi: 10.1152/ajprenal.1997.272.1.F132.
- Schweda, F., Klar, J., Narumiya, S., Nüsing, R. M., and Kurtz, A. (2004). Stimulation of renin

- release by prostaglandin E2 is mediated by EP2 and EP4 receptors in mouse kidneys. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 287, F427-433. doi: 10.1152/ajprenal.00072.2004.
- Seeger-Nukpezah, T., and Golemis, E. A. (2012). The extracellular matrix and ciliary signaling. *Curr. Opin. Cell Biol.* 24, 652–661. doi: 10.1016/j.ceb.2012.06.002.
- Senatore, E., Chiuso, F., Rinaldi, L., Intartaglia, D., Delle Donne, R., Pedone, E., et al. (2021). The TBC1D31/praja2 complex controls primary ciliogenesis through PKA-directed OFD1 ubiquitylation. *EMBO J.* 40, e106503. doi: 10.15252/embj.2020106503.
- Senior, B., Friedmann, A. I., and Braudo, J. L. (1961). Juvenile familial nephropathy with tapetoretinal degeneration. A new oculorenal dystrophy. *Am. J. Ophthalmol.* 52, 625–633. doi: 10.1016/0002-9394(61)90147-7.
- Shabaka, A., Cases-Corona, C., and Fernandez-Juarez, G. (2021). Therapeutic Insights in Chronic Kidney Disease Progression. *Front. Med.* 8, 645187. doi: 10.3389/fmed.2021.645187.
- Shannon, M. B., Patton, B. L., Harvey, S. J., and Miner, J. H. (2006). A hypomorphic mutation in the mouse laminin alpha5 gene causes polycystic kidney disease. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 17, 1913–1922. doi: 10.1681/ASN.2005121298.
- Sharma, N., Bryant, J., Wloga, D., Donaldson, R., Davis, R. C., Jerka-Dziadosz, M., et al. (2007). Katanin regulates dynamics of microtubules and biogenesis of motile cilia. *J. Cell Biol.* 178, 1065–1079. doi: 10.1083/jcb.200704021.
- Sharma, N., Kosan, Z. A., Stallworth, J. E., Berbari, N. F., and Yoder, B. K. (2011). Soluble levels of cytosolic tubulin regulate ciliary length control. *Mol. Biol. Cell* 22, 806–816. doi: 10.1091/mbc.E10-03-0269.
- Shen, X.-L., Yuan, J.-F., Qin, X.-H., Song, G.-P., Hu, H.-B., Tu, H.-Q., et al. (2022). LUBAC regulates ciliogenesis by promoting CP110 removal from the mother centriole. *J. Cell Biol.* 221, e202105092. doi: 10.1083/jcb.202105092.
- Sherpa, R. T., Mohieldin, A. M., Pala, R., Wachten, D., Ostrom, R. S., and Nauli, S. M. (2019). Sensory primary cilium is a responsive cAMP microdomain in renal epithelia. *Sci. Rep.* 9, 6523. doi: 10.1038/s41598-019-43002-2.
- Sherr, C. J., and Roberts, J. M. (1999). CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev.* 13, 1501–1512. doi: 10.1101/gad.13.12.1501.
- Shi, X., Garcia, G., Van De Weghe, J. C., McGorty, R., Pazour, G. J., Doherty, D., et al. (2017). Super-resolution microscopy reveals that disruption of ciliary transition-zone architecture causes Joubert syndrome. *Nat. Cell Biol.* 19, 1178–1188. doi: 10.1038/ncb3599.
- Sillibourne, J. E., Hurbain, I., Grand-Perret, T., Goud, B., Tran, P., and Bornens, M. (2013). Primary ciliogenesis requires the distal appendage component Cep123. *Biol. Open* 2, 535–545. doi: 10.1242/bio.20134457.
- Singh, J., Wen, X., and Scales, S. J. (2015). The Orphan G Protein-coupled Receptor Gpr175 (Tpra40) Enhances Hedgehog Signaling by Modulating cAMP Levels. *J. Biol. Chem.* 290, 29663–29675. doi: 10.1074/jbc.M115.665810.
- Singla, V., Romaguera-Ros, M., Garcia-Verdugo, J. M., and Reiter, J. F. (2010). Ofd1, a human disease gene, regulates the length and distal structure of centrioles. *Dev. Cell* 18, 410–424. doi: 10.1016/j.devcel.2009.12.022.

- Sipos, A., Vargas, S., and Peti-Peterdi, J. (2010). Direct demonstration of tubular fluid flow sensing by macula densa cells. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 299, F1087-1093. doi: 10.1152/ajprenal.00469.2009.
- Slaats, G. G., Saldivar, J. C., Bacal, J., Zeman, M. K., Kile, A. C., Hynes, A. M., et al. (2015). DNA replication stress underlies renal phenotypes in CEP290-associated Joubert syndrome. *J. Clin. Invest.* 125, 3657–3666. doi: 10.1172/JCI80657.
- Slanchev, K., Pütz, M., Schmitt, A., Kramer-Zucker, A., and Walz, G. (2011). Nephrocystin-4 is required for pronephric duct-dependent cloaca formation in zebrafish. *Hum. Mol. Genet.* 20, 3119–3128. doi: 10.1093/hmg/ddr214.
- Slattery, P., Frölich, S., Schreiber, Y., and Nüsing, R. M. (2016). COX-2 gene dosage-dependent defects in kidney development. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 310, F1113-1122. doi: 10.1152/ajprenal.00430.2015.
- SMITH, C. H., and GRAHAM, J. B. (1945). CONGENITAL MEDULLARY CYSTS OF THE KIDNEYS WITH SEVERE REFRACTORY ANEMIA. *Am. J. Dis. Child.* 69, 369–377. doi: 10.1001/archpedi.1945.02020180033006.
- Smith, U. M., Consugar, M., Tee, L. J., McKee, B. M., Maina, E. N., Whelan, S., et al. (2006). The transmembrane protein meckelin (MKS3) is mutated in Meckel-Gruber syndrome and the wpk rat. *Nat. Genet.* 38, 191–196. doi: 10.1038/ng1713.
- Smith, W. L., Urade, Y., and Jakobsson, P.-J. (2011). Enzymes of the cyclooxygenase pathways of prostanoid biosynthesis. *Chem. Rev.* 111, 5821–5865. doi: 10.1021/cr2002992.
- Snoek, R., van Setten, J., Keating, B. J., Israni, A. K., Jacobson, P. A., Oetting, W. S., et al. (2018). NPHP1 (Nephrocystin-1) Gene Deletions Cause Adult-Onset ESRD. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 29, 1772–1779. doi: 10.1681/ASN.2017111200.
- Song, T., Yang, Y., Zhou, P., Ran, J., Zhang, L., Wu, X., et al. (2022). ENKD1 promotes CP110 removal through competing with CEP97 to initiate ciliogenesis. *EMBO Rep.* 23, e54090. doi: 10.15252/embr.202154090.
- Song, Z., Zhang, X., Jia, S., Yelick, P. C., and Zhao, C. (2016). Zebrafish as a Model for Human Ciliopathies. *J. Genet. Genomics Yi Chuan Xue Bao* 43, 107–120. doi: 10.1016/j.jgg.2016.02.001.
- Sonnenburg, W. K., Zhu, J. H., and Smith, W. L. (1990). A prostaglandin E receptor coupled to a pertussis toxin-sensitive guanine nucleotide regulatory protein in rabbit cortical collecting tubule cells. *J. Biol. Chem.* 265, 8479–8483.
- Sorokin, S. (1962). Centrioles and the formation of rudimentary cilia by fibroblasts and smooth muscle cells. *J. Cell Biol.* 15, 363–377. doi: 10.1083/jcb.15.2.363.
- Sorokin, S. P. (1968). Reconstructions of centriole formation and ciliogenesis in mammalian lungs. *J. Cell Sci.* 3, 207–230. doi: 10.1242/jcs.3.2.207.
- Spalluto, C., Wilson, D. I., and Hearn, T. (2013). Evidence for reciliation of RPE1 cells in late G1 phase, and ciliary localisation of cyclin B1. *FEBS Open Bio* 3, 334–340. doi: 10.1016/j.fob.2013.08.002.
- Spektor, A., Tsang, W. Y., Khoo, D., and Dynlacht, B. D. (2007). Cep97 and CP110 suppress a cilia assembly program. *Cell* 130, 678–690. doi: 10.1016/j.cell.2007.06.027.

- Starremans, P. G., Li, X., Finnerty, P. E., Guo, L., Takakura, A., Neilson, E. G., et al. (2008). A mouse model for polycystic kidney disease through a somatic in-frame deletion in the 5' end of Pkd1. *Kidney Int.* 73, 1394–1405. doi: 10.1038/ki.2008.111.
- Stitt-Cavanagh, E. M., Faour, W. H., Takami, K., Carter, A., Vanderhyden, B., Guan, Y., et al. (2010). A maladaptive role for EP4 receptors in podocytes. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 21, 1678–1690. doi: 10.1681/ASN.2009121234.
- Stokman, M. F., Bijnsdorp, I. V., Schelfhorst, T., Pham, T. V., Piersma, S. R., Knol, J. C., et al. (2019). Changes in the urinary extracellular vesicle proteome are associated with nephronophthisis-related ciliopathies. *J. Proteomics* 192, 27–36. doi: 10.1016/j.jprot.2018.07.008.
- Stokman, M. F., Saunier, S., and Benmerah, A. (2021). Renal Ciliopathies: Sorting Out Therapeutic Approaches for Nephronophthisis. *Front. Cell Dev. Biol.* 9, 653138. doi: 10.3389/fcell.2021.653138.
- Stokman, M. F., van der Zwaag, B., van de Kar, N. C. A. J., van Haelst, M. M., van Eerde, A. M., van der Heijden, J. W., et al. (2018). Clinical and genetic analyses of a Dutch cohort of 40 patients with a nephronophthisis-related ciliopathy. *Pediatr. Nephrol. Berl. Ger.* 33, 1701–1712. doi: 10.1007/s00467-018-3958-7.
- Stottmann, R. W., Tran, P. V., Turbe-Doan, A., and Beier, D. R. (2009). Ttc21b is required to restrict sonic hedgehog activity in the developing mouse forebrain. *Dev. Biol.* 335, 166–178. doi: 10.1016/j.ydbio.2009.08.023.
- Streets, A. J., Prosseda, P. P., and Ong, A. C. (2020). Polycystin-1 regulates ARHGAP35-dependent centrosomal RhoA activation and ROCK signaling. *JCI Insight* 5, 135385. doi: 10.1172/jci.insight.135385.
- Su, W., Cao, R., Zhang, X.-Y., and Guan, Y. (2020). Aquaporins in the kidney: physiology and pathophysiology. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 318, F193–F203. doi: 10.1152/ajprenal.00304.2019.
- Suganami, T., Mori, K., Tanaka, I., Mukoyama, M., Sugawara, A., Makino, H., et al. (2003). Role of prostaglandin E receptor EP1 subtype in the development of renal injury in genetically hypertensive rats. *Hypertens. Dallas Tex 1979* 42, 1183–1190. doi: 10.1161/01.HYP.0000101689.64849.97.
- Sugimoto, Y., Namba, T., Shigemoto, R., Negishi, M., Ichikawa, A., and Narumiya, S. (1994). Distinct cellular localization of mRNAs for three subtypes of prostaglandin E receptor in kidney. *Am. J. Physiol.* 266, F823–828. doi: 10.1152/ajprenal.1994.266.5.F823.
- Sussman, C. R., Wang, X., Chebib, F. T., and Torres, V. E. (2020). Modulation of polycystic kidney disease by G-protein coupled receptors and cyclic AMP signaling. *Cell. Signal.* 72, 109649. doi: 10.1016/j.cellsig.2020.109649.
- Sutherland, E. W., and Rall, T. W. (1958). Fractionation and characterization of a cyclic adenine ribonucleotide formed by tissue particles. *J. Biol. Chem.* 232, 1077–1091.
- Sweeney, W. E., and Avner, E. D. (2014). Pathophysiology of childhood polycystic kidney diseases: new insights into disease-specific therapy. *Pediatr. Res.* 75, 148–157. doi: 10.1038/pr.2013.191.
- Takahashi, H., Calvet, J. P., Dittmore-Hoover, D., Yoshida, K., Grantham, J. J., and Gattone,

- V. H. (1991). A hereditary model of slowly progressive polycystic kidney disease in the mouse. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 1, 980–989. doi: 10.1681/ASN.V17980.
- Takahashi, K., Nagai, T., Chiba, S., Nakayama, K., and Mizuno, K. (2018). Glucose deprivation induces primary cilium formation through mTORC1 inactivation. *J. Cell Sci.* 131, jcs208769. doi: 10.1242/jcs.208769.
- Takasato, M., Er, P. X., Chiu, H. S., Maier, B., Baillie, G. J., Ferguson, C., et al. (2016). Kidney organoids from human iPS cells contain multiple lineages and model human nephrogenesis. *Nature* 536, 238. doi: 10.1038/nature17982.
- Takeuchi, K., and Amagase, K. (2018). Roles of Cyclooxygenase, Prostaglandin E2 and EP Receptors in Mucosal Protection and Ulcer Healing in the Gastrointestinal Tract. *Curr. Pharm. Des.* 24, 2002–2011. doi: 10.2174/1381612824666180629111227.
- Tálosi, G., Katona, M., and Túri, S. (2007). Side-effects of long-term prostaglandin E(1) treatment in neonates. *Pediatr. Int. Off. J. Jpn. Pediatr. Soc.* 49, 335–340. doi: 10.1111/j.1442-200X.2007.02380.x.
- Tamma, G., Wiesner, B., Furkert, J., Hahm, D., Oksche, A., Schaefer, M., et al. (2003). The prostaglandin E2 analogue sulprostone antagonizes vasopressin-induced antidiuresis through activation of Rho. *J. Cell Sci.* 116, 3285–3294. doi: 10.1242/jcs.00640.
- Tang, X., Liu, C., Liu, X., Chen, J., Fan, X., Liu, J., et al. (2022). Phenotype and genotype spectra of a Chinese cohort with nephronophthisis-related ciliopathy. *J. Med. Genet.* 59, 147–154. doi: 10.1136/jmedgenet-2020-107184.
- Tang, Z., Lin, M. G., Stowe, T. R., Chen, S., Zhu, M., Stearns, T., et al. (2013). Autophagy promotes primary ciliogenesis by removing OFD1 from centriolar satellites. *Nature* 502, 254–257. doi: 10.1038/nature12606.
- Tanos, B. E., Yang, H.-J., Soni, R., Wang, W.-J., Macaluso, F. P., Asara, J. M., et al. (2013). Centriole distal appendages promote membrane docking, leading to cilia initiation. *Genes Dev.* 27, 163–168. doi: 10.1101/gad.207043.112.
- Tao, Y., Chen, T., Fang, W., Yan, Z., Yang, Q., Huang, Y., et al. (2017). The Comparative Efficiency of Intraperitoneal and Intravitreal Injection of Hydrogen Rich Saline against N-Methyl-N-Nitrosourea Induced Retinal Degeneration: A Topographic Study. *Front. Pharmacol.* 8, 587. doi: 10.3389/fphar.2017.00587.
- Taub, M., Parker, R., Mathivanan, P., Ariff, M. A. M., and Rudra, T. (2014). Antagonism of the prostaglandin E2 EP1 receptor in MDCK cells increases growth through activation of Akt and the epidermal growth factor receptor. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 307, F539–550. doi: 10.1152/ajprenal.00510.2013.
- Therland, K. L., Stubbe, J., Thiesson, H. C., Ottosen, P. D., Walter, S., Sørensen, G. L., et al. (2004). Cyclooxygenase-2 is expressed in vasculature of normal and ischemic adult human kidney and is colocalized with vascular prostaglandin E2 EP4 receptors. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 15, 1189–1198. doi: 10.1097/01.asn.0000124673.79934.24.
- Thibodeau, J.-F., Nasrallah, R., Carter, A., He, Y., Touyz, R., Hébert, R. L., et al. (2013). PTGER1 deletion attenuates renal injury in diabetic mouse models. *Am. J. Pathol.* 183, 1789–1802. doi: 10.1016/j.ajpath.2013.08.022.
- Thieme, K., Majumder, S., Brijmohan, A. S., Batchu, S. N., Bowskill, B. B., Alghamdi, T. A., et

- al. (2017). EP4 inhibition attenuates the development of diabetic and non-diabetic experimental kidney disease. *Sci. Rep.* 7, 3442. doi: 10.1038/s41598-017-03237-3.
- Thomas, P. E., Peters-Golden, M., White, E. S., Thannickal, V. J., and Moore, B. B. (2007). PGE(2) inhibition of TGF-beta1-induced myofibroblast differentiation is Smad-independent but involves cell shape and adhesion-dependent signaling. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 293, L417-428. doi: 10.1152/ajplung.00489.2006.
- Tobin, J. L., and Beales, P. L. (2008). Restoration of renal function in zebrafish models of ciliopathies. *Pediatr. Nephrol. Berl. Ger.* 23, 2095–2099. doi: 10.1007/s00467-008-0898-7.
- Torres, V. E., Chapman, A. B., Devuyst, O., Gansevoort, R. T., Grantham, J. J., Higashihara, E., et al. (2012). Tolvaptan in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *N. Engl. J. Med.* 367, 2407–2418. doi: 10.1056/NEJMoa1205511.
- Torres, V. E., Chapman, A. B., Devuyst, O., Gansevoort, R. T., Perrone, R. D., Koch, G., et al. (2017). Tolvaptan in Later-Stage Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *N. Engl. J. Med.* 377, 1930–1942. doi: 10.1056/NEJMoa1710030.
- Tory, K., Lacoste, T., Burglen, L., Morinière, V., Boddaert, N., Macher, M.-A., et al. (2007). High NPHP1 and NPHP6 mutation rate in patients with Joubert syndrome and nephronophthisis: potential epistatic effect of NPHP6 and AHI1 mutations in patients with NPHP1 mutations. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 18, 1566–1575. doi: 10.1681/ASN.2006101164.
- Tory, K., Rousset-Rouvière, C., Gubler, M.-C., Morinière, V., Pawtowski, A., Becker, C., et al. (2009). Mutations of NPHP2 and NPHP3 in infantile nephronophthisis. *Kidney Int.* 75, 839–847. doi: 10.1038/ki.2008.662.
- Tran, P. V., Haycraft, C. J., Besschetnova, T. Y., Turbe-Doan, A., Stottmann, R. W., Herron, B. J., et al. (2008). THM1 negatively modulates mouse sonic hedgehog signal transduction and affects retrograde intraflagellar transport in cilia. *Nat. Genet.* 40, 403–410. doi: 10.1038/ng.105.
- Tran, P. V., Talbott, G. C., Turbe-Doan, A., Jacobs, D. T., Schonfeld, M. P., Silva, L. M., et al. (2014). Downregulating hedgehog signaling reduces renal cystogenic potential of mouse models. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 25, 2201–2212. doi: 10.1681/ASN.2013070735.
- Trebino, C. E., Stock, J. L., Gibbons, C. P., Naiman, B. M., Wachtmann, T. S., Umland, J. P., et al. (2003). Impaired inflammatory and pain responses in mice lacking an inducible prostaglandin E synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 9044–9049. doi: 10.1073/pnas.1332766100.
- Truong, M. E., Bilekova, S., Choksi, S. P., Li, W., Bugaj, L. J., Xu, K., et al. (2021). Vertebrate cells differentially interpret ciliary and extraciliary cAMP. *Cell* 184, 2911-2926.e18. doi: 10.1016/j.cell.2021.04.002.
- Tsai, Y.-T., Lo, W.-L., Chen, P.-Y., Ko, C.-Y., Chuang, J.-Y., Kao, T.-J., et al. (2022). Reprogramming of arachidonate metabolism confers temozolomide resistance to glioblastoma through enhancing mitochondrial activity in fatty acid oxidation. *J. Biomed. Sci.* 29, 21. doi: 10.1186/s12929-022-00804-3.
- Tsao, C.-C., and Gorovsky, M. A. (2008). Tetrahymena IFT122A is not essential for cilia assembly but plays a role in returning IFT proteins from the ciliary tip to the cell body. *J. Cell Sci.* 121, 428–436. doi: 10.1242/jcs.015826.

- Tsvetkov, L. M., Yeh, K. H., Lee, S. J., Sun, H., and Zhang, H. (1999). p27(Kip1) ubiquitination and degradation is regulated by the SCF(Skp2) complex through phosphorylated Thr187 in p27. *Curr. Biol. CB* 9, 661–664. doi: 10.1016/s0960-9822(99)80290-5.
- Tuson, M., He, M., and Anderson, K. V. (2011). Protein kinase A acts at the basal body of the primary cilium to prevent Gli2 activation and ventralization of the mouse neural tube. *Dev. Camb. Engl.* 138, 4921–4930. doi: 10.1242/dev.070805.
- Uchimura, K., Wu, H., Yoshimura, Y., and Humphreys, B. D. (2020). Human Pluripotent Stem Cell-Derived Kidney Organoids with Improved Collecting Duct Maturation and Injury Modeling. *Cell Rep.* 33, 108514. doi: 10.1016/j.celrep.2020.108514.
- Uhlén, M., Fagerberg, L., Hallström, B. M., Lindskog, C., Oksvold, P., Mardinoglu, A., et al. (2015). Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science* 347, 1260419. doi: 10.1126/science.1260419.
- Ungricht, R., Guibbal, L., Lasbennes, M.-C., Orsini, V., Beibel, M., Waldt, A., et al. (2022). Genome-wide screening in human kidney organoids identifies developmental and disease-related aspects of nephrogenesis. *Cell Stem Cell* 29, 160-175.e7. doi: 10.1016/j.stem.2021.11.001.
- Utsch, B., Sayer, J. A., Attanasio, M., Pereira, R. R., Eccles, M., Hennies, H.-C., et al. (2006). Identification of the first AHI1 gene mutations in nephronophthisis-associated Joubert syndrome. *Pediatr. Nephrol. Berl. Ger.* 21, 32–35. doi: 10.1007/s00467-005-2054-y.
- Valente, E. M., Logan, C. V., Mougou-Zerelli, S., Lee, J. H., Silhavy, J. L., Brancati, F., et al. (2010). Mutations in TMEM216 perturb ciliogenesis and cause Joubert, Meckel and related syndromes. *Nat. Genet.* 42, 619–625. doi: 10.1038/ng.594.
- Valente, E. M., Silhavy, J. L., Brancati, F., Barrano, G., Krishnaswami, S. R., Castori, M., et al. (2006). Mutations in CEP290, which encodes a centrosomal protein, cause pleiotropic forms of Joubert syndrome. *Nat. Genet.* 38, 623–625. doi: 10.1038/ng1805.
- van Adelsberg, J. (1994). Murine polycystic kidney epithelial cell lines have increased integrin-mediated adhesion to collagen. *Am. J. Physiol.* 267, F1082-1093. doi: 10.1152/ajprenal.1994.267.6.F1082.
- van der Heijden, B. J., Carlus, C., Narcy, F., Bavoux, F., Delezoide, A. L., and Gubler, M. C. (1994). Persistent anuria, neonatal death, and renal microcystic lesions after prenatal exposure to indomethacin. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 171, 617–623. doi: 10.1016/0002-9378(94)90073-6.
- van Os, C. H., and Deen, P. M. (1998). Aquaporin-2 water channel mutations causing nephrogenic diabetes insipidus. *Proc. Assoc. Am. Physicians* 110, 395–400.
- Vane, J. R. (1971). Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature. New Biol.* 231, 232–235. doi: 10.1038/newbio231232a0.
- Verkman, A. S. (2008). Dissecting the roles of aquaporins in renal pathophysiology using transgenic mice. *Semin. Nephrol.* 28, 217–226. doi: 10.1016/j.semnephrol.2008.03.004.
- Verschuren, E. H. J., Castenmiller, C., Peters, D. J. M., Arjona, F. J., Bindels, R. J. M., and Hoenderop, J. G. J. (2020). Sensing of tubular flow and renal electrolyte transport. *Nat. Rev. Nephrol.* 16, 337–351. doi: 10.1038/s41581-020-0259-8.
- Verschuren, E. H. J., Mohammed, S. G., Leonhard, W. N., Overmars-Bos, C., Veraar, K.,

- Hoenderop, J. G. J., et al. (2018). Polycystin-1 dysfunction impairs electrolyte and water handling in a renal precystic mouse model for ADPKD. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 315, F537–F546. doi: 10.1152/ajprenal.00622.2017.
- Viau, A., Bienaimé, F., Lukas, K., Todkar, A. P., Knoll, M., Yakulov, T. A., et al. (2018). Cilia-localized LKB1 regulates chemokine signaling, macrophage recruitment, and tissue homeostasis in the kidney. *EMBO J.* 37, e98615. doi: 10.15252/embj.201798615.
- Vijayakumar, S., Dang, S., Marinkovich, M. P., Lazarova, Z., Yoder, B., Torres, V. E., et al. (2014). Aberrant expression of laminin-332 promotes cell proliferation and cyst growth in ARPKD. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 306, F640-654. doi: 10.1152/ajprenal.00104.2013.
- Villumsen, B. H., Danielsen, J. R., Povlsen, L., Sylvestersen, K. B., Merdes, A., Beli, P., et al. (2013). A new cellular stress response that triggers centriolar satellite reorganization and ciliogenesis. *EMBO J.* 32, 3029–3040. doi: 10.1038/emboj.2013.223.
- Vio, C. P., Quiroz-Munoz, M., Cuevas, C. A., Cespedes, C., and Ferreri, N. R. (2012). Prostaglandin E2 EP3 receptor regulates cyclooxygenase-2 expression in the kidney. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 303, F449-457. doi: 10.1152/ajprenal.00634.2011.
- Vleeshouwers, W., van den Dries, K., de Keijzer, S., Joosten, B., Lidke, D. S., and Cambi, A. (2020). Characterization of the Signaling Modalities of Prostaglandin E2 Receptors EP2 and EP4 Reveals Crosstalk and a Role for Microtubules. *Front. Immunol.* 11, 613286. doi: 10.3389/fimmu.2020.613286.
- von Euler, U. S. (1936). On the specific vaso-dilating and plain muscle stimulating substances from accessory genital glands in man and certain animals (prostaglandin and vesiglandin). *J. Physiol.* 88, 213–234. doi: 10.1113/jphysiol.1936.sp003433.
- Vonkeman, H. E., and van de Laar, M. A. F. J. (2010). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: adverse effects and their prevention. *Semin. Arthritis Rheum.* 39, 294–312. doi: 10.1016/j.semarthrit.2008.08.001.
- Vukicevic, S., Simic, P., Borovecki, F., Grgurevic, L., Rogic, D., Orlic, I., et al. (2006). Role of EP2 and EP4 receptor-selective agonists of prostaglandin E(2) in acute and chronic kidney failure. *Kidney Int.* 70, 1099–1106. doi: 10.1038/sj.ki.5001715.
- Wahlang, B., McClain, C., Barve, S., and Gobejishvili, L. (2018). Role of cAMP and phosphodiesterase signaling in liver health and disease. *Cell. Signal.* 49, 105–115. doi: 10.1016/j.cellsig.2018.06.005.
- Walkin, L., Herrick, S. E., Summers, A., Brenchley, P. E., Hoff, C. M., Korstanje, R., et al. (2013). The role of mouse strain differences in the susceptibility to fibrosis: a systematic review. *Fibrogenesis Tissue Repair* 6, 18. doi: 10.1186/1755-1536-6-18.
- Wallace, J. L. (2019). Eicosanoids in the gastrointestinal tract. *Br. J. Pharmacol.* 176, 1000–1008. doi: 10.1111/bph.14178.
- Wallmeier, J., Nielsen, K. G., Kuehni, C. E., Lucas, J. S., Leigh, M. W., Zariwala, M. A., et al. (2020). Motile ciliopathies. *Nat. Rev. Dis. Primer* 6, 77. doi: 10.1038/s41572-020-0209-6.
- Wang, D., and Dubois, R. N. (2010). Eicosanoids and cancer. *Nat. Rev. Cancer* 10, 181–193. doi: 10.1038/nrc2809.
- Wang, F., Lu, X., Peng, K., Du, Y., Zhou, S.-F., Zhang, A., et al. (2014a). Prostaglandin E-prostanoid4 receptor mediates angiotensin II-induced (pro)renin receptor expression in the

- rat renal medulla. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 64, 369–377. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03654.
- Wang, F., Lu, X., Peng, K., Fang, H., Zhou, L., Su, J., et al. (2016a). Antidiuretic Action of Collecting Duct (Pro)Renin Receptor Downstream of Vasopressin and PGE2 Receptor EP4. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 27, 3022–3034. doi: 10.1681/ASN.2015050592.
- Wang, G., Chen, Q., Zhang, X., Zhang, B., Zhuo, X., Liu, J., et al. (2013). PCM1 recruits Plk1 to the pericentriolar matrix to promote primary cilia disassembly before mitotic entry. *J. Cell Sci.* 126, 1355–1365. doi: 10.1242/jcs.114918.
- Wang, H., Deng, J. L., Yue, J., Li, J., and Hou, Y. B. (2010a). Prostaglandin E1 for preventing the progression of diabetic kidney disease. *Cochrane Database Syst. Rev.*, CD006872. doi: 10.1002/14651858.CD006872.pub2.
- Wang, H.-Y., Lin, C.-H., Shen, Y.-R., Chen, T.-Y., Wang, C.-Y., and Kuo, P.-L. (2021). Protein Kinase A-Mediated Septin7 Phosphorylation Disrupts Septin Filaments and Ciliogenesis. *Cells* 10, 361. doi: 10.3390/cells10020361.
- Wang, L., Lee, K., Malonis, R., Sanchez, I., and Dynlacht, B. D. (2016b). Tethering of an E3 ligase by PCM1 regulates the abundance of centrosomal KIAA0586/Talpid3 and promotes ciliogenesis. *eLife* 5, e12950. doi: 10.7554/eLife.12950.
- Wang, L., Wu, Y., Jia, Z., Yu, J., and Huang, S. (2022). Roles of EP Receptors in the Regulation of Fluid Balance and Blood Pressure. *Front. Endocrinol.* 13, 875425. doi: 10.3389/fendo.2022.875425.
- Wang, S., Livingston, M. J., Su, Y., and Dong, Z. (2015). Reciprocal regulation of cilia and autophagy via the MTOR and proteasome pathways. *Autophagy* 11, 607–616. doi: 10.1080/15548627.2015.1023983.
- Wang, W., Wu, T., and Kirschner, M. W. (2014b). The master cell cycle regulator APC-Cdc20 regulates ciliary length and disassembly of the primary cilium. *eLife* 3, e03083. doi: 10.7554/eLife.03083.
- Wang, Z., Ying, Z., Bosy-Westphal, A., Zhang, J., Schautz, B., Later, W., et al. (2010b). Specific metabolic rates of major organs and tissues across adulthood: evaluation by mechanistic model of resting energy expenditure. *Am. J. Clin. Nutr.* 92, 1369–1377. doi: 10.3945/ajcn.2010.29885.
- Wann, A. K. T., Zuo, N., Haycraft, C. J., Jensen, C. G., Poole, C. A., McGlashan, S. R., et al. (2012). Primary cilia mediate mechanotransduction through control of ATP-induced Ca²⁺ signaling in compressed chondrocytes. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 26, 1663–1671. doi: 10.1096/fj.11-193649.
- Watanabe, S., Ino, J., Fujimaru, T., Taneda, S., Akihisa, T., Makabe, S., et al. (2019). PKD1 mutation may epistatically ameliorate nephronophthisis progression in patients with NPHP1 deletion. *Clin. Case Rep.* 7, 336–339. doi: 10.1002/ccr3.1947.
- Wei, Q., Xu, Q., Zhang, Y., Li, Y., Zhang, Q., Hu, Z., et al. (2013). Transition fibre protein FBF1 is required for the ciliary entry of assembled intraflagellar transport complexes. *Nat. Commun.* 4, 2750. doi: 10.1038/ncomms3750.
- Westlake, C. J., Baye, L. M., Nachury, M. V., Wright, K. J., Ervin, K. E., Phu, L., et al. (2011). Primary cilia membrane assembly is initiated by Rab11 and transport protein particle II

- (TRAPP1) complex-dependent trafficking of Rabin8 to the centrosome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 2759–2764. doi: 10.1073/pnas.1018823108.
- Wheway, G., Schmidts, M., Mans, D. A., Szymanska, K., Nguyen, T.-M. T., Racher, H., et al. (2015). An siRNA-based functional genomics screen for the identification of regulators of ciliogenesis and ciliopathy genes. *Nat. Cell Biol.* 17, 1074–1087. doi: 10.1038/ncb3201.
- Wiegering, A., Dildrop, R., Vesque, C., Khanna, H., Schneider-Maunoury, S., and Gerhardt, C. (2021). Rpgrip1l controls ciliary gating by ensuring the proper amount of Cep290 at the vertebrate transition zone. *Mol. Biol. Cell* 32, 675–689. doi: 10.1091/mbc.E20-03-0190.
- Wiik, A. C., Wade, C., Biagi, T., Ropstad, E.-O., Bjerkås, E., Lindblad-Toh, K., et al. (2008). A deletion in nephronophthisis 4 (NPHP4) is associated with recessive cone-rod dystrophy in standard wire-haired dachshund. *Genome Res.* 18, 1415–1421. doi: 10.1101/gr.074302.107.
- Willems, E., Dedobbeleer, M., Digregorio, M., Lombard, A., Lumapat, P. N., and Rogister, B. (2018). The functional diversity of Aurora kinases: a comprehensive review. *Cell Div.* 13, 7. doi: 10.1186/s13008-018-0040-6.
- Williams, C. L., Li, C., Kida, K., Inglis, P. N., Mohan, S., Semenec, L., et al. (2011). MKS and NPHP modules cooperate to establish basal body/transition zone membrane associations and ciliary gate function during ciliogenesis. *J. Cell Biol.* 192, 1023–1041. doi: 10.1083/jcb.201012116.
- Wingfield, J. L., Mengoni, I., Bomberger, H., Jiang, Y.-Y., Walsh, J. D., Brown, J. M., et al. (2017). IFT trains in different stages of assembly queue at the ciliary base for consecutive release into the cilium. *eLife* 6, e26609. doi: 10.7554/eLife.26609.
- Wodarczyk, C., Distefano, G., Rowe, I., Gaetani, M., Bricoli, B., Muorah, M., et al. (2010). Nephrocystin-1 forms a complex with polycystin-1 via a polyproline motif/SH3 domain interaction and regulates the apoptotic response in mammals. *PLoS One* 5, e12719. doi: 10.1371/journal.pone.0012719.
- Wolf, M. T. F. (2015). Nephronophthisis and related syndromes. *Curr. Opin. Pediatr.* 27, 201–211. doi: 10.1097/MOP.0000000000000194.
- Wolf, M. T. F., and Hildebrandt, F. (2011). Nephronophthisis. *Pediatr. Nephrol. Berl. Ger.* 26, 181–194. doi: 10.1007/s00467-010-1585-z.
- Won, J., Marín de Esvikova, C., Smith, R. S., Hicks, W. L., Edwards, M. M., Longo-Guess, C., et al. (2011). NPHP4 is necessary for normal photoreceptor ribbon synapse maintenance and outer segment formation, and for sperm development. *Hum. Mol. Genet.* 20, 482–496. doi: 10.1093/hmg/ddq494.
- Woodward, D. F., Jones, R. L., and Narumiya, S. (2011). International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXIII: classification of prostanoid receptors, updating 15 years of progress. *Pharmacol. Rev.* 63, 471–538. doi: 10.1124/pr.110.003517.
- Wootten, D., Christopoulos, A., Marti-Solano, M., Babu, M. M., and Sexton, P. M. (2018). Mechanisms of signalling and biased agonism in G protein-coupled receptors. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 19, 638–653. doi: 10.1038/s41580-018-0049-3.
- Wu, C.-T., Chen, H.-Y., and Tang, T. K. (2018). Myosin-Va is required for preciliary vesicle transportation to the mother centriole during ciliogenesis. *Nat. Cell Biol.* 20, 175–185. doi: 10.1038/s41556-017-0018-7.

- Wu, C.-T., Hilgendorf, K. I., Bevacqua, R. J., Hang, Y., Demeter, J., Kim, S. K., et al. (2021). Discovery of ciliary G protein-coupled receptors regulating pancreatic islet insulin and glucagon secretion. *Genes Dev.* 35, 1243–1255. doi: 10.1101/gad.348261.121.
- Xiang, W., Jiang, T., Hao, X., Wang, R., Yao, X., Sun, K., et al. (2019). Primary cilia and autophagy interaction is involved in mechanical stress mediated cartilage development via ERK/mTOR axis. *Life Sci.* 218, 308–313. doi: 10.1016/j.lfs.2019.01.001.
- Xu, J., Li, H., Wang, B., Xu, Y., Yang, J., Zhang, X., et al. (2010). VHL inactivation induces HIF1 and Aurora kinase A. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 21, 2041–2046. doi: 10.1681/ASN.2010040345.
- Xu, J., Zhou, L., and Liu, Y. (2020). Cellular Senescence in Kidney Fibrosis: Pathologic Significance and Therapeutic Strategies. *Front. Pharmacol.* 11, 601325. doi: 10.3389/fphar.2020.601325.
- Yakulov, T. A., Yasunaga, T., Ramachandran, H., Engel, C., Müller, B., Hoff, S., et al. (2015). Anks3 interacts with nephronophthisis proteins and is required for normal renal development. *Kidney Int.* 87, 1191–1200. doi: 10.1038/ki.2015.17.
- Yamaguchi, T., Devassy, J. G., Gabbs, M., Ravandi, A., Nagao, S., and Aukema, H. M. (2015). Dietary flax oil rich in α -linolenic acid reduces renal disease and oxylipin abnormalities, including formation of docosahexaenoic acid derived oxylipins in the CD1-*pcy/pcy* mouse model of nephronophthisis. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 94, 83–89. doi: 10.1016/j.plefa.2014.11.009.
- Yamaguchi, T., Lysecki, C., Reid, A., Nagao, S., and Aukema, H. M. (2014). Renal cyclooxygenase products are higher and lipoxygenase products are lower in early disease in the *pcy* mouse model of adolescent nephronophthisis. *Lipids* 49, 39–47. doi: 10.1007/s11745-013-3859-2.
- Yamamoto, E., Izawa, T., Sawamoto, O., Juniantito, V., Kuwamura, M., and Yamate, J. (2012). Amelioration of cisplatin-induced rat renal lesions by a cyclooxygenase (COX)-2 selective inhibitor. *Exp. Toxicol. Pathol. Off. J. Ges. Toxikol. Pathol.* 64, 625–631. doi: 10.1016/j.etp.2010.12.005.
- Yamamoto, Y., Chino, H., Tsukamoto, S., Ode, K. L., Ueda, H. R., and Mizushima, N. (2021). NEK9 regulates primary cilia formation by acting as a selective autophagy adaptor for MYH9/myosin IIA. *Nat. Commun.* 12, 3292. doi: 10.1038/s41467-021-23599-7.
- Yang, G., Xu, Y., Fan, Y., Wang, J., Chen, X., Zhang, Y., et al. (2014). A maladaptive role for EP4 receptors in mouse mesangial cells. *PLoS One* 9, e104091. doi: 10.1371/journal.pone.0104091.
- Yang, T., and Du, Y. (2012). Distinct roles of central and peripheral prostaglandin E2 and EP subtypes in blood pressure regulation. *Am. J. Hypertens.* 25, 1042–1049. doi: 10.1038/ajh.2012.67.
- Yang, T., Endo, Y., Huang, Y. G., Smart, A., Briggs, J. P., and Schnermann, J. (2000). Renin expression in COX-2-knockout mice on normal or low-salt diets. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 279, F819–825. doi: 10.1152/ajprenal.2000.279.5.F819.
- Yang, T., Singh, I., Pham, H., Sun, D., Smart, A., Schnermann, J. B., et al. (1998). Regulation of cyclooxygenase expression in the kidney by dietary salt intake. *Am. J. Physiol.* 274, F481–489.

doi: 10.1152/ajprenal.1998.274.3.F481.

Yang, T. T., Chong, W. M., Wang, W.-J., Mazo, G., Tanos, B., Chen, Z., et al. (2018). Super-resolution architecture of mammalian centriole distal appendages reveals distinct blade and matrix functional components. *Nat. Commun.* 9, 2023. doi: 10.1038/s41467-018-04469-1.

Yang, T. T., Su, J., Wang, W.-J., Craige, B., Witman, G. B., Tsou, M.-F. B., et al. (2015). Superresolution Pattern Recognition Reveals the Architectural Map of the Ciliary Transition Zone. *Sci. Rep.* 5, 14096. doi: 10.1038/srep14096.

Yanochko, G. M., Affolter, T., Eighmy, J. J., Evans, M. G., Khoh-Reiter, S., Lee, D., et al. (2014). Investigation of ocular events associated with taprenepag isopropyl, a topical EP2 agonist in development for treatment of glaucoma. *J. Ocul. Pharmacol. Ther. Off. J. Assoc. Ocul. Pharmacol. Ther.* 30, 429–439. doi: 10.1089/jop.2013.0222.

Yao, C., Sakata, D., Esaki, Y., Li, Y., Matsuoka, T., Kuroiwa, K., et al. (2009). Prostaglandin E2-EP4 signaling promotes immune inflammation through Th1 cell differentiation and Th17 cell expansion. *Nat. Med.* 15, 633–640. doi: 10.1038/nm.1968.

Yazlovitskaya, E. M., Plosa, E., Bock, F., Viquez, O. M., Mernaugh, G., Gewin, L. S., et al. (2021). The laminin-binding integrins regulate nuclear factor κ B-dependent epithelial cell polarity and inflammation. *J. Cell Sci.* 134, jcs259161. doi: 10.1242/jcs.259161.

Ye, F., Nager, A. R., and Nachury, M. V. (2018). BBSome trains remove activated GPCRs from cilia by enabling passage through the transition zone. *J. Cell Biol.* 217, 1847–1868. doi: 10.1083/jcb.201709041.

Ye, H., Wang, X., Constans, M. M., Sussman, C. R., Chebib, F. T., Irazabal, M. V., et al. (2017). The regulatory 1α subunit of protein kinase A modulates renal cystogenesis. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 313, F677–F686. doi: 10.1152/ajprenal.00119.2017.

Yee, L. E., Garcia-Gonzalo, F. R., Bowie, R. V., Li, C., Kennedy, J. K., Ashrafi, K., et al. (2015). Conserved Genetic Interactions between Ciliopathy Complexes Cooperatively Support Ciliogenesis and Ciliary Signaling. *PLoS Genet.* 11, e1005627. doi: 10.1371/journal.pgen.1005627.

Ying, F., Cai, Y., Cai, Y., Wang, Y., and Tang, E. H. C. (2017). Prostaglandin E receptor subtype 4 regulates lipid droplet size and mitochondrial activity in murine subcutaneous white adipose tissue. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 31, 4023–4036. doi: 10.1096/fj.201700191R.

Yokoyama, U., Iwatsubo, K., Umemura, M., Fujita, T., and Ishikawa, Y. (2013). The prostanoid EP4 receptor and its signaling pathway. *Pharmacol. Rev.* 65, 1010–1052. doi: 10.1124/pr.112.007195.

Yousef Yengej, F. A., Jansen, J., Rookmaaker, M. B., Verhaar, M. C., and Clevers, H. (2020). Kidney Organoids and Tubuloids. *Cells* 9, E1326. doi: 10.3390/cells9061326.

Yu, Y., Fan, J., Hui, Y., Rouzer, C. A., Marnett, L. J., Klein-Szanto, A. J., et al. (2007). Targeted cyclooxygenase gene (ptgs) exchange reveals discriminant isoform functionality. *J. Biol. Chem.* 282, 1498–1506. doi: 10.1074/jbc.M609930200.

Yuan, Q., Tan, R. J., and Liu, Y. (2019). Myofibroblast in Kidney Fibrosis: Origin, Activation, and Regulation. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1165, 253–283. doi: 10.1007/978-981-13-8871-2_12.

Yukimoto, H., Miyamoto, T., Kiyono, T., Wang, S., Matsuura, S., Mizoguchi, A., et al. (2020). A

- novel CDK-independent function of p27Kip1 in preciliary vesicle trafficking during ciliogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 527, 716–722. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.05.048.
- Yun, S. P., Ryu, J. M., Jang, M. W., and Han, H. J. (2011). Interaction of profilin-1 and F-actin via a β -arrestin-1/JNK signaling pathway involved in prostaglandin E(2)-induced human mesenchymal stem cells migration and proliferation. *J. Cell. Physiol.* 226, 559–571. doi: 10.1002/jcp.22366.
- Zaccolo, M., and Pozzan, T. (2003). cAMP and Ca²⁺ interplay: a matter of oscillation patterns. *Trends Neurosci.* 26, 53–55. doi: 10.1016/s0166-2236(02)00017-6.
- Zemirli, N., Boukhalifa, A., Dupont, N., Botti, J., Codogno, P., and Morel, E. (2019). The primary cilium protein folliculin is part of the autophagy signaling pathway to regulate epithelial cell size in response to fluid flow. *Cell Stress* 3, 100–109. doi: 10.15698/cst2019.03.180.
- Zhang, J., Muise, E. S., Han, S., Kutchukian, P. S., Costet, P., Zhu, Y., et al. (2020). Molecular Profiling Reveals a Common Metabolic Signature of Tissue Fibrosis. *Cell Rep. Med.* 1, 100056. doi: 10.1016/j.xcrm.2020.100056.
- Zhang, R., Tang, J., Li, T., Zhou, J., and Pan, W. (2022). INPP5E and Coordination of Signaling Networks in Cilia. *Front. Mol. Biosci.* 9, 885592. doi: 10.3389/fmolb.2022.885592.
- Zhang, Y.-C., Bai, Y.-F., Yuan, J.-F., Shen, X.-L., Xu, Y.-L., Jian, X.-X., et al. (2021). CEP55 promotes cilia disassembly through stabilizing Aurora A kinase. *J. Cell Biol.* 220, e202003149. doi: 10.1083/jcb.202003149.
- Zhu, P., Qiu, Q., Harris, P. C., Xu, X., and Lin, X. (2021). mtor Haploinsufficiency Ameliorates Renal Cysts and Cilia Abnormality in Adult Zebrafish *tmem67* Mutants. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN*, ASN.2020070991. doi: 10.1681/ASN.2020070991.
- Zieba, B. J., Artamonov, M. V., Jin, L., Momotani, K., Ho, R., Franke, A. S., et al. (2011). The cAMP-responsive Rap1 guanine nucleotide exchange factor, Epac, induces smooth muscle relaxation by down-regulation of RhoA activity. *J. Biol. Chem.* 286, 16681–16692. doi: 10.1074/jbc.M110.205062.
- Ziegler, W. H., Lüdiger, S., Hassan, F., Georgiadis, M. E., Swolana, K., Khera, A., et al. (2022). Primary URECs: a source to better understand the pathology of renal tubular epithelia in pediatric hereditary cystic kidney diseases. *Orphanet J. Rare Dis.* 17, 122. doi: 10.1186/s13023-022-02265-1.
- Zoja, C., Xinari, C., and Macconi, D. (2020). Diabetic Nephropathy: Novel Molecular Mechanisms and Therapeutic Targets. *Front. Pharmacol.* 11, 586892. doi: 10.3389/fphar.2020.586892.
- Zollinger, H. U., Mihatsch, M. J., Edefonti, A., Gaboardi, F., Imbasciati, E., and Lennert, T. (1980). Nephronophthisis (medullary cystic disease of the kidney). A study using electron microscopy, immunofluorescence, and a review of the morphological findings. *Helv. Paediatr. Acta* 35, 509–530.

ANNEXES

| Ciliary localization Function | Gene | Locus | Extraciliary localization/function | NPH subtype(s) | Extrarenal features (Halbritter et al., 2013b; Braun and Hildebrandt, 2017; König et al., 2017; Luo and Tao, 2018) | References |
|---|-----------------------|---------------|---|----------------------------|--|--|
| Transition zone (TZ) | <i>NPHP1</i> | <i>NPHP1</i> | Cell junctions | Juvenile, adult | Retinitis pigmentosa, neurologic symptoms, liver disease | Hildebrandt et al. (1997); Saunier et al. (1997) |
| | <i>NPHP4</i> | <i>NPHP4</i> | Cell junctions Hippo signaling | Juvenile, adult | Retinitis pigmentosa, neurologic symptoms, congenital heart disease, liver disease (all infrequent) | Mollet et al. (2002); Otto et al. (2002) |
| | <i>IQCB1</i> | <i>NPHP5</i> | - | Juvenile, adult | Retinitis pigmentosa (in all patients), leber congenital amaurosis, neurologic symptoms | Otto et al. (2005); Estrada-Cuzzano et al. (2011) |
| | <i>CEP290</i> | <i>NPHP6</i> | DDR signaling | Infantile, juvenile, adult | Retinitis pigmentosa, leber congenital amaurosis, neurologic symptoms, liver disease | Sayer et al. (2006); Valente et al. (2006); Helou et al. (2007); Toly et al. (2007) |
| | <i>RFGRIPL1</i> | <i>NPHP8</i> | - | Infantile, juvenile, adult | Retinitis pigmentosa, neurologic symptoms, liver disease, polydactyly | Arts et al. (2007); Delouis et al. (2007); Wolf et al. (2007) |
| | <i>TMEM67</i> | <i>NPHP11</i> | - | Infantile, juvenile, adult | Retinitis pigmentosa, neurologic symptoms, liver disease, polydactyly | Smith U. M. et al. (2006) |
| Intratelagellar transport complex IFT-B | <i>IFT172</i> | <i>NPHP17</i> | - | Infantile, juvenile, adult | Retinitis pigmentosa, neurologic symptoms, liver disease, skeletal anomalies, polydactyly | Halbritter et al. (2013a) |
| | <i>TRAF3IP1/IFT54</i> | <i>SLNS9</i> | Microtubule dynamics | Infantile, Juvenile | Retinitis pigmentosa, hepatic fibrosis, skeletal anomalies, obesity | Bizat et al. (2015) |
| Intratelagellar transport complex IFT-A | <i>TTC21B/IFT139</i> | <i>NPHP12</i> | Microtubule dynamics | Infantile, juvenile | Neurologic symptoms, situs inversus, liver disease, skeletal anomalies | Davis et al. (2011); Cong et al. (2014) |
| | <i>WDR19/IFT144</i> | <i>NPHP13</i> | - | Infantile, juvenile | Retinitis pigmentosa, liver disease (especially Caroli disease), pancreas anomalies, skeletal anomalies | Bredrup et al. (2011) |
| Inversin compartment | <i>INVS</i> | <i>NPHP2</i> | Cell junctions; mitotic spindle poles; midbody | Infantile, juvenile | Retinitis pigmentosa, neurologic symptoms, situs inversus, congenital heart disease, liver disease | Otto et al. (2003); O'Toole et al. (2006); Toly et al. (2009) |
| | <i>NPHP3</i> | <i>NPHP3</i> | - | Infantile, juvenile, adult | Retinitis pigmentosa, neurologic symptoms, situs inversus, congenital heart defect, liver disease | Omran et al. (2000); Olbrich et al. (2003); Bergmann et al. (2008); Toly et al. (2009) |
| | <i>NEK8</i> | <i>NPHP9</i> | DDR and Hippo signaling | Infantile, juvenile | Situs inversus, congenital heart disease, liver disease, pancreas anomalies | Otto et al. (2008); Grampa et al. (2016) |
| | <i>ANKS6</i> | <i>NPHP16</i> | - | Infantile, juvenile, adult | Neurologic symptoms, situs inversus, congenital heart disease, liver disease | Hoff et al. (2013); Taskiran et al. (2014) |
| Basal body | <i>SDCCAG8</i> | <i>NPHP10</i> | DDR signaling | Infantile, juvenile, adult | Retinitis pigmentosa, neurologic symptoms, obesity, hypogonadism | Otto et al. (2010); Watanabe et al. (2019) |
| | <i>CEP164</i> | <i>NPHP15</i> | DDR signaling | Juvenile | Retinitis pigmentosa, Leber congenital amaurosis, neurologic symptoms, liver disease, polydactyly | Chaki et al. (2012) |
| | <i>CEP83</i> | <i>NPHP18</i> | - | Infantile, juvenile | Retinitis pigmentosa, neurologic symptoms, liver disease | Failler et al. (2014) |
| Near basal body | <i>ADAMTS9</i> | <i>NPHP21</i> | Metalloproteinase function, protein trafficking | Infantile, juvenile | Deathness, short stature, developmental delay | Choi et al. (2019); Nandadassa et al. (2019) |
| Ciliary axoneme | <i>GLIS2</i> | <i>NPHP7</i> | Nucleus, role in transcription | Juvenile | - | Attanasio et al. (2007) |
| | <i>DDCC2</i> | <i>NPHP19</i> | Microtubule dynamics, Wnt signaling | Juvenile | Liver disease, deathness | Schueler et al. (2015) |
| No ciliary localization | <i>ZNF423</i> | <i>NPHP14</i> | DDR signaling and transcription | Infantile | Neurologic symptoms, situs inversus | Chaki et al. (2012) |
| | <i>MAPKBP1</i> | <i>NPHP20</i> | DDR and JNK signaling; Mitotic spindle poles during mitosis | Juvenile, adult | Scoliosis, facial dysmorphism ¹ | Macia et al. (2017) |

Presence and severity of extrarenal features varies between patients. ¹ Tentative association in one and two families, respectively.

Annexe 1 : Liste des gènes *NPHP* officiels, localisation cellulaire, forme de NPH et symptômes extra-rénaux.

IFT140 n'est pas présent dans ce tableau. Extrait de Stokman et al., 2021.

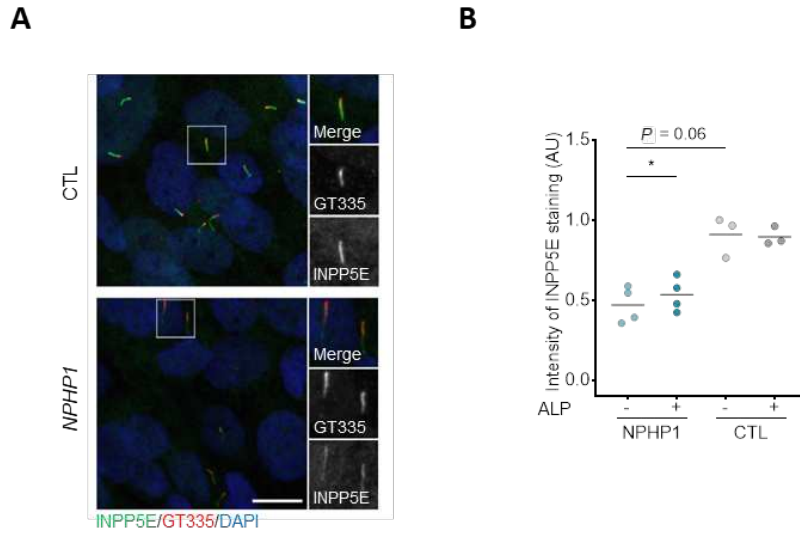
| Symptômes | Syndrome |
|--|--|
| Maladies oculaires | |
| Rétinite pigmentaire | Syndrome de Senior-Løken Syndrome de Joubert Syndrome d'Alstrom Syndrome de RHYNS |
| Apraxie oculomotrice | Syndrome de Cogan |
| Nystagmus | JBTS |
| Colobome oculaire | JBTS |
| Maladies neurologiques | |
| Ataxie cérébelleuse | JBTS |
| Encéphalocèle | MKS |
| Hypopituitarisme | Syndrome de RHYNS |
| Maladies hépatiques | |
| Fibrose hépatique | MKS JBTS Syndrome de Boichis |
| Maladies squelettiques | |
| Cage thoracique dysplasique | Syndrome de Jeune |
| Epiphyses des phalanges en cônes | Syndrome de Mainzer-Saldino |
| Polydactylie | JBTS BBS Syndrome d'Ellis Van Creveld |
| Défauts squelettiques | Syndrome de Sensenbrenner Syndrome d'Ellis Van Creveld |
| Autres | |
| Situs inversus Malformations cardiaques Rectocolite hémorragique Bronchiectasie | |

Annexe 2 : Manifestations extra-rénales et formes syndromiques associées à la NPH.
JBTS : Syndrome de Joubert ; MKS : Syndrome de Meckel. Extrait et traduit de Wolf, 2015.

ANNEXES

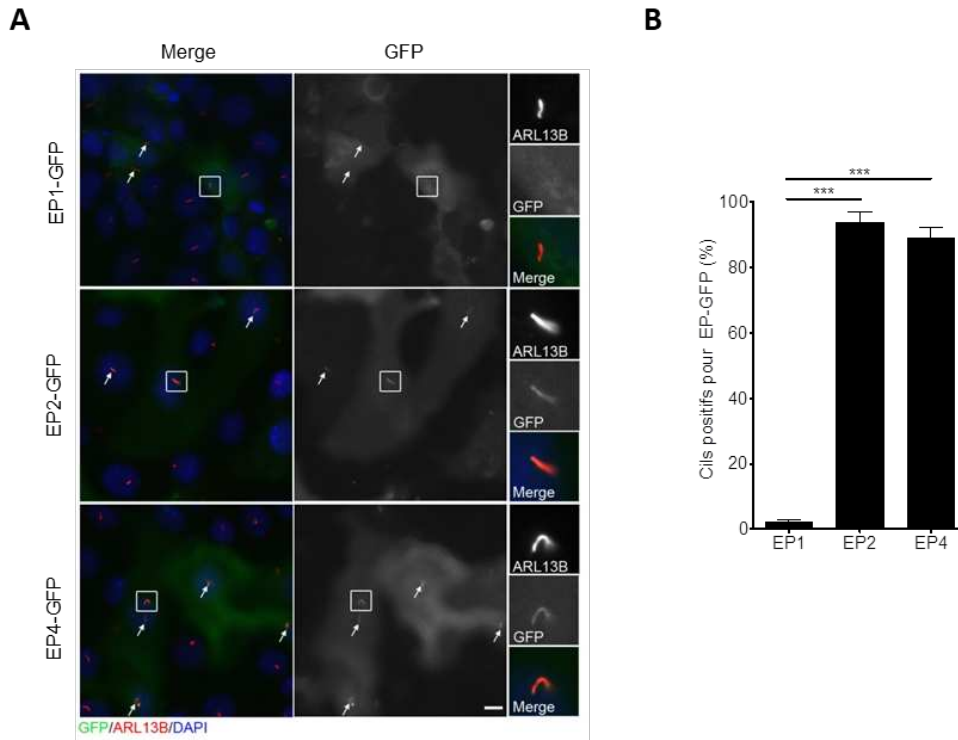
| Récepteur | Agonisme ou antagonisme | Effet | Référence | Modèle |
|--|-------------------------------------|----------------|---|--|
| EP1 | Antagonisme (ONO-8711) | ✓ | Makino 2002 | Néphropathie diabétique, rats traités à la streptozotocine |
| | Antagonisme (EP1A) | ✓ | Suganami 2003 | Maladie rénale due à l'hypertension, rats SHRSP |
| | Antagonisme (délétion EP1) | ✓ | Thibodeau 2013 | Néphropathie diabétique, souris traitées à la streptozotocine et OVE26 |
| | Antagonisme (ONO-8711) | ✓ | Thibodeau 2013 | Podocytes, humain et cellules du tube proximal, souris (ROS et expression fibronectine) |
| | Antagonisme (siRNA EP1 et ONO-8711) | ✓ | Nasrallah 2015 | Cellules du tube proximal, souris (expression marqueurs pro-fibrotiques) |
| | Agonisme (17-pt-PGE2) | ✗ | Chen 2015 | Cellules mésangiales glomérulaires, souris (prolifération et expression marqueurs fibrose) |
| | Antagonisme (délétion EP1) | ✓ | Chen 2015 | Cellules mésangiales glomérulaires, souris (prolifération et expression marqueurs fibrose) |
| | Antagonisme (délétion EP1) | ✗ | Nasrallah 2020 | Maladie rénale due à l'hypertension, souris TTRhRen |
| | Agonisme (17-pt-PGE2) | ✗ | Guo 2020 | Cellules mésangiales, souris (stress du réticulum endoplasmique) |
| | Antagonisme (siRNA EP1 et SC19220) | ✓ | Guo 2020 | Cellules mésangiales, souris (stress du réticulum endoplasmique) |
| | Antagonisme (SC19220) | ✓ | Chen 2020 | Maladie rénale chronique, souris avec une néphrectomie 5/6e |
| | Agonisme (17-pt-PGE2) | ✗ | Chen 2020 | Maladie rénale chronique, souris avec une néphrectomie 5/6e |
| EP2 | Agonisme (Butaprost) | ✓ | Kolodisch 2003 | Fibroblastes (differentiation myofibroblastes) |
| | Agonisme (CP-536,745-01) | ✓ | Vukicevic 2006 | Insuffisance rénale aiguë, rats traités au chlorure de mercure |
| | Agonisme (CP-536,745-01) | ✓ | Vukicevic 2006 | Maladie rénale chronique, rats avec une néphrectomie 5/6e |
| | Agonisme (Butaprost) | ✓ | Thomas 2007 | Fibroblastes stimulés au TGFβ (differentiation myofibroblastes) |
| | Agonisme (Butaprost) | ✓ | Liu 2018b | Podocytes, souris (prolifération, apoptose, différenciation) |
| | Antagonisme (AH6809) | ✗ | Liu 2018b | Podocytes, souris (prolifération, apoptose, différenciation) |
| | Agonisme (Butaprost) | ✓ | Olesen 2011 | Diabète insipide, souris traitées avec un antagoniste de V2R |
| | Agonisme (Butaprost) | ✓ | Jensen 2019 | Cellules rénales MDCK (expression marqueurs pro-fibrotiques) |
| | Agonisme (Butaprost) | ✓ | Jensen 2019 | Fibrose rénale, souris avec une UUU |
| | Agonisme (Butaprost) | ✓ | Jensen 2019 | Coupes de rein humain traitées avec du TGFβ |
| | Agonisme (Butaprost) | ✓ | Guo 2020 | Cellules mésangiales, souris (stress du réticulum endoplasmique) |
| | Antagonisme (siRNA EP2 et AH6809) | ✗ | Guo 2020 | Cellules mésangiales, souris (stress du réticulum endoplasmique) |
| Agonisme (ONO-AE1-259-01) | ✗ | Lannoy 2020 | Cellules rénales MDCK et humaines (kystogénèse) | |
| Antagonisme (ONO-AE8-111) | ✓ | Lannoy 2020 | Cellules rénales MDCK et humaines (kystogénèse) | |
| Antagonisme (PF-04418948) | ✗ | Lannoy 2020 | Polykystose rénale, souris | |
| EP3 | Agonisme (PGE2) | ✓ | Kivirikko 2013 | Glomérulonéphrite/néphrite aiguë, souris traitées au sérum néphrotoxique |
| | Agonisme (CP-044,519-02) | ✓ | Vukicevic 2006 | Insuffisance rénale aiguë, rats traités au chlorure de mercure |
| | Agonisme (CP-044,519-02) | ✓ | Vukicevic 2006 | Maladie rénale chronique, rats avec une néphrectomie 5/6e |
| | Agonisme (ONO AE1-329) | ✓ | Nagamatsu 2006 | Glomérulonéphrite/néphrite aiguë, souris traitées au sérum anti-glomérulaire |
| | Agonisme (ONO-AE1-329) | ✓ | Li 2009 | Diabète néphrotique insipide, souris V2R-/- |
| | Agonisme (surexpression EP4) | ✗ | Stitt-Cavanagh 2010 | Maladie rénale chronique, souris avec une néphrectomie 5/6e |
| | Antagonisme (délétion EP4) | ✓ | Stitt-Cavanagh 2010 | Maladie rénale chronique, souris avec une néphrectomie 5/6e |
| | Antagonisme (délétion EP4) | ✗ | Nakagawa 2012 | Fibrose rénale, souris avec une UUU |
| | Agonisme (ONO-4819) | ✓ | Nakagawa 2012 | Fibrose rénale, souris avec une UUU |
| | Agonisme (ONO-AE1-329) | ✗ | Mohamed 2013 | Néphropathie diabétique, souris traitées à la streptozotocine |
| | Antagonisme (délétion EP4+/-) | ✓ | Yang 2014 | Maladie rénale chronique, souris avec une néphrectomie 5/6e |
| | Antagonisme (siRNA EP4) | ✗ | Nasrallah 2015 | Cellules du tube proximal, souris (expression fibronectine) |
| EP4 | Agonisme (CAY10598) | ✓ | Luo 2017 | Cellules rénales mIMCD3 et HK2 (expression marqueurs pro-fibrotiques et inflammatoires) |
| | Antagonisme (ASP7657) | ✓ | Mizukami 2019 | Maladie rénale chronique, rats avec une néphrectomie 5/6e |
| | Antagonisme (ONO-AE3-208) | ✓ | Thieme 2017 | Néphropathie diabétique, souris traitées à la streptozotocine |
| | Antagonisme (ONO-AE3-208) | ✓ | Thieme 2017 | Diabète, souris db/db |
| | Antagonisme (ONO-AE3-208) | ✓ | Thieme 2017 | Maladie rénale chronique, rats avec une néphrectomie 5/6e |
| | Antagonisme (ONO-AE3-208) | ✓ | Aringer 2018 | Glomérulonéphrite/néphrite aiguë, souris traitées au sérum néphrotoxique |
| | Agonisme (ONO-AE1-329) | ✗ | Lannoy 2020 | Cellules rénales MDCK et humaines (kystogénèse) |
| | Antagonisme (ONO-AE3-208) | ✓ | Lannoy 2020 | Cellules rénales MDCK et humaines (kystogénèse) |
| | Antagonisme (ONO-AE3-208) | ✗ | Lannoy 2020 | Polykystose rénale, souris |
| | Antagonisme (Grapiprant) | ✓ | Abouelkheir 2021 | Lésions rénales aiguës, souris traitées au cisplatine |
| | Agonisme (ONO AE1-329) | ✓ | Aringer 2021 | Glomérulonéphrite/néphrite aiguë, souris traitées au sérum néphrotoxique |
| | Agonisme (ONO-4819) | ✓ | Pan 2022 | Lésions rénales aiguës, souris avec une UUU ou ischémie-reperfusion |
| Antagonisme (inhibiteur COX-2) | ✓ | Wang 2000 | Maladie rénale chronique, rats avec une néphrectomie 5/6e | |
| Antagonisme (inhibiteur COX-2) | ✗ | Kitahara 2002 | Glomérulonéphrite, rats traités à l'anticorps anti Thy 1.1 | |
| Antagonisme (diminution activité des COXs) | ✓ | Sankaran 2004 | Néphronophtise infantile, souris pcy/Nphp3 | |
| Agonisme (PGE1) + inhibiteurs ACE | ✓ | Nakayama 2005 | Maladie rénale chronique, homme | |
| Antagonisme (inhibiteur COX-2) | ✓ | Rao 2005 | Diabète insipide, souris traitées au lithiumA | |
| Agonisme (PGE2) | ✓ | Thomas 2007 | Fibroblastes stimulés au TGFβ (differentiation myofibroblastes) | |
| Agonisme (surexpression Ptg2) | ✗ | Jo 2007 | Lésions glomérulaires, souris traitées à la puromycine | |
| Agonisme (surexpression Ptg2) | ✗ | Cheng 2007 | Lésions glomérulaires, souris traitées à l'adriamycine | |
| Antagonisme (inhibiteur COX-2) | ✓ | Sankaran 2007 | Néphronophtise infantile, rats Anks6/Nphp16 | |
| Agonisme (PGE1) | ✓ | Wang 2010b | Néphropathie diabétique, homme | |
| Antagonisme (inhibiteur COX-2) | ✓ | Yamamoto 2012 | Lésions rénales aiguës, rats traités au cisplatine | |
| Antagonisme (délétion Ptg2) | ✗ | Nilsson 2015 | Fibrose rénale, souris avec une UUU | |
| Antagonisme (diminution activité des COXs) | ✓ | Yamaguchi 2015 | Néphronophtise infantile, souris pcy/Nphp3 | |
| Antagonisme (inhibiteur COXs) | ✓ | Ibrahim 2015 | Néphronophtise infantile, rats Anks6/Nphp16 | |
| Antagonisme (délétion Ptg2) | ✗ | Luo 2017 | Fibrose rénale, souris avec une UUU | |
| Agonisme (PGE1) | ✓ | Li 2018 | Néphropathie diabétique, homme | |
| Agonisme (PGE2) | ✓ | Chen 2021b | Lésions rénales aiguës, souris avec une ischémie-reperfusion | |
| Agonisme (inhibiteur 15-PGDH) | ✓ | Kim 2021 | Lésions rénales aiguës, souris traitées avec de l'iode radioactif | |
| Agonisme (PGE1) | ✓ | Jia 2021 | Maladie rénale aiguë, homme | |

Annexe 3 : Modulation de la voie de la PGE2 dans le traitement des maladies rénales aiguës et chroniques.



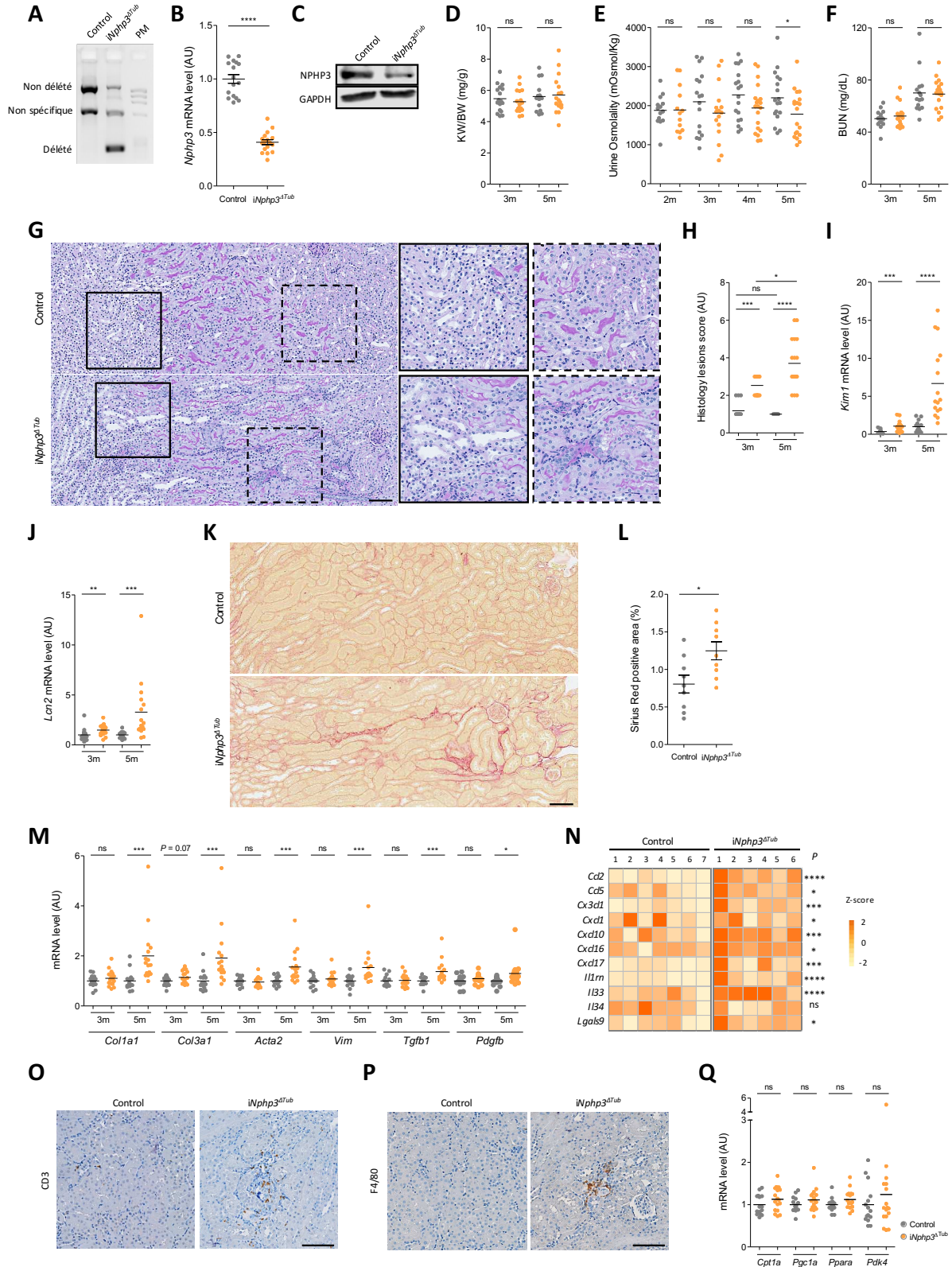
Annexe 4 : Effet bénéfique de la PGE1 sur la diminution de la localisation ciliaire d'INPP5E.

(A) Images représentatives d'une IF d'INPP5E (vert), du cil primaire (GT335, rouge) et des noyaux (DAPI, bleu) dans les URECs contrôles (CTL) et *NPHP1*. Échelle = 10 μ m. (B) Quantification d'INPP5E dans le compartiment ciliaire dans les URECs CTL ($n = 3$) et *NPHP1* ($n = 4$) traitées pendant deux jours à l'Alprostadil (ALP, 2 μ M) ou au DMSO (0.04%). Chaque point représente une lignée d'URECs. Les barres indiquent la moyenne. Test de Mann Whitney (*NPHP1* vs CTL) et test t de Student pairé (DMSO vs Alpro) : * $P < 0.05$. $n = 3$ expériences. AU : unité arbitraire.



Annexe 5 : Localisation au cil primaire des protéines de fusion EP-GFP.

(A) Images représentatives d'une IF dans les mIMCD3 des protéines EP1, EP2 et EP4 fusionnées à la GFP (vert), du cil primaire (ARL13B, rouge) et des noyaux (DAPI, bleu). Échelle = 10 μ m. **(B)** Quantification du pourcentage de cils contenant la protéine de fusion EP-GFP. Test t de Student non pairé : *** P < 0.001. n = 3 expériences.



Annexe 6 : Les souris *iNphp3^{ΔTub}* développent une NPHj.

(A) PCR montrant la délétion des exons 3 et 4 dans les reins des souris contrôles et *iNphp3^{ΔTub}*. (B) Analyse qRT-PCR de l'expression de *Nphp3* dans les reins des souris contrôles et *iNphp3^{ΔTub}*. (C) Western Blot de NPHP3 dans les reins des souris contrôles et *iNphp3^{ΔTub}*. PM = poids moléculaire. (D-F) Ratio du poids du rein (KW) sur le poids du corps (BW ; D), osmolalité urinaire (E) et azote uréique (BUN ; F) des souris contrôles et *iNphp3^{ΔTub}*. (G) Images représentatives d'un marquage PAS des reins des souris contrôles et *iNphp3^{ΔTub}* de 5 mois. Échelle = 100μm. (H) Score de lésions histologiques. Test de Chi2 : *P < 0.05, ***P <

0,001, **** $P < 0,0001$, ns : non significatif. **(I,J)** Analyse qRT-PCR de l'expression de *Kim1* (I) et *Lcn2* (J) dans les reins des souris contrôles et *iNphp3^{ΔTub}*. **(K)** Images représentatives d'un marquage Rouge Sirius des reins des souris contrôles et *iNphp3^{ΔTub}* de 5 mois. Échelle = 100μm **(L)** Quantification du marquage Rouge Sirius. $n = 9$ souris mâles et femelles par groupe. **(M)** Analyse qRT-PCR de l'expression de *Col1a1*, *Col3a1*, *Acta2*, *Vimentin*, *Tgfb1* et *Pdgfb* dans les reins des souris contrôles et *iNphp3^{ΔTub}*. **(N)** Heatmap montrant les Z-scores calculés sur l'expression mesurée par qRT-PCR des cytokines indiquées dans les reins des souris contrôles et *iNphp3^{ΔTub}*. $n = 6/7$ souris mâles par groupe pour la représentation graphique, $n = 15$ à 17 souris mâles et femelles par groupe pour les statistiques. **(O,P)** Images représentatives des marquages CD3 (lymphocytes T ; O) et F4/80 (macrophages ; P) dans les reins des souris contrôles et *iNphp3^{ΔTub}*. Échelle = 100μm. **(Q)** Analyse qRT-PCR de l'expression de *Cpt1a*, *Pgc1a*, *Ppara* et *Pdk4* dans les reins des souris contrôles et *iNphp3^{ΔTub}*. **(B,D-F,H-J,L,M,Q)** Chaque point représente une souris. Les barres indiquent la moyenne. **(B,D-F,H-J,L,M,Q)** $n = 15$ à 17 souris mâles et femelles par groupe. **(B,D-F,H-J,L-N,Q)** Mann-Whitney test: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$, ns : non significatif. AU : unité arbitraire.

