

# Déficiência intellectuelle

*EO Médecine de précision et thérapie ciblée*

Pr Sandra Mercier ([sandra.mercier@chu-nantes.fr](mailto:sandra.mercier@chu-nantes.fr))

Pr Stéphane Bézieau ([stephane.bezieau@chu-nantes.fr](mailto:stephane.bezieau@chu-nantes.fr))

Service de génétique médicale

CHU Nantes



CENTRE DE REFERENCE  
Anomalies du développement  
et syndromes malformatifs



CENTRE HOSPITALIER  
UNIVERSITAIRE DE NANTES



UNIVERSITÉ DE NANTES

# Objectifs pédagogiques

- Comprendre les enjeux de la médecine de précision en termes de génétique, appliquée à la déficience intellectuelle:
  - révolution technologique liée au séquençage haut débit
  - avantages pour l'établissement d'un diagnostic à l'échelle individuelle
  - questions éthiques à l'échelle individuelle, mais surtout collective

# Plan

- **Introduction:**
  - définition de la DI
  - épidémio
  - étiologies
- **Médecine de précision:**
  - séquençage haut débit : étude d'exome / génome
  - 3 exemples (diagnostic / recherche)
- **Questions éthiques**

# Introduction

- **Définition de la déficience intellectuelle?**

# Définition de la déficience intellectuelle

## American Association on Intellectual and Developmental Disabilities

- En 1992:

**Diminution significative des facultés intellectuelles**

**ET**

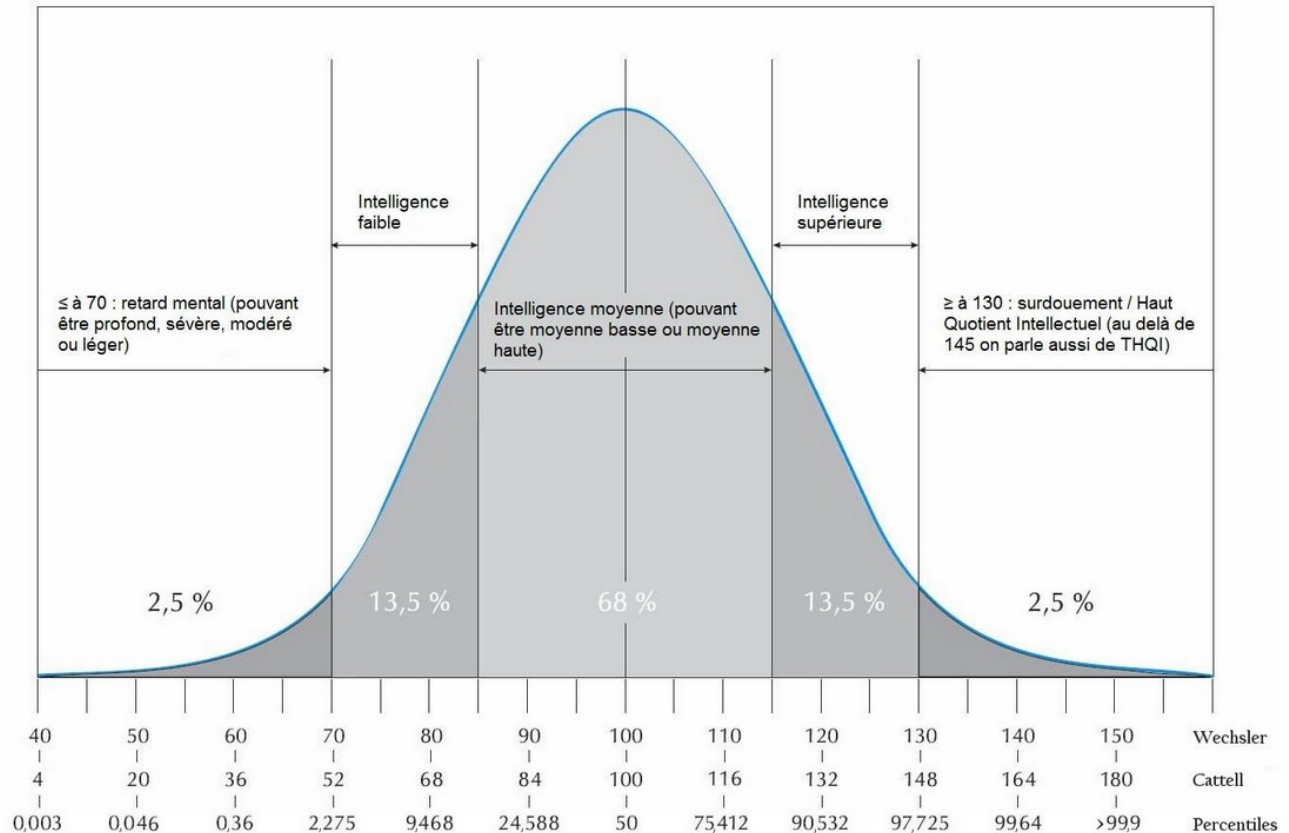
**déficit des comportements adaptatifs**

(conceptuels, sociaux et pratiques) survenant au cours de la période de développement intellectuel

- En 2008 : « Retard mental » => « Déficience intellectuelle »

# QD / QI

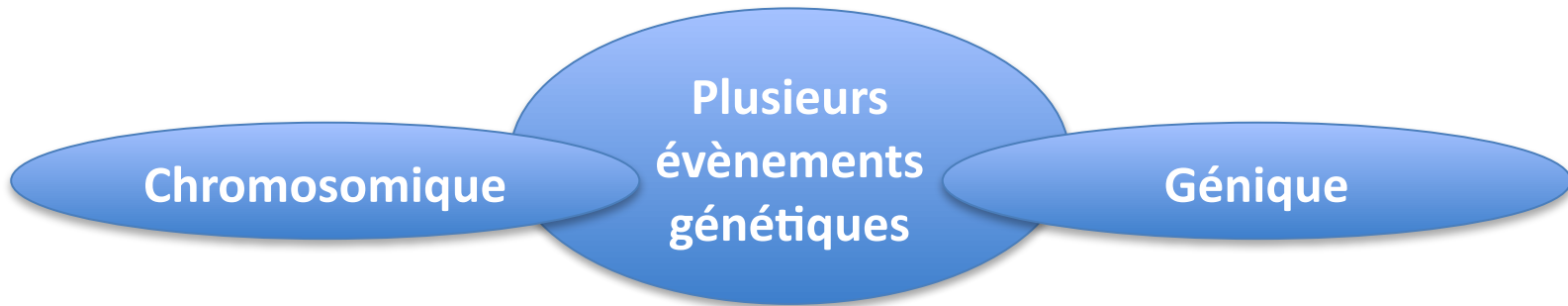
- Echelles d'évaluation du QD ou QI:
  - ex: échelle de Wechsler
- DI:  $QI < -2 DS$
- $QI < 70$  : 2-3% de la population
  - $50 < QI < 70$  : légère
  - $35 < QI < 49$  : moyenne
  - $20 < QI < 34$  : sévère
  - $QI < 19$  : profonde



# Epidémio

- Prévalence : 2-3 % population
- Comorbidité : trouble du spectre autistique, épilepsie, déficit sensoriel...
- Sex ratio :
  - M :F = 1,3 :1 (RLX)

# Etiologies



## Déficience intellectuelle





# En pratique, consultation de génétique clinique

- *Anamnèse* : ATCD familiaux, consanguinité ?
- *Examen clinique* :
  - Dysmorphologie
  - Signes neuro, atteinte sensorielle
  - Evolution : « fixée », régression
  - Troubles comportementaux spécifiques

⇒ **DI syndromique ou isolée?**

**Syndrome « connu »**



**Etudes ciblées: FISH, gène**

**Pas d'orientation clinique**



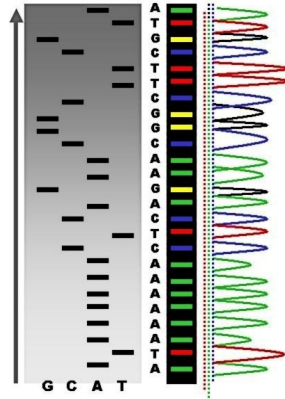
**Etudes pangénomiques / larges:  
CGH array, panel de gènes, exome, génome**

# Plan

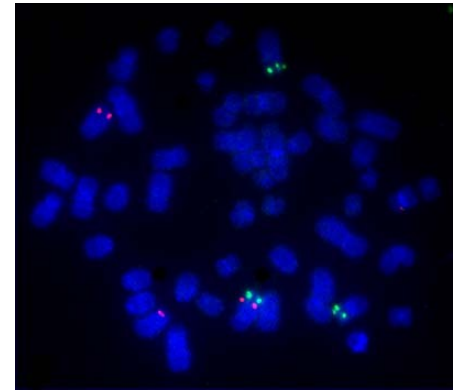
- **Introduction:**
  - définition de la DI
  - épidémio
  - étiologies
- **Médecine de précision:**
  - séquençage haut débit : étude d'exome, génome
  - 3 exemples (diagnostic / recherche)
- **Questions éthiques**

# Les différentes techniques d'analyse en génétique

## APPROCHES CIBLEES



Séquençage Sanger

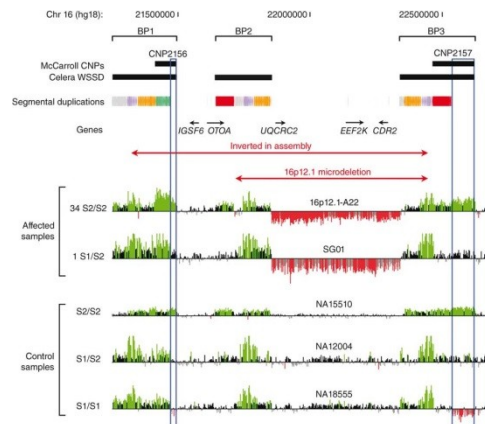


FISH

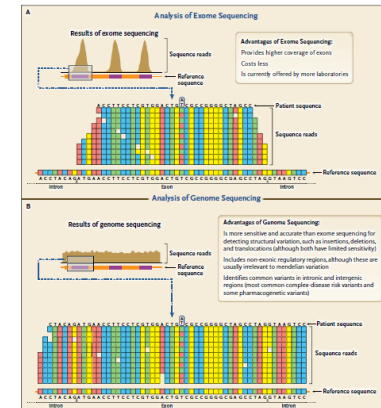
## PANGENOMIQUES



Caryotype

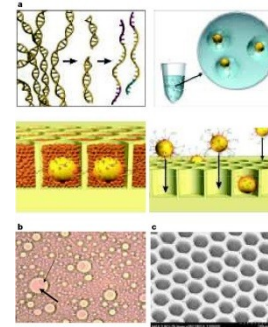
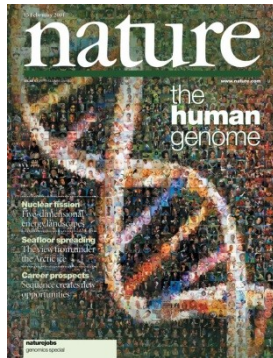


CGH



Next Generation Sequencing

# Séquençage génome humain



**1977**  
Séquençage  
Sanger

**2001**  
Draft génome  
humain

**2005**  
Début NGS:  
séquenceur 454

**1990**  
Lancement  
Human Genome  
Project

**2003**  
Génome humain  
complet

**2008**  
Génome humain  
par seq. Illumina



# Séquençage complet du génome humain : Human Genome Project (HGP) 1988

- Equivalent 4 génomes complets en réalité
- Séquençage partiel (Fev 2001, Celera)
- Séquençage complet (2004 consortium public)



Aujourd'hui

See the NovaSeq™  
Series in action



Demain

12 ANS DE TRAVAIL...



**La Séquence du Génome humain  
réalisé en 1 jour pour 1000 dollars**



From [www.vincentabry.com](http://www.vincentabry.com) - January 12, 2012 8:08 PM

Le séquençage du génome humain pour tout le monde est un vieux rêve qui est aujourd'hui devenu réalité. L'entreprise Life Technologies a annoncé au CES de Las Vegas la sortie d'une machine -Ion Proton Sequencer- capable de décoder le génome d'un homme en 1 journée pour 1000 dollars. La machine elle, est vendue à 149 000 dollars l'unité.



*Dear Stephane*

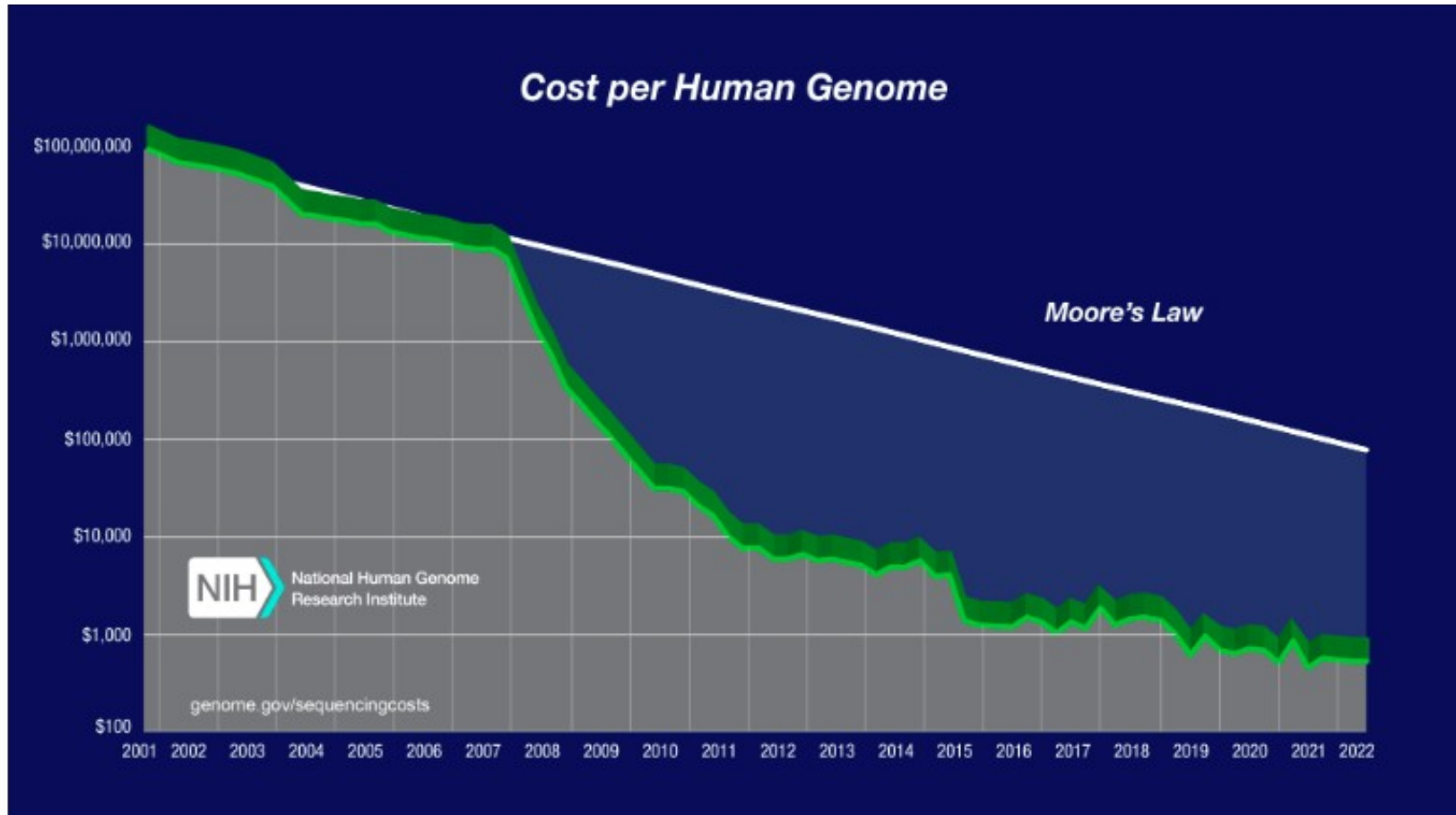
The \$1000 genome is dead. Long live the \$100 genome! This was the big news from the J.P Morgan Healthcare Conference in San Francisco this week: with a new line of sequencing machines, **Illumina** hope to usher in a [new era of low-cost sequencing](#). A far cry from the \$3 billion price tag for the first human genome.

But how soon can we expect to see the price of a genome plummet? As always we would love to know what you think. How long will it take to break the \$100 genome barrier?

Kind regards,  
**Liz Harley**  
Content Manager  
Front Line Genomics

# Révolution technologique

## Accessibilité

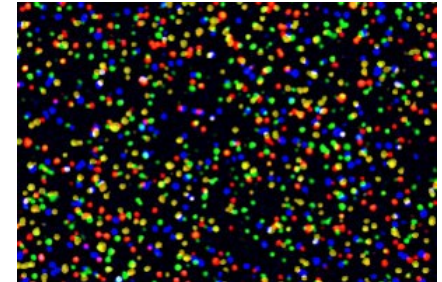
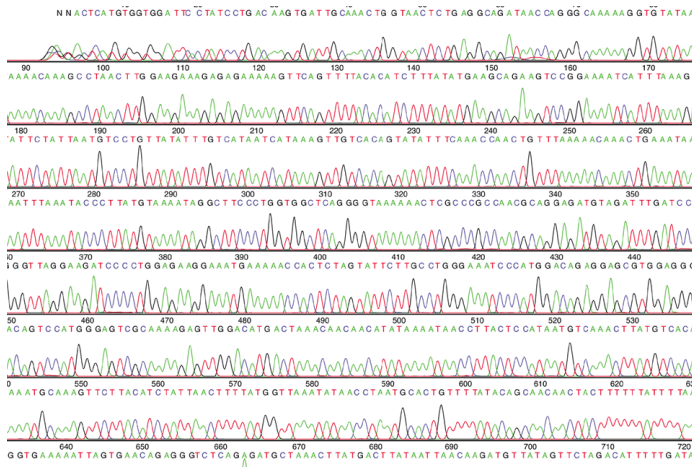


Coût du séquençage du génome entier  
*divisé par > 100 000 en 20 ans!*

# Séquençage haut débit (NGS)



Sanger: 1 réaction = 1 séquence



NGS: 1 réaction = 10<sup>5</sup>-10<sup>9</sup> séquences



Fichiers plusieurs Go

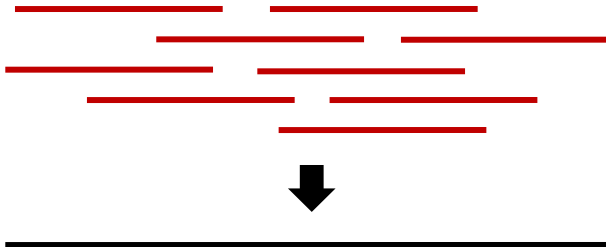
```
@M01626:70:000000000-A6E12:1:1101:14394:1725 1:N:0:5
GCACGATTACTTGCCTACGCTTTACGACGCTTTTCATCAACTTCCATTGAATTTTTTCTTGTGAACCTGGTTTTTTTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCCACAAGTCCAATCATT
TCGTGATCTAAATTTTGTAGGACTTTTACGGTTATTACGACGATACGGTCGATGATCTTGAATTCACCGTTT
+
1>1>11>>1BDD1AFEF1A11AAAFG3B00A00AAABF2FF21AABBB42AD111DFGDEAEADA1D12DFE00BB0F2BFFGHGCEFFGFGGHHHF2>210E>>11BB1BF
BBF2B2BBF21FGHE1<0B21<1BBGHFF20//??/0F22//</>F.0<.<.<.</=>0<<00<0=DH00:=.:.:
@M01626:70:000000000-A6E12:1:1101:15300:1737 1:N:0:5
TTCAAACAAGAGCCCTTACTTCTTTTTCTATACCTTTTTCCGTAATTTCCATAATCGCCGTAAGTAGCAACAGATTCATTAACCTTATTAAGATTAATACCTAAGAACCTT
GAACCACTTTGTTCCATCTGTTCTTTTCTCTTTTCAACATAATTACGTTTTATTCTGCTGCTTGGGTTACTAAAAATAAAACCATCCAACCATTAGCGCTTATTGGCGCATCA
ACAACATAAACCAATCGTTTGGATCCATGTTAATTTAAACATCGGACATCCACCCCTTCCCCCTCCCTCC
+
>AA11D3BB1111AFEAAF1AAFEAFEGGHCF3D3B2DFGGHGF0B0/ADBFF2F21F2//A//0D22BA1B000AB01DF2DFGGG2@D2@112BB1F2FCF11011FFGF
121B?0?BFG1FGFF2BBB1BFFGGFHF>GGHFB22F1<D1BG2BA<GFF2GGFH2@<G1@CG1A/AF/1@1111?1F1D...>0.1>.>0D0/<<<=<0!:-:~:0
0:0..;9C0CFA.//;...=0;00;0000000//19/9//9-9--9//;9/-;--;---/:-9--;-;
@M01626:70:000000000-A6E12:1:1101:16123:1748 1:N:0:5
```

# NGS

## De novo



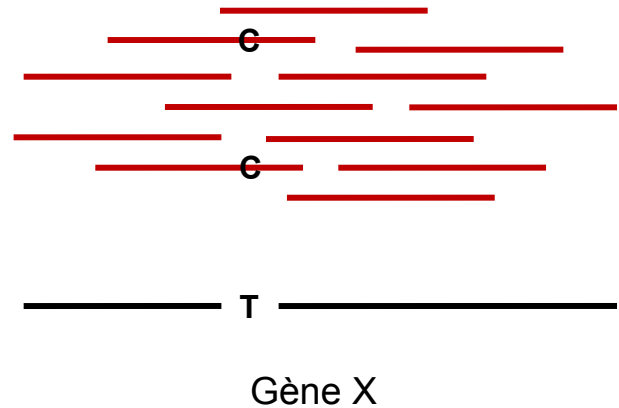
Assemblage des reads pour séquencer des génomes



## Reséquençage



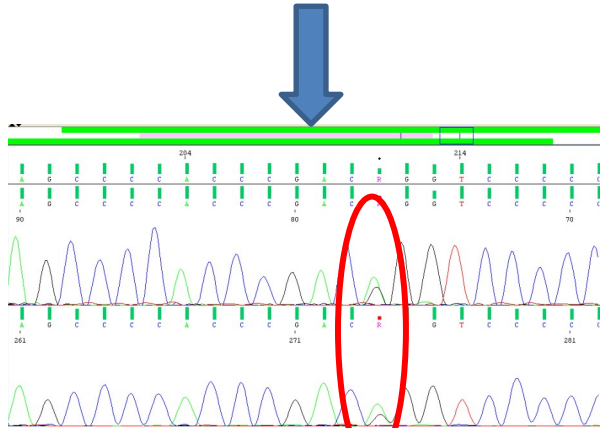
Analyse des variations par rapport à un génome connu





# Notion indispensable en NGS : couverture et profondeur de couverture (ex : 50 X)

NGS ciblé

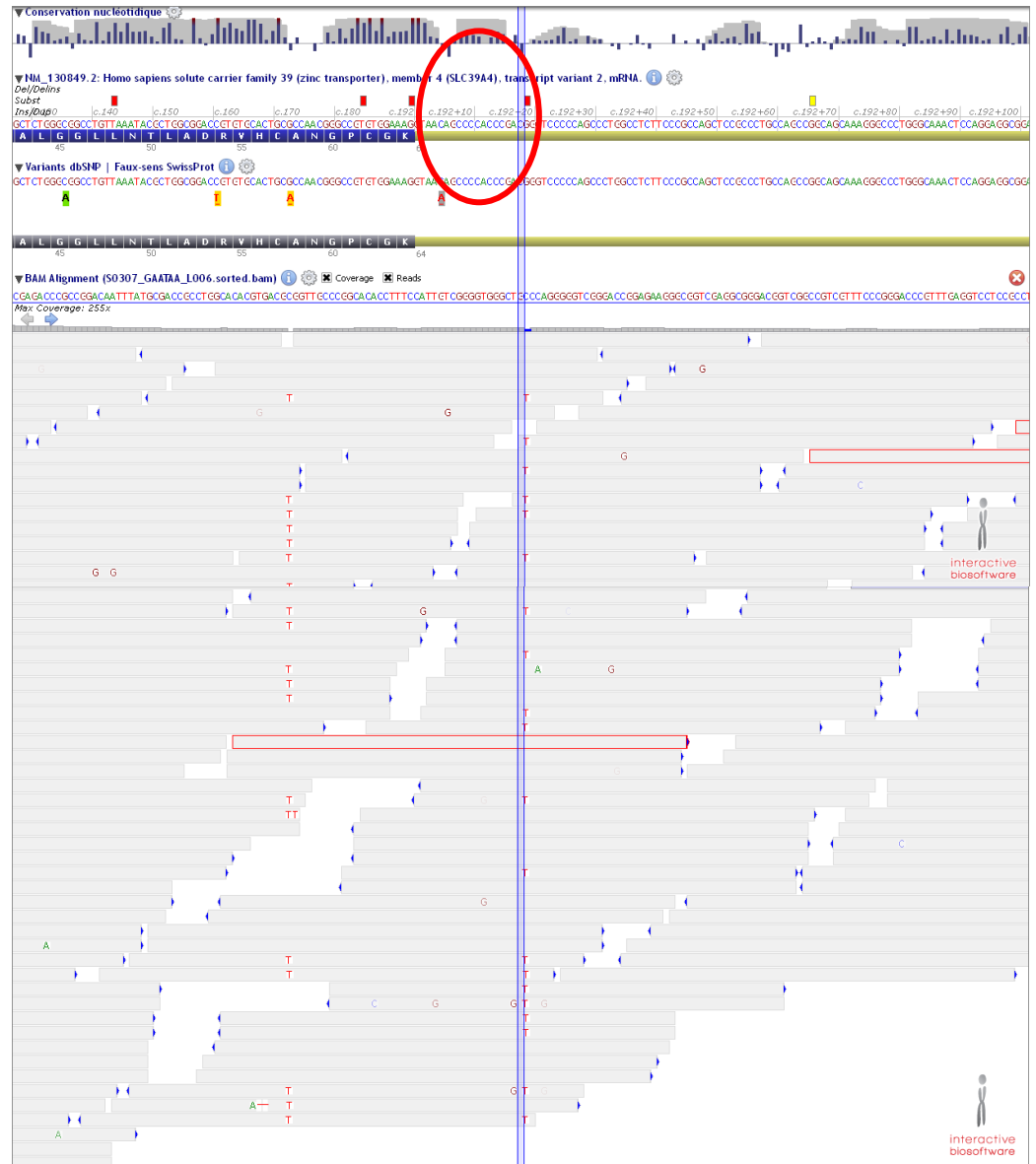


Mutation *SLC39A4*  
c.192+19G>A

Validation Sanger  
indispensable  
en exome ou en  
ciblé

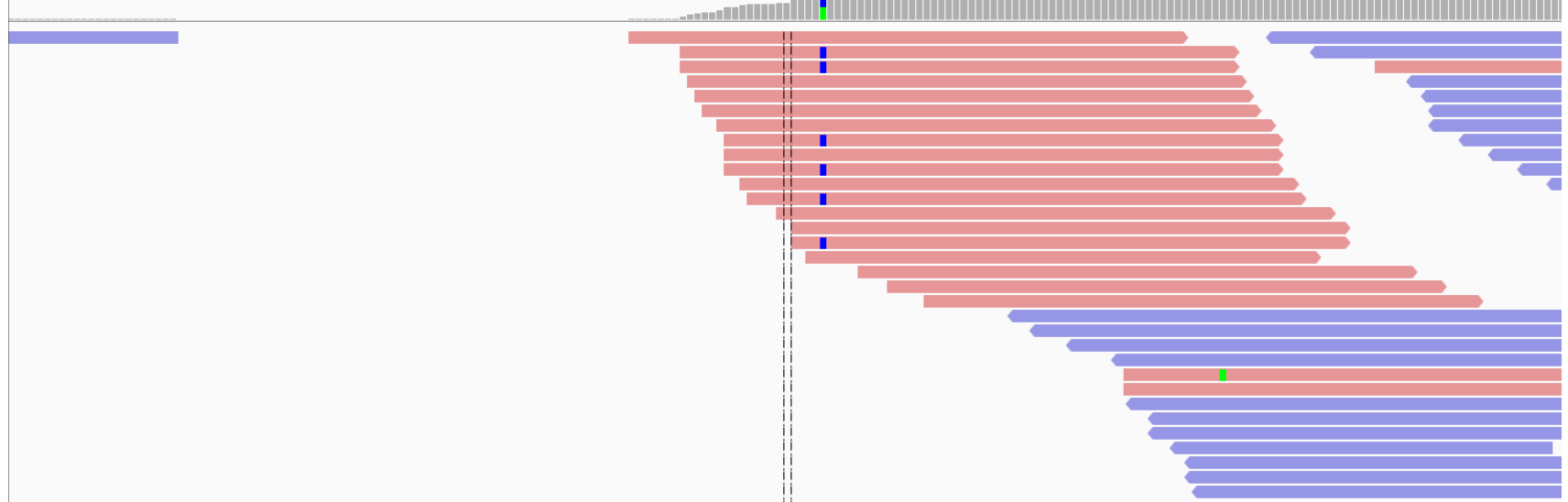
Seuil diagnostique minimum 30 X

Exome 50X, 100 X de moyenne





[0 - 31]



Moyenne de couverture exome: 70X

M L L D A G P Q F P A I G V G S F A R H H H S A A A A A A A A E M Q D R E L S L A A A Q N G F V D S A A A H M G A F K L N P G A H E L

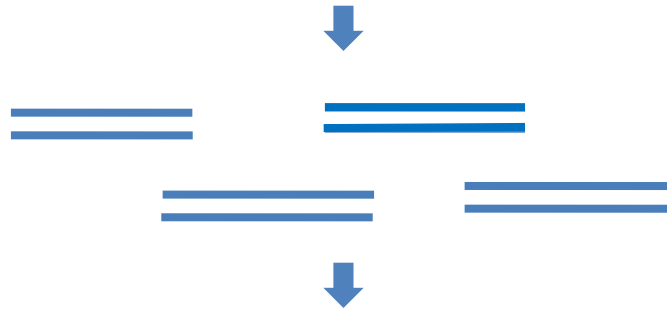
ZIC2

# Exome: technique

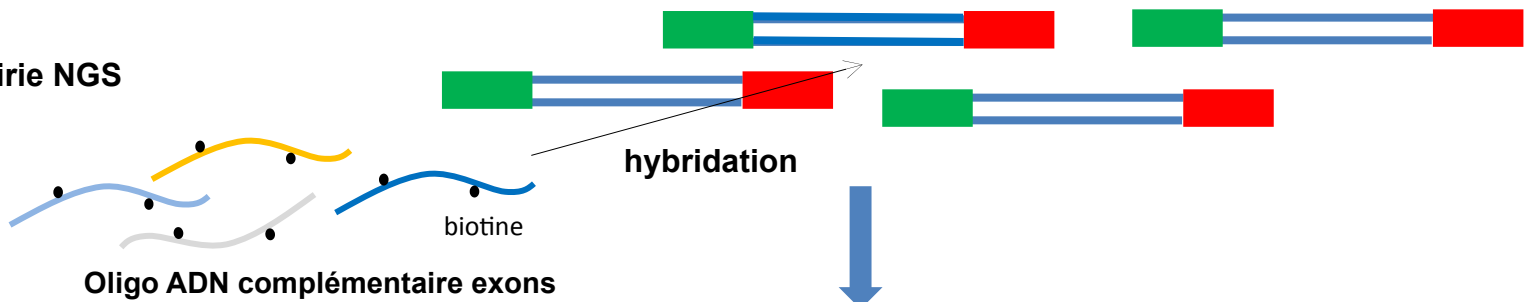
ADN génomique



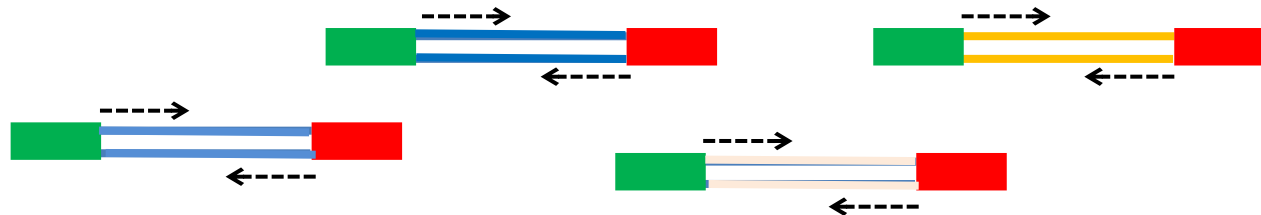
ADN fragmenté (200-300pb)



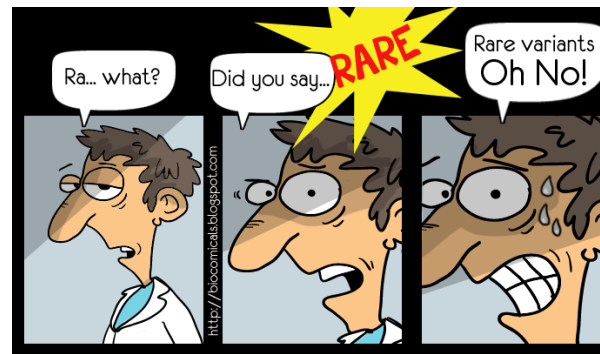
Librairie NGS



Seq Illumina



# A l'échelle de l'exome, more.....



**Table 2. SNPs Identified through Whole-Genome Sequencing of DNA from the Proband.\***

SNP Type	No. of SNPs
Nongene	2,255,102
Gene	1,165,204
Intron	1,064,655
Promoter	60,075
3' UTR	16,350
5' UTR	3,517
Splice regulatory site	2,089
Splice site	112
Synonymous	9,337
Stop→stop	17
Nonsynonymous	9,069
Stop→gain	121
Stop→loss	27
Total	3,420,306

Lupski et al. 2010  
**How does one pinpoint a causal variant?**

**Exome**

**40 000 à 70 000 variants**

**100 000 avec les artefacts !**

# Approche EXOME dans l'identification des causes de DI

2012 NEJM

ORIGINAL ARTICLE

## Diagnostic Exome Sequencing in Persons with Severe Intellectual Disability

Joep de Ligt, M.Sc., Marjolein H. Willemsen, M.D., Bregje W.M. van Bon, M.D., Ph.D.,  
Tjitske Kleefstra, M.D., Ph.D., Helger G. Yntema, Ph.D., Thessa Kroes, B.Sc.,  
Anneke T. Vulto-van Silfhout, M.D., David A. Koolen, M.D., Ph.D.,  
Petra de Vries, B.Sc., Christian Gilissen, Ph.D., Marisol del Rosario, B.Sc.,  
Alexander Hoischen, Ph.D., Hans Scheffer, Ph.D., Bert B.A. de Vries, M.D., Ph.D.,  
Han G. Brunner, M.D., Ph.D., Joris A. Veltman, Ph.D.,  
and Lisenka E.L.M. Vissers, Ph.D.

100 Trio exome sequencing:

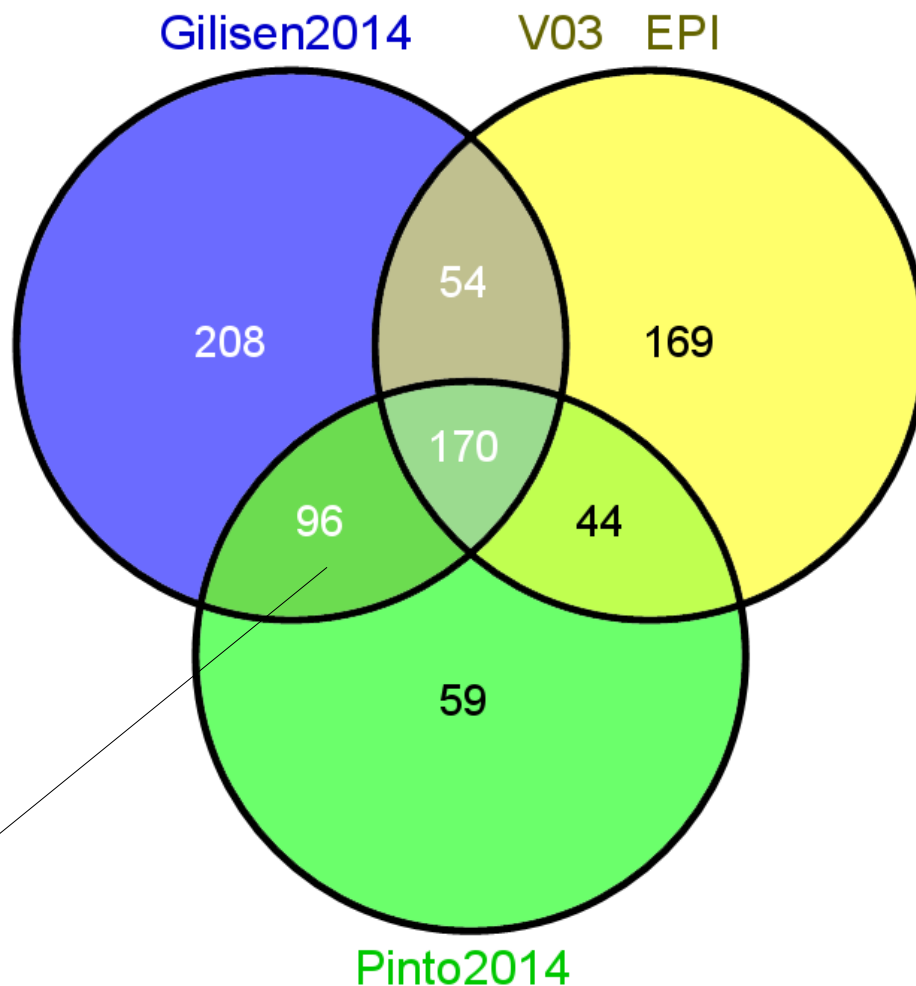
- 13 mutations de novo gène connus
- 3 nouveaux gènes DI
- 19 potentiels nvx gènes

Diagnostic 16%

## Gènes communs DI listes Gilisen, 2014 et Pinto, 2014

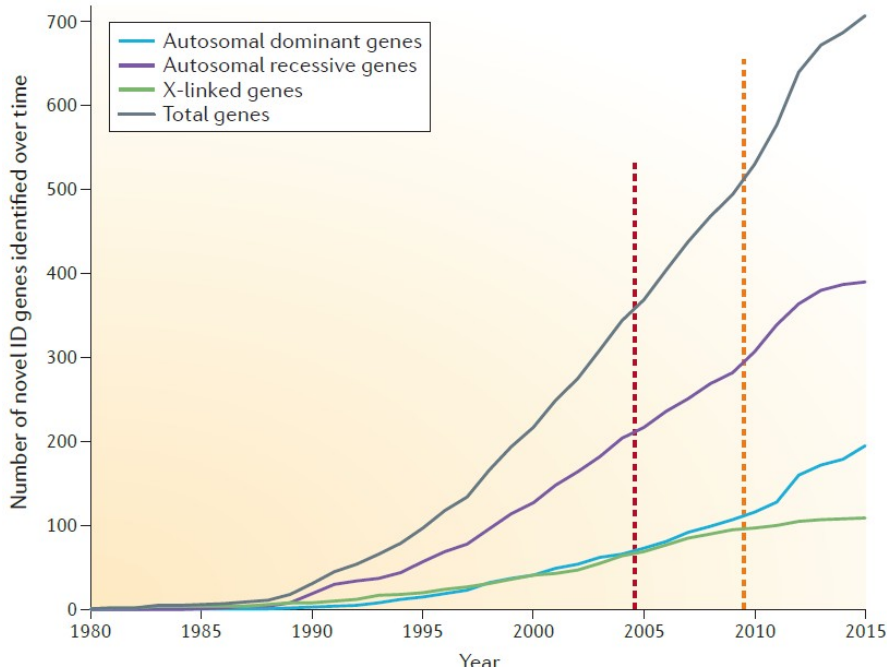


ABCD1	FANCB	POMT1
ACTB	FGFR2	POMT2
ACTG1	FH	PVRL1
ANKH	FKRP	RAB18
ARL6	FKTN	RAB3GAP1
ASXL1	GALE	RAB3GAP2
ATP6V0A2	GFAP	RAF1
BBS1	GNS	RARS2
BBS10	GPR56	RPGRIP1L
BBS12	INPP5E	SHOC2
BBS2	KAT6B	SIL1
BBS4	KCNJ11	SLC12A6
BBS5	KIAA1279	SLC4A4
BBS7	KIF11	SMAD4
BBS9	KIF7	SNAP29
BRAF	KRAS	SOS1
C7orf11	L2HGDH	SPRED1
CC2D2A	LAMA2	SRCAP
CEP290	LARGE	SUOX
CHKB	MAP2K1	TGFBR1
COG8	MAP2K2	TGFBR2
COL4A1	MCOLN1	TMEM237
CYBSR3	MGAT2	TMEM67
DLD	MKKS	TPK1
DMD	MOCS1	TRIM33



**LA DI HETEROGENE AU PLAN GENETIQUE**

## PARTICIPER SIGNIFICATIVEMENT A LA COURSE AUX NOUVEAUX GENES IMPLIQUES DANS L'ID



## EVALUER EN TERME DE DIAGNOSTIC L'APPROCHE EXOME TRIO

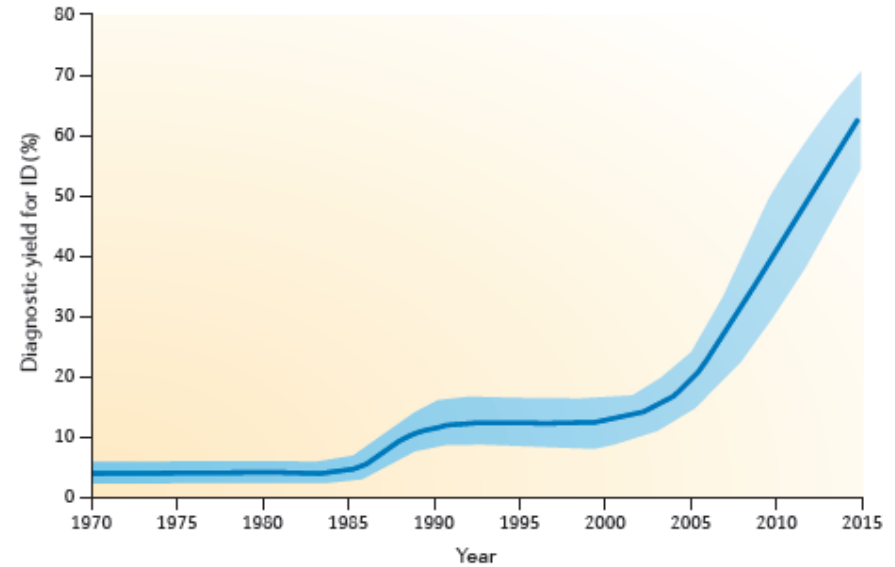
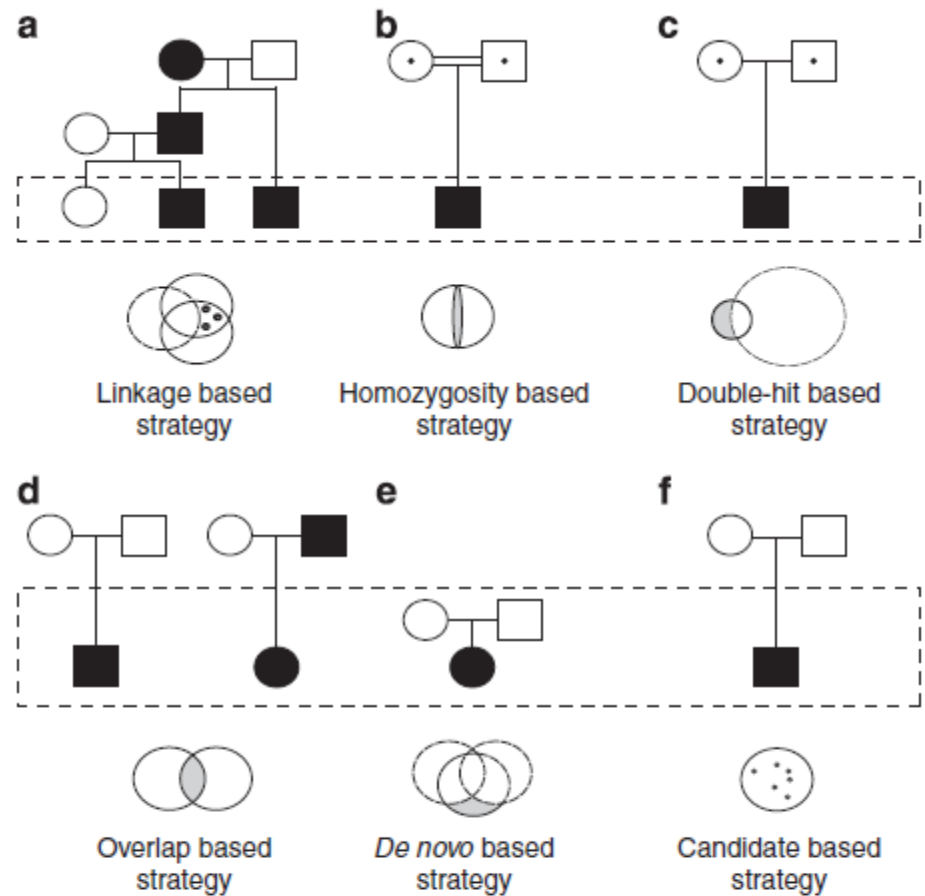


Figure 2 | **Diagnostic yield for ID over time.** Graphical overview of the diagnostic yield for moderate to severe intellectual disability (ID) (excluding Down syndrome, which represents 6–8% of all ID) over time. Solid line indicates the mean of published studies, and the shaded background indicates the lower and upper boundaries of reported diagnostic yields. In the 1970s, conventional karyotyping became a routine diagnostic test and provided a conclusive diagnosis in 3–6.5% of ID cases. The diagnostic yield increased by 6–10% after the introduction of both Sanger sequencing and targeted fluorescence in situ hybridization (FISH) in the 1990s<sup>120</sup>. At the beginning of this century, genomic microarrays were introduced, increasing the diagnostic yield by another 15–23%<sup>25,32</sup>. The introduction of whole-exome sequencing in 2010 and onwards added a diagnostic yield of 24–33%<sup>47,10</sup>, and a first pilot study using whole-genome sequencing added a further 26% in 2014 (REF. 5), accumulating to an overall diagnostic yield of 55–70% for moderate to severe ID. Interestingly, a higher diagnostic yield has been observed for moderate to severe ID (IQ score <50) compared with mild ID (IQ score 50–70)<sup>120–122</sup>. As an example, subtelomeric aberrations explain 0.5% of mild ID and 7.4% of moderate to severe ID. Since the introduction of genomic microarray technology, the diagnostic yield per category of ID is less well documented. This is also the case for differences in diagnostic yield between males and females.

## Les différentes stratégies des approches exomes



**Figure 3** Disease gene identification strategies for exome sequencing. The strategies (a–f) are detailed in the main text. Pedigrees indicate the inheritance model loosely underlying the strategy; filled symbols represent affected individuals, empty symbols represent presumably healthy individuals, and carriers are depicted by a symbol with a dot. Dashed rectangle encloses individuals that are exome sequenced. Circles below each pedigree symbolize sets of genetic variants identified in the exomes. Solid circles represent variants from affected individuals, whereas dashed circles represent variants from unaffected.



# HUGODIMS : Objectif de l'étude

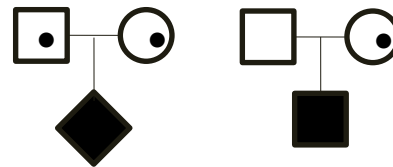
- **Identifier les causes moléculaires** de déficience intellectuelle modérée ou sévère par **séquençage d'exome** selon une approche par **trios**

- Hypothèses

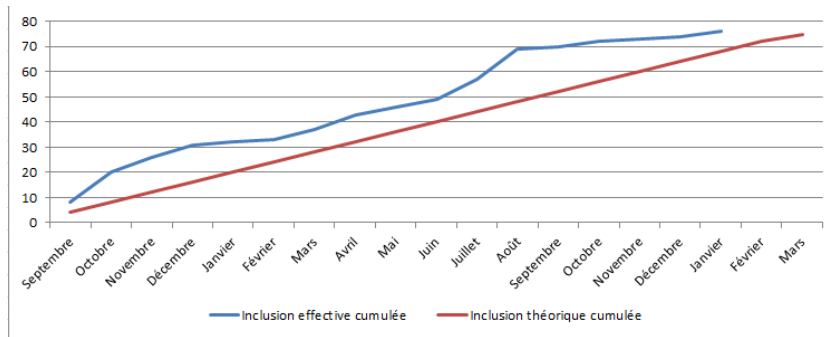
1. Mutation *de novo*



2. Transmission **récessive autosomique ou liée à l'X** pour les patients sans mutation *de novo* identifiée



# HUGODIMS : Analyse exome Trios DI



**76 patients inclus, 70 analysés, 67% de diagnostic**

**Recherche - innovation**

**Identification des causes génétiques de déficience intellectuelle**

**Un gigantesque bond en avant**

Coordonné par le service de génétique médicale, le projet Hugodims a permis une avancée considérable dans l'identification des facteurs génétiques responsables de déficience intellectuelle.

La déficience intellectuelle (DI) est une pathologie fréquente (environ 2% de la population générale, soit 1,3 million de personnes en France) souvent responsable d'un handicap sévère. Les formes les plus sévères de DI ont fréquemment une origine génétique difficile à déterminer en raison du très grand nombre de gènes en cause.

La mutation responsable car, dans la majorité des cas, l'anomalie n'est pas héritée. Ce projet a permis d'identifier la mutation en cause pour 45% des patients atteints de DI sévère, parfois dans des gènes connus, mais aussi de nouveaux gènes comme le gène CHAMP1\*. Ces résultats permettent de donner un conseil génétique fiable aux parents et d'éventuellement proposer un diagnostic prénatal ou préimplantatoire. Cette étude a également révélé de nouveaux mécanismes responsables de ces maladies.

Cette approche réalisée pour la première fois en France démontre sa faisabilité et permet de passer de 10-12% de causes génétiques identifiées par les techniques classiques à plus de 50%. Le transfert en routine du séquençage haut débit reste cependant lié à son financement et aux capacités de réalisation des plates-formes actuelles.

\*Isidor et al, Hum Mut 37:354-358, 2016

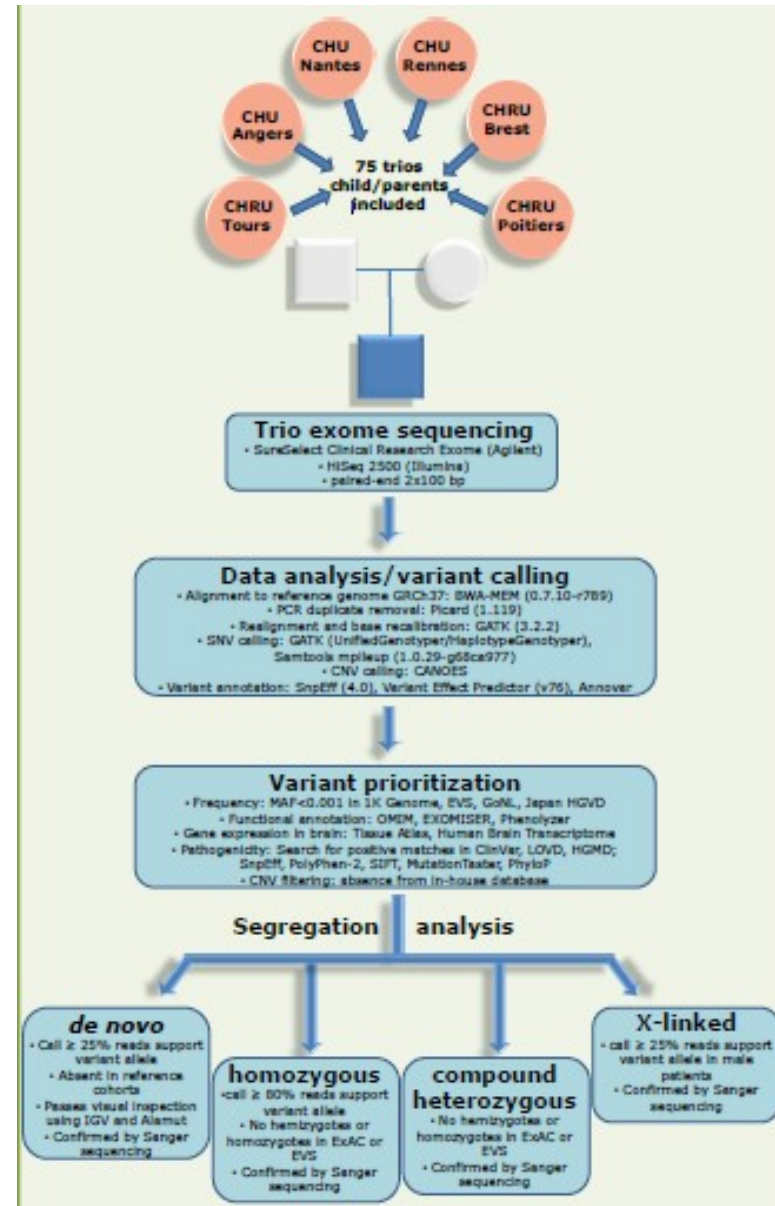
Le service de génétique médicale du CHU de Nantes (P<sup>r</sup> Stéphane Bézieau, D<sup>r</sup> Bertrand Isidor) coordonne le projet Hugodims, cofinancé par un PHRC interrégional et l'ARS Poitou-Charentes, qui a pour but d'identifier les causes génétiques de DI chez 75 enfants recrutés dans six CHU (Angers, Brest, Nantes, Poitiers, Rennes et Tours). Le projet repose sur une approche de séquençage haut-débit réalisée sur la plateforme Biogenouest (responsable : R. Redon) de 25000 gènes chez les enfants. La méthode a consisté à séquençer également les 25000 gènes présents chez les parents pour identifier plus facilement



Le séquenceur utilisé pour réaliser les analyses.

**Une pathologie fréquente**

La déficience intellectuelle touche 2% de la population, parmi lesquels 85% présentent une déficience intellectuelle légère, 10% une déficience moyenne, 3 à 4% une déficience grave et 1 à 2% une déficience profonde.



# Analyse bio-informatique: pipeline

## Fichier de séquences

Read 1

```
@M01626:70:000000000-A6E12:1:1101:15300:1737 1:N:0:5
TTCAATACAAGAGCCCCCTTACTTCCTTTTTCTATACCTTTTTCCGTAATTTCCATAATCGCCGTAAGTAGCAACAGATTCATTAACCTTTATTAAGATTAATACCTAAGAAGCTTT
GAACCACTTTGTTCCATCTGTTCTTTTGCATTTTCAACATAATTACGTTTTATTCTGCCTGCTTGGGTTACTAAAATAAAACCATCCCAACCATTAGCGCTTATTGCGGCATCA
ACAACATAACCAATCGTTTGAGTATCCATGTTAATTTAAACATCGGACATCCCACCCCTTCCCCCTCC
+
>AA11D3BB1111AFEAAF1AAFEAFEGGHCF3D3B2DFGGHGF0B0/ADBFF2F21F2//A/A//0D22BA1B000AB@1DF2DFGGG2@D2@112BB1F2FCF11011FFGF
121B?0?BFG1FGFF2BBB1BFFGGFHF>GGHFB22F1-<D1BG2BA<GFF2GGFH2@<G1@CG1A/AF/1@1111?11F1D..>>0.1>.>.<DD0/<<<<=<0::->:/0
```

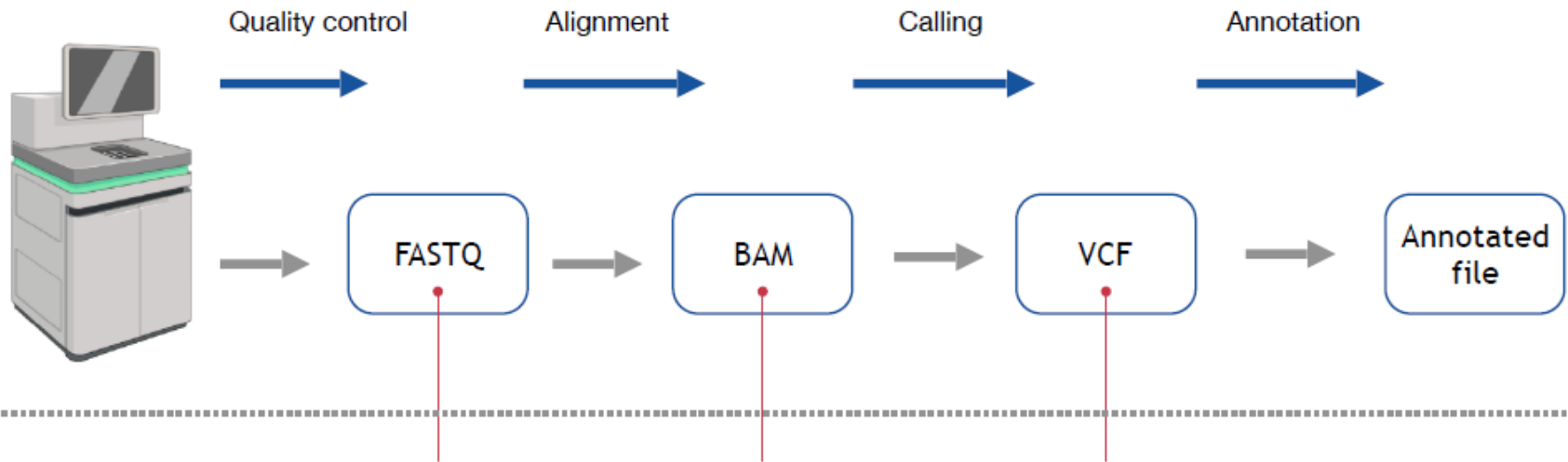
x env. 30 millions

Read 2

```
@M01626:70:000000000-A6E12:1:1101:14394:1725 1:N:0:5
GCACGATTACTTGCCTACGCTCTTTACGACGCTTTTCATCAACTTTCCATTGAATTTTTCTTGTAACCTGGTTTTATTTTTCTTTTTCTTTTTCACAAAGTCCAATCATT
TCTGTATCTAATTTTTGTTAGGACTTTTCACGGTTATTACGACGATCACGGTCGTATGTATCTTGAAATTCACCGTTT
+
1>1>11>>1BDD1AFE1A11AAAFG3B00A00AAABF2FF21AABBBA2AD111DFGDEAEADA1D12DFE00BB0F2BFFGHGECFFGFGGHHHF2>210B>>11BB1BF
```

x env. 30 millions

# Résumé des différentes étapes bioinformatiques



D'après K Riquin, PhD, 2023

Read

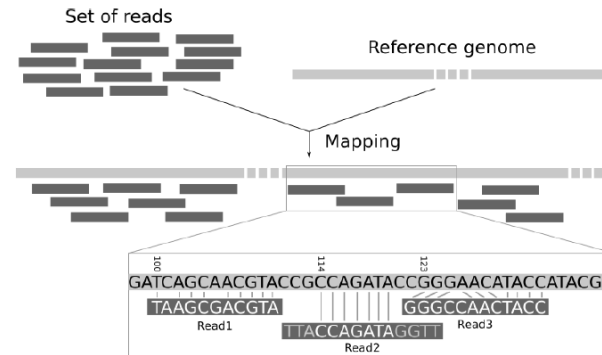
Coordonnées génomiques  
des reads

Variants  
(types, position ...)

```

Read 1: TGTAATCTG
Read 2:  ATCTGACGGA
Read 3:   CGGAACAGCT
Read 4:    GAACAGCTTT
Read 5:     CCTTTGAGTC
Read 6:      GAGTCTGTGC
Read 7:       GTGCCTGTCC
Read 8:        TGTCTGGGA
Read 9:         GGGAGTGAGC

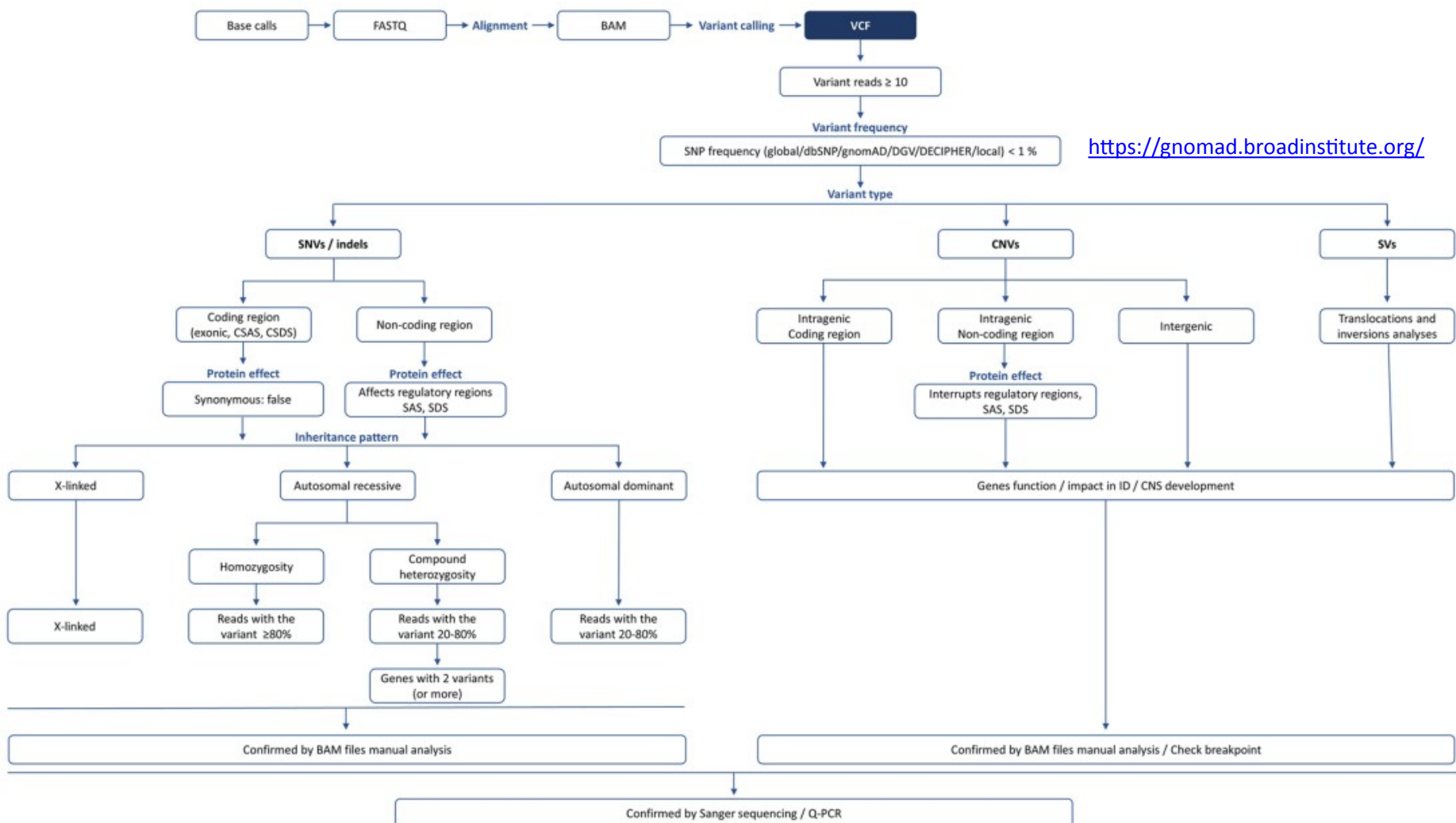
Contig: TGTAATCTGACGGAACAGCTTTGAGTCTGTGCCTGTCTGGAGTGAGC
    
```



Alignement sur génome de référence **Genome Reference Consortium Human Build 38 (GRCh38) (hg38)**

(Joachim Wolff, Bérénice Batut, Helena Rasche, 2020 Mapping Galaxy Training Materials)

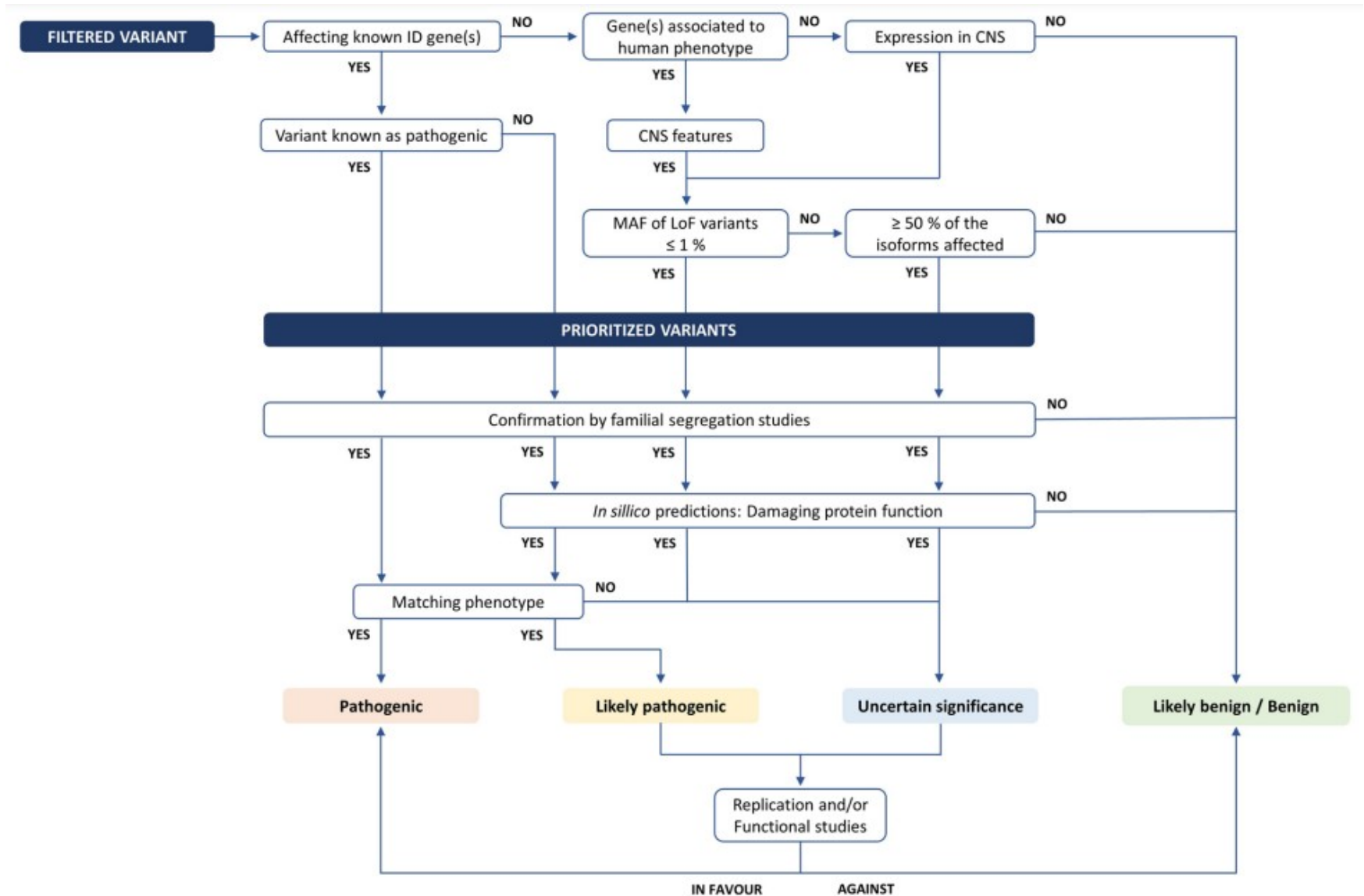
# Analyse des données de séquençage génomique : Filtration bioinformatique des variants



<https://gnomad.broadinstitute.org/>

**Fig. 4** Variant filtering flowchart. SNP – single nucleotide polymorphism; DGV – database of genomic variants; SNVs – single nucleotide variants; CNVs – copy number variants; SVs – structural variants; CSAS – canonical splicing acceptor site; CSDS – canonical splicing donor site; SAS – splicing acceptor site; SDS – Splicing donor site; Q-PCR – quantitative PCR

# Interprétation des variants sélectionnés



**Fig. 5** Variant classification flowchart. ID – intellectual disability; CNS – central nervous system; MAF – minor allele frequency; LoF – loss of function. Adapted from Schuurs-Hoeijmakers et al. [116]

# Le variant identifié est-il responsable de la pathologie ?

- Scores de prédiction bioinformatique prenant en compte:
  - SIFT: base sur la conservation de l'acide aminé chez les orthologues (sur non-synonymes connus: 69% délétères)
  - Polyphen-2: alignement de séquence + données de structure (accessibilité protéique, distance physico-chimique des aa...)

#Chr	Start	End	Ref	Alt	SIFT_score	SIFT_pred	Polyphen2_H VAR_score	Polyphen2_H VAR_pred	LRT_score	LRT_pred	MutationTaster_ score	MutationTaster_ pred
<a href="#">chr17</a>	79094294	79094294	G	A	0.73	T	0.031	B	0.005	N	1.000	N
<a href="#">chrX</a>	74334634	74334634	C	G	0.26	T	0.117	B	0.100	N	1.000	N
<a href="#">chr3</a>	38167338	38167338	G	C	0.07	T	0.998	D	0.000	D	1.000	D
<a href="#">chr5</a>	80626334	80626334	C	G	0.02	D	0.129	B	0.000	D	1.000	D
<a href="#">chr2</a>	111806832	111806832	T	A	0.92	T	.	.	0.000	D	1.000	D
<a href="#">chr16</a>	20429546	20429546	C	G	0	D	0.981	D	0.000	D	1.000	N
<a href="#">chr1</a>	120438351	120438351	C	A	0.27	T	0.88	P	0.107	N	1.000	N
<a href="#">chr10</a>	135083881	135083881	G	A	.	.	.	.	.	.	.	.
<a href="#">chr19</a>	1507270	1507270	C	T	0	D	0.994	D	0.001	D	1.000	D



Orthologues (Source: Ensembl) i

Homme	S	E	E	G	L	L	K	R	K	Q	R	R	Y	R	T	T	F
Macaque	S	E	E	G	L	L	K	R	K	Q	R	R	Y	R	T	T	F
Rat	S	E	E	G	L	L	K	R	K	Q	R	R	Y	R	T	T	F
Toupaille de Belanger	S	E	E	G	L	L	K	R	K	Q	R	R	Y	R	T	T	F
Chien	S	E	E	G	L	L	K	R	K	Q	R	R	Y	R	T	T	F
Vache	S	G	E	G	G	A	K	R	P	T	R	F	L	H	L	S	H
Opossum	S	E	E	G	L	L	K	R	K	Q	R	R	Y	R	T	T	F
Xénope	S	E	E	G	M	L	K	R	K	Q	R	R	Y	R	T	T	F
Tétraodon	S	E	E	G	M	L	K	R	K	Q	R	R	Y	R	T	T	F
Poisson zèbre	S	E	E	G	M	L	K	R	K	Q	R	R	Y	R	T	T	F





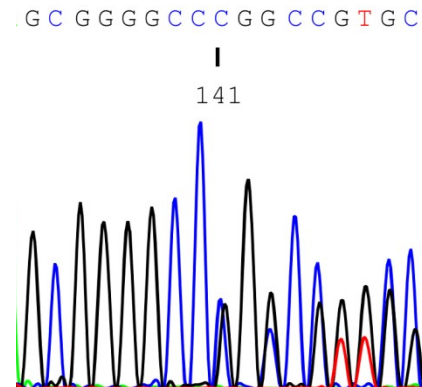
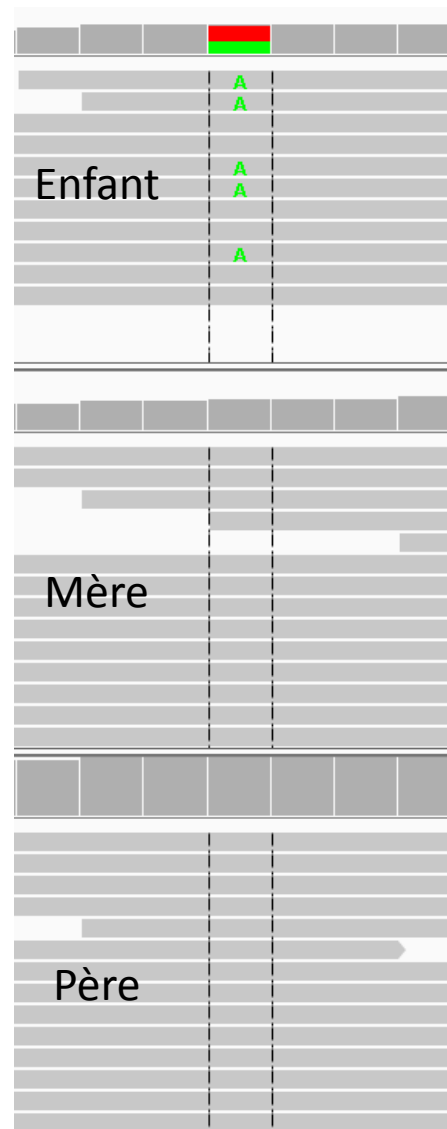
# Exemple d'identification d'un variant *de novo*

Validation IGV  
et / ou Sanger

1 500 gènes connus de DI

Outils de prédiction *in silico*  
Expression tissulaire  
Littérature...

Phénotype



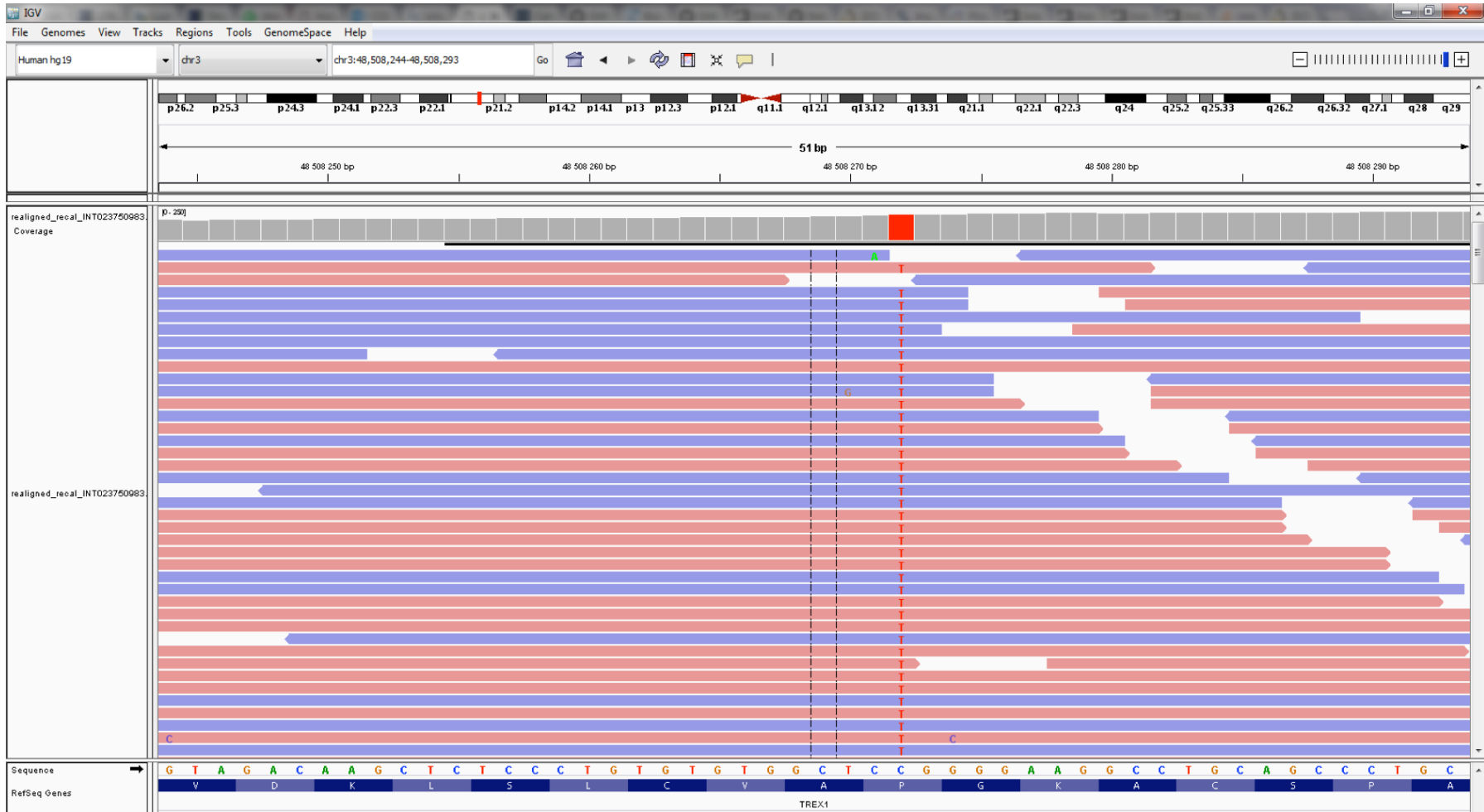
# Exemple 1

- Garçon: unique enfant d'un couple non apparenté, origine arménienne
- Encéphalopathie
- Retard staturopondéral
- PC: -6 DS => microcéphalie ++
- IRM cérébrale: N à 9 mois

⇒ ***Examens génétiques:***

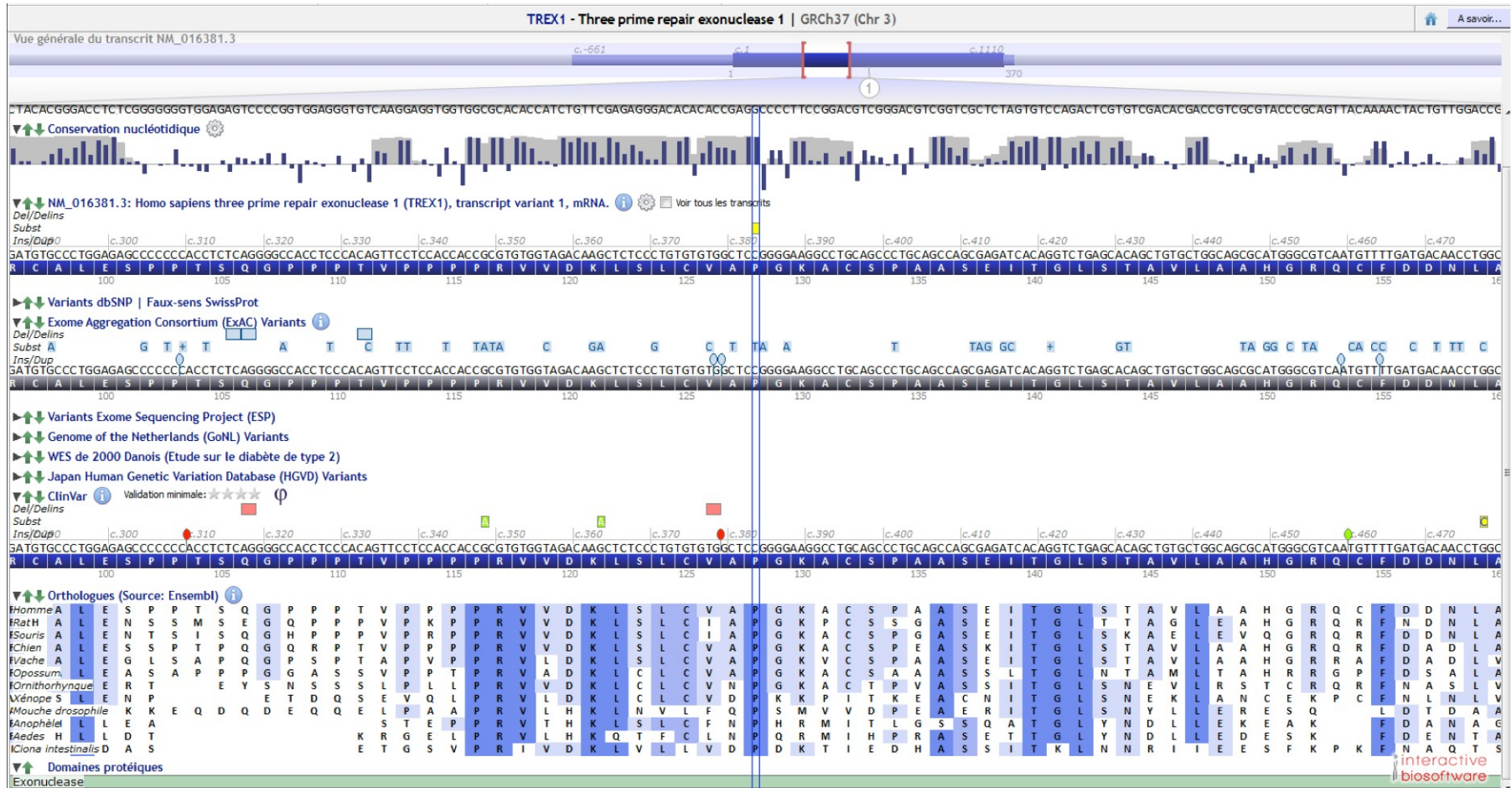
- CGH array (puce à ADN): N
- Exome

# Etude d'exome



*TREX1* : chr3 exon1 c.383C>T p.P128L

# Etude d'exome



*TREX1* : chr3 exon1 c.383C>T p.P128L , homozygote

# ***TREX1*: syndrome d'Aicardi-Goutières**

- Interféronopathie

	Syndrome d'Aicardi-Goutières	Patient
Encéphalopathie	+	+
Epilepsie	+ (50%)	-
Engelures des extrémités	+ (40%)	-
Episodes fébriles aseptiques	+	-
Microcéphalie	+	+
HSMG	+	-
Hypothyroïdie	+	+
Thrombocytopénie	+	-
Elévation des transaminases	+	-
Calcifications des noyaux gris centraux, leucodystrophie (TDM, IRM)	+	-?

Variant causal pour ce patient?

# Pathogénicité du variant?

- Variant rare: 2/121 068 (ExAc), non publié
- Logiciels bioinfo (SIFT, POLYPHEN): pathogène
- Avis Yanick Crow (réfèrent Necker): mutation déjà identifiée en Espagne

	Syndrome d'Aicardi-Goutières	Patient
<b>Encéphalopathie</b>	+	+
Epilepsie	+ (50%)	-
Engelures des extrémités	+ (40%)	-
<b>Episodes fébriles aseptiques</b>	+	<b>+ (arthrite des genoux)</b>
<b>Microcéphalie</b>	+	+
HSMG	+	-
<b>Hypothyroïdie</b>	+	+
Thrombocytopénie	+	-
<b>Élévation des transaminases</b>	+	<b>+ (hépatite aiguë)</b>
Calcifications des noyaux gris centraux, leucodystrophie (TDM, IRM)	+	-?
<b>Signature interféron</b>	+	+

**=> Variation confirmée dans gène connu de DI / Tableau clinique concordant**

# Diagnostic confirmé

- Surveillance et PEC médicales adaptées
- Conseil génétique: autosomique récessif (risque de récurrence = 25%)

## Diagnostic prénatal

### Biopsie de trophoblaste



12 SA

## Diagnostic pré-implantatoire

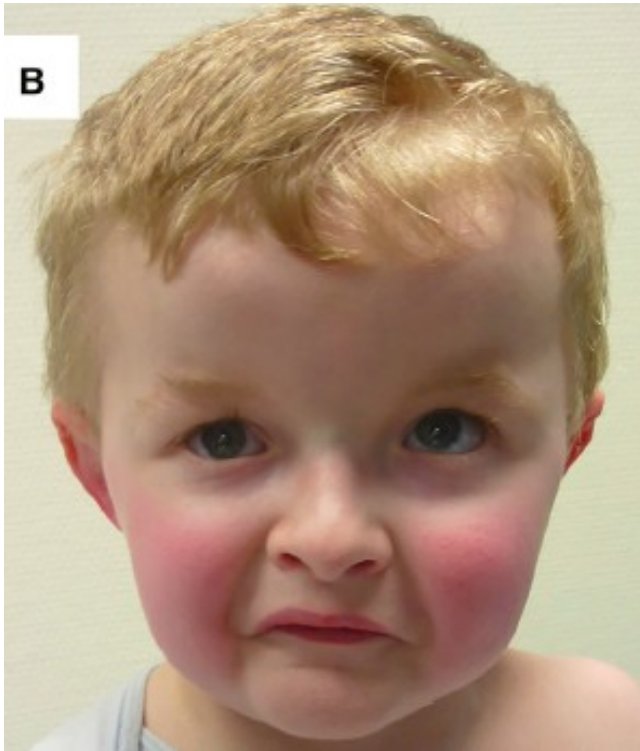
### FIV (ICSI)



Recherche de la mutation dans *TREX1*

Interruption Médicale de Grossesse?

Transfert d'un embryon sain



# Exemple 2

*DI*

**Symptômes autres que DI :**

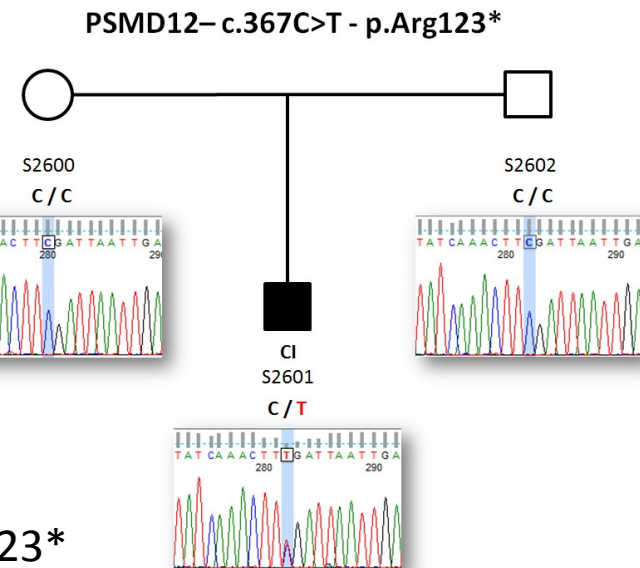
Surdit 

Malformations r nales

Ag n sie du pouce

Hypospade

Atteinte ophtalmo ( hyperm tropie, ERG anormal)



**PSMD12**

c.367C>T p.Arg123\*

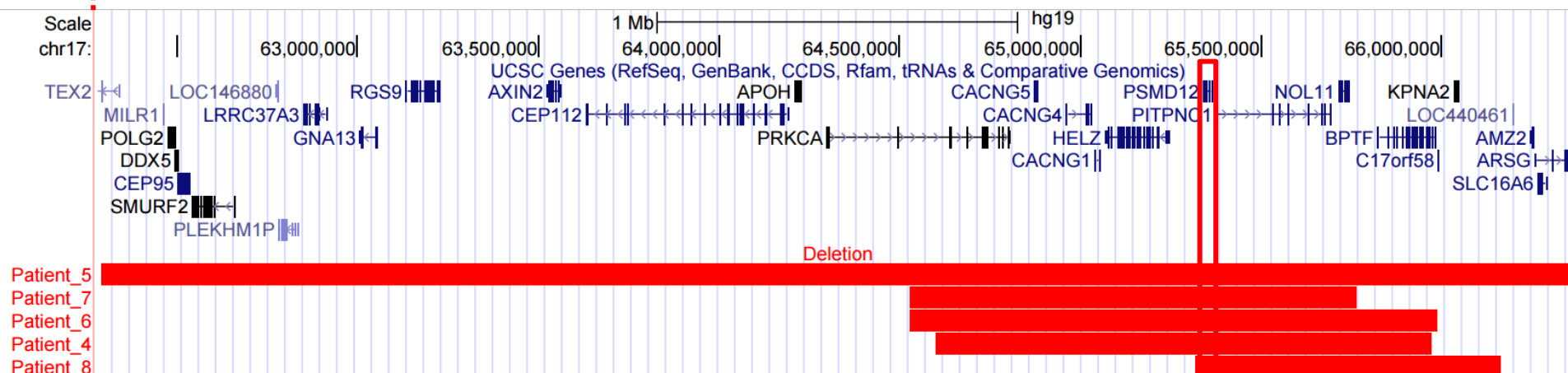
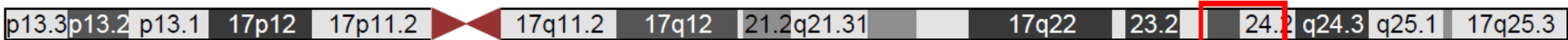
G ne non publi  en DI



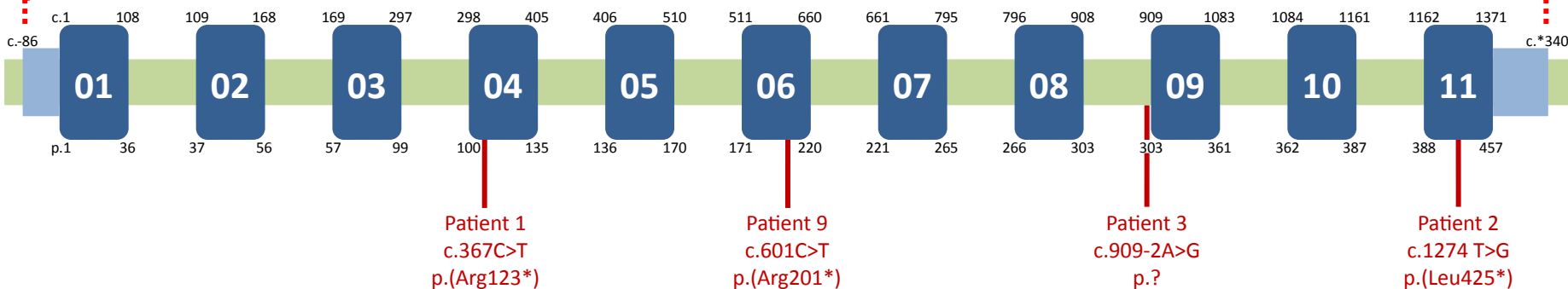
# Constitution d'une cohorte internationale de patients PSMD12

-Genematcher <https://genematcher.org/>

chr17 (q23.3-q24.2)

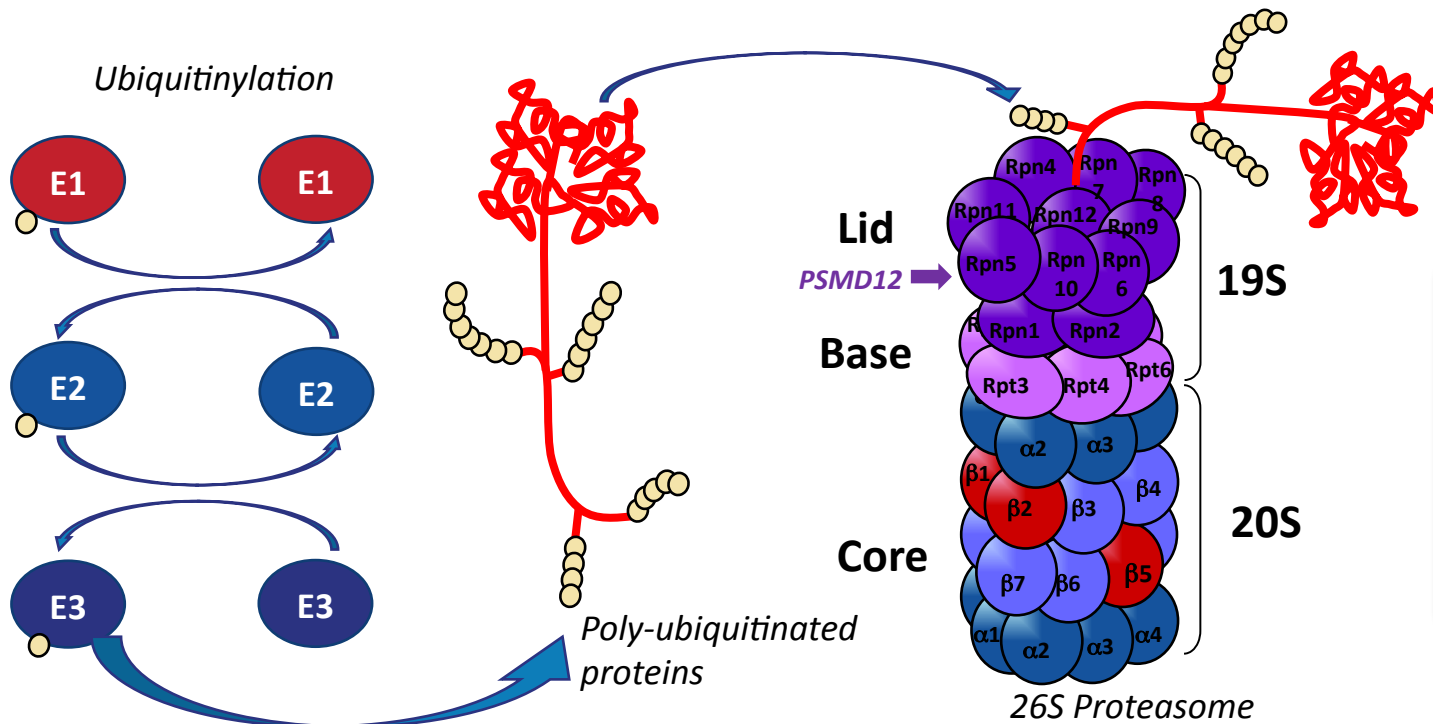


## NM\_002816.3\_PSMD12

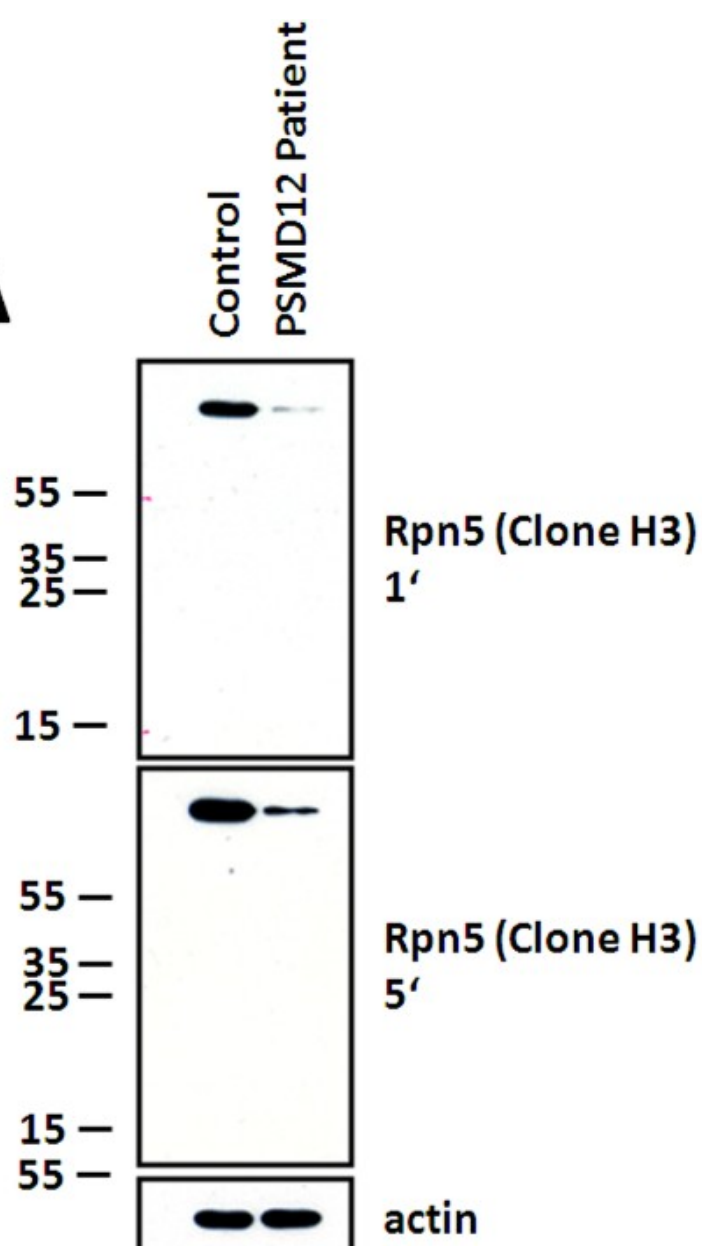
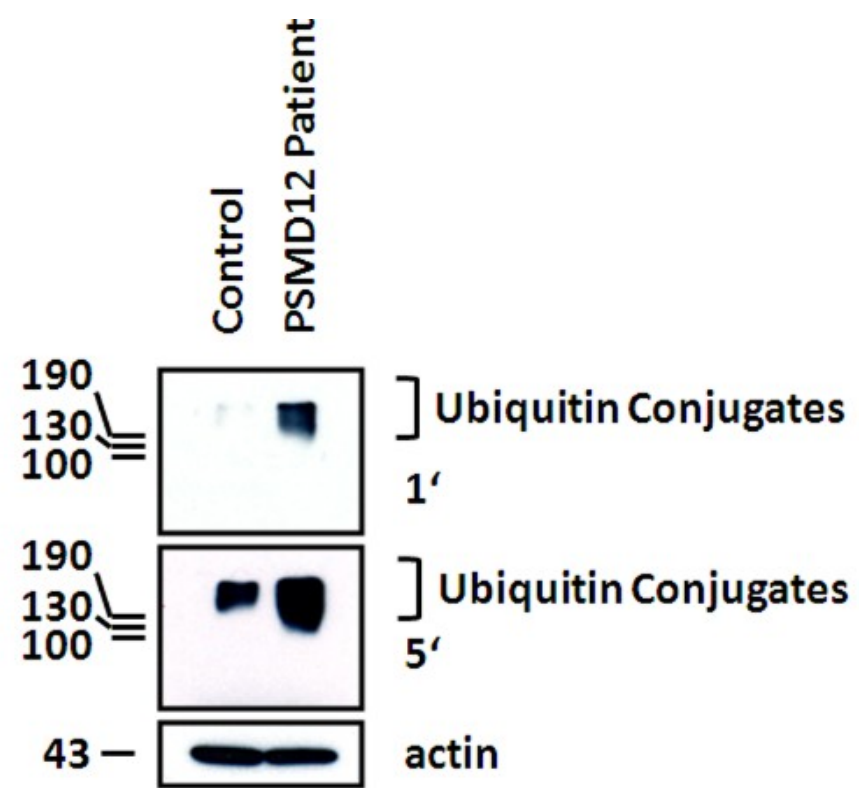


# PSMD12 (Rpn5) : un constituant du protéasome

Régulation de l'homéostasie protéique chez les eucaryotes.



10 à 15% des DI monogéniques sont dues à des variants dans des gènes du **Système Ubiquitine-protéasome (UPS)**

**A****B**

De Novo Disruption of the Proteasome Regulatory Subunit *PSMD12* Causes a Syndromic Neurodevelopmental Disorder

Sébastien Küry • Thomas Besnard • Frédéric Ebstein • ... Stéphane Béziau • Paweł Stankiewicz 40

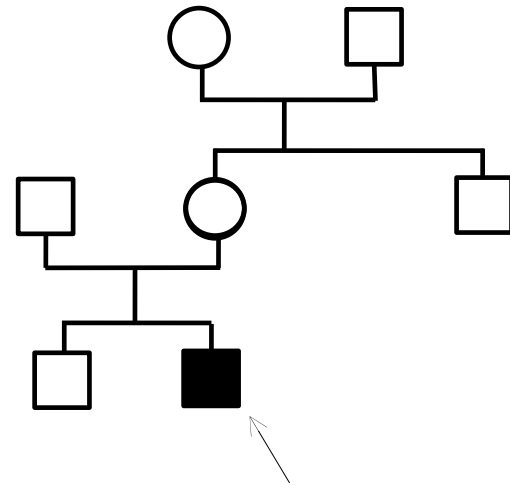
Bertrand Isidor 40 • Show all authors • Show footnotes

Open Archive • Published: January 26, 2017 • DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.01.003>

S. Küry, T. Besnard, F. Ebstein et al. (2017) *American Journal of Human Genetics*

=> Découverte d'un nouveau gène de DI

# Exemple 3



Clarté de la nuque= 6,1 mm (46,XY)

Marche 19-20 mois

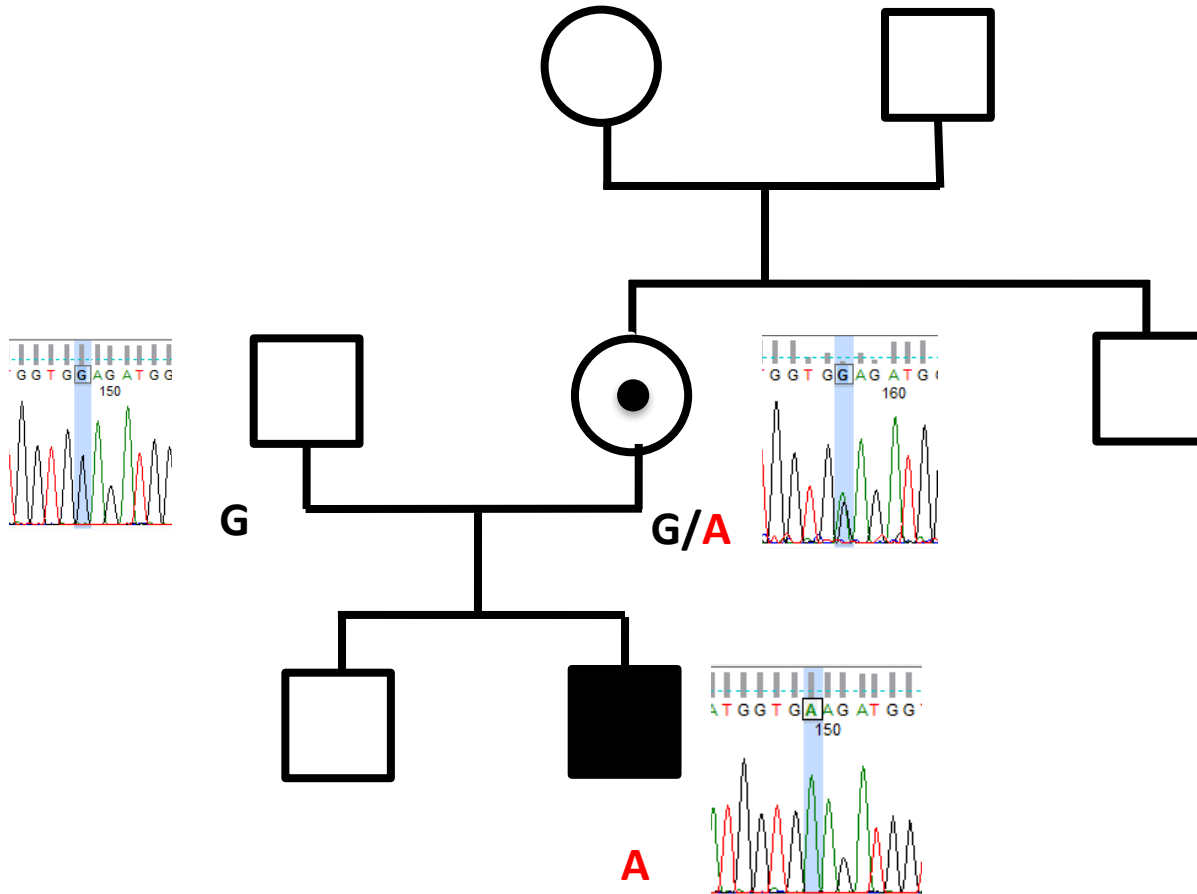
Langage: 1ers mots à 34 mois

Stéréotypies, colères

**Projet de recherche HUGODIMS:**  
exome en trio

# USP9X: c.5669G>A; p.Gly1890Glu

Variant hérité de la mère, chr. X



# REPORT

## Mutations in *USP9X* Are Associated with X-Linked Intellectual Disability and Disrupt Neuronal Cell Migration and Growth

Claire C. Homan,<sup>1</sup> Raman Kumar,<sup>2,3,4</sup> Lam Son Nguyen,<sup>4,12</sup> Eric Haan,<sup>4,5</sup> F. Lucy Raymond,<sup>6</sup> Fatima Abidi,<sup>7</sup> Martine Raynaud,<sup>8,9</sup> Charles E. Schwartz,<sup>7</sup> Stephen A. Wood,<sup>10</sup> Jozef Gecz,<sup>1,2,4,11,\*</sup> and Lachlan A. Jolly<sup>4,11,\*</sup>

**Table 1. Summary of Key Clinical Features of Affected Individuals**

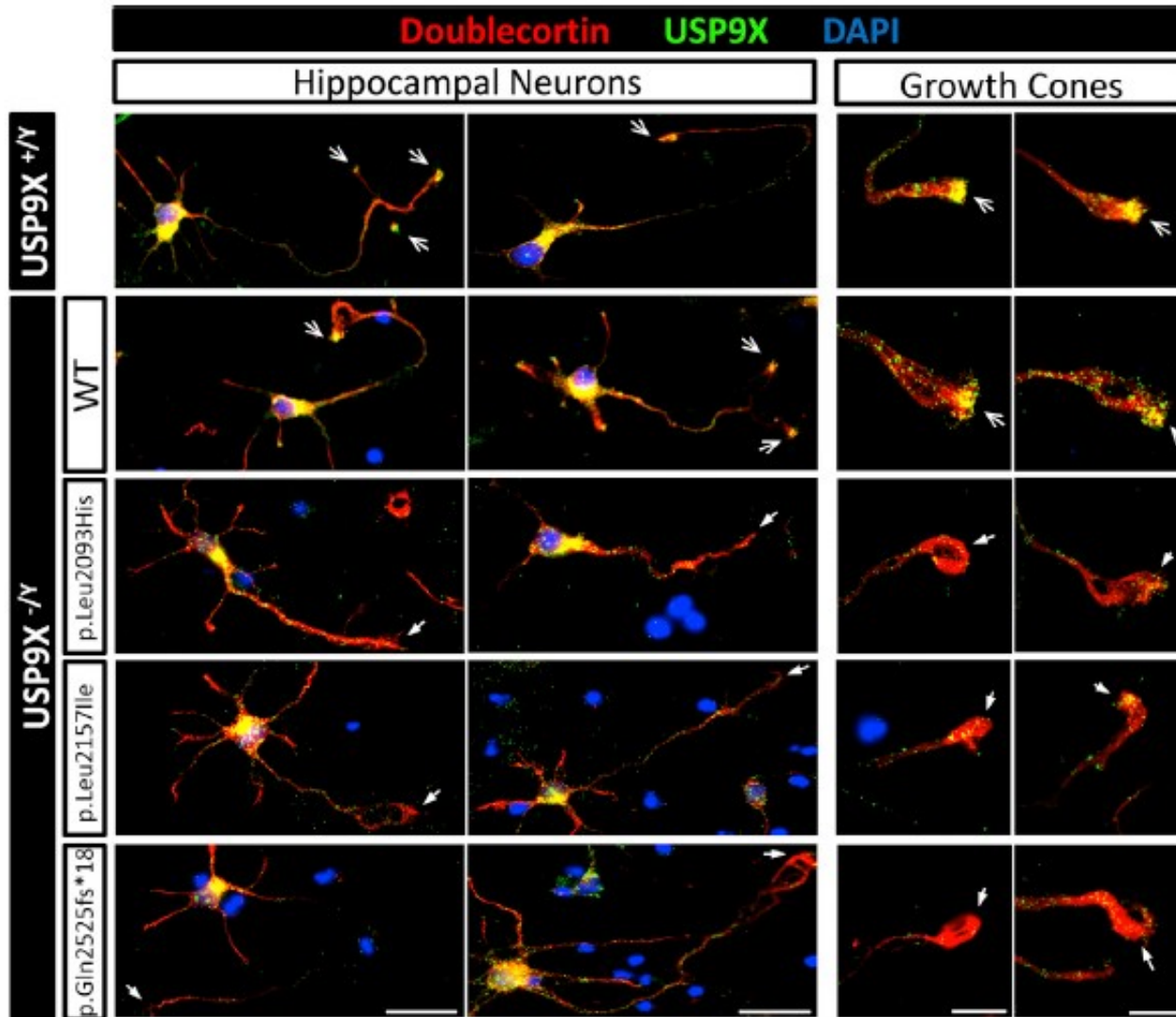
	Family 1	Family 2	Family 3
USP9X mutation	c.6278T>A (p.Leu2093His)	c.6469C>A (p.Leu2157Ile)	c.7574delA (p.Gln2525fs*18)
Number of affected males	1	1	3
<b>Neurological Features</b>			
ID (severity)	1/1 (mild)	1/1 (mild)	3/3 (mild-moderate)
Autism	0/1	1/1	1/3
Aggression	1/1	0/1	0/3
Obsessiveness	0/1	1/1	1/3
Hypotonia	1/1	1/1	3/3
<b>Dysmorphic Features</b>			
Craniofacial	relative macrocephaly and prominent forehead	0/1	0/3
Digital	broad thumbs and great toes	broad thumbs and curling toenails	0/3

### Growth

	age 21 months: Ht: 78.5 cm (3%) Wt: 11.4 kg (25%) HC: 50.5 cm (95%)	age 12 months: Ht: 70.4 cm (3%) Wt: 7.87 Kg (<3%) HC: 44.7 cm (3%–25%)	ND
		age 9 years: Ht: 124 cm (5%) Wt: 24.1 kg (10%)	
Other	hyperextensible joints and skin, constipation	IUGR, ectopic left kidney, tracheomalacia, gastresophageal reflux, upper airway congestion, hypospadias, retractable left testis	ND

Abbreviations are as follows: Ht, height; Wt, weight; HC, head circumference; IUGR, intrauterine growth restriction; %, percentile; ND, no data.

=> Rôle dans la migration et la croissance neuronale



Diminution de la co-localisation de USP9X et DCX au niveau du cône de croissance de l'axone

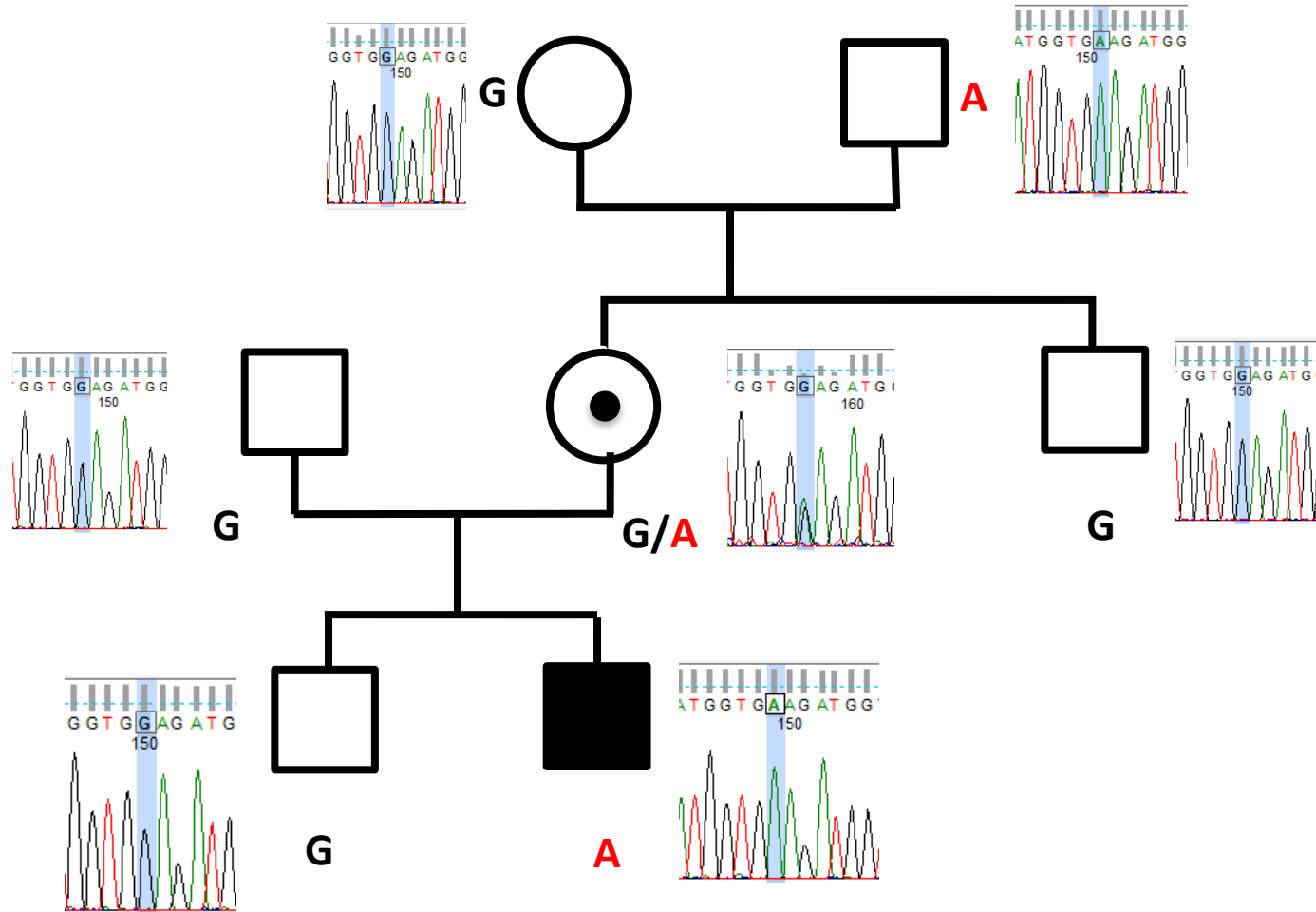
# Pathogénicité du variant?

- **USP9X, c. 5669G>A, p.Gly1890Glu**
- Nature de la variation?
- Que proposez-vous?



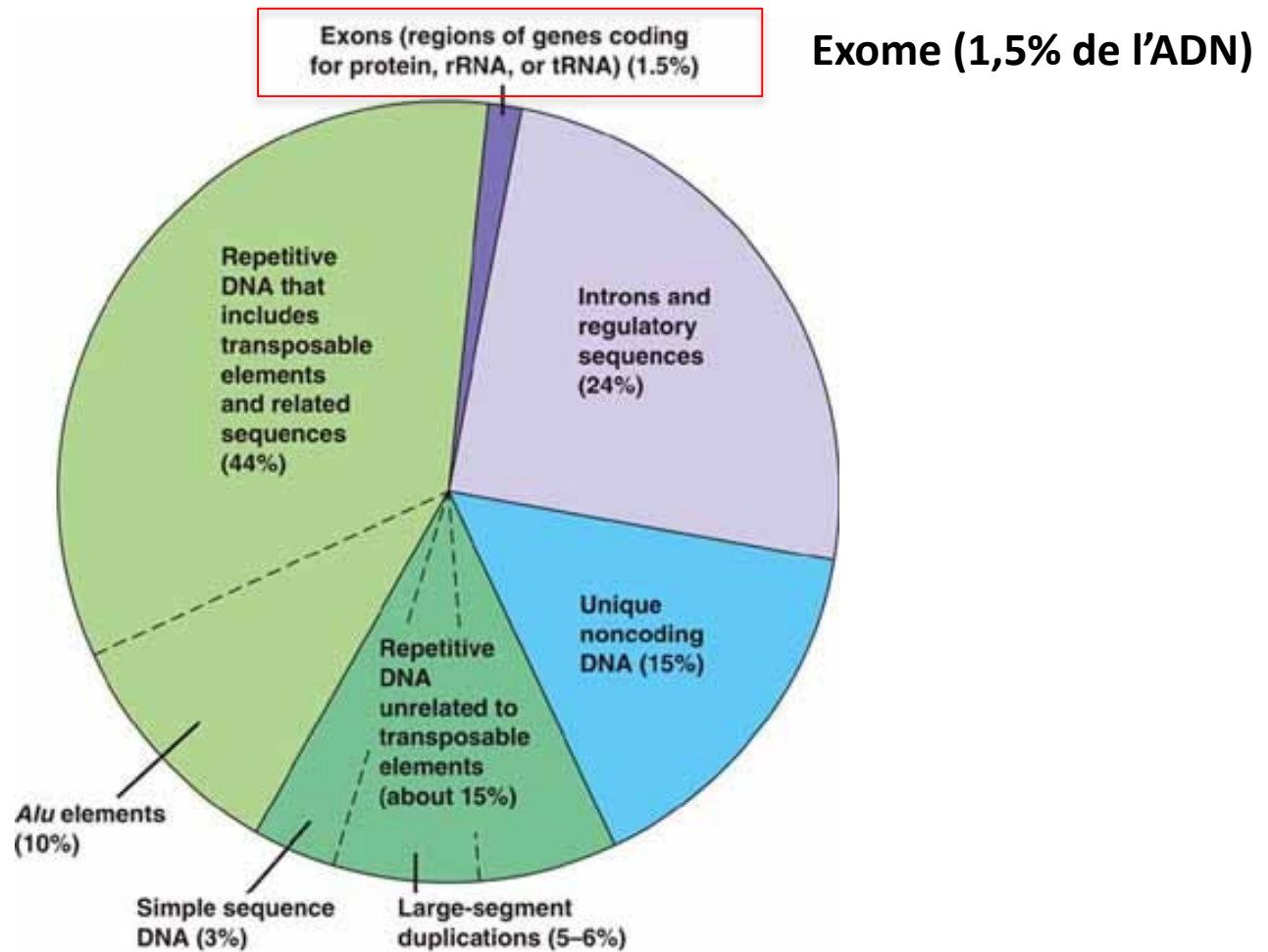
# USP9X: c.5669G>A; p.Gly1890Glu

Variant hérité de la mère, chr. X



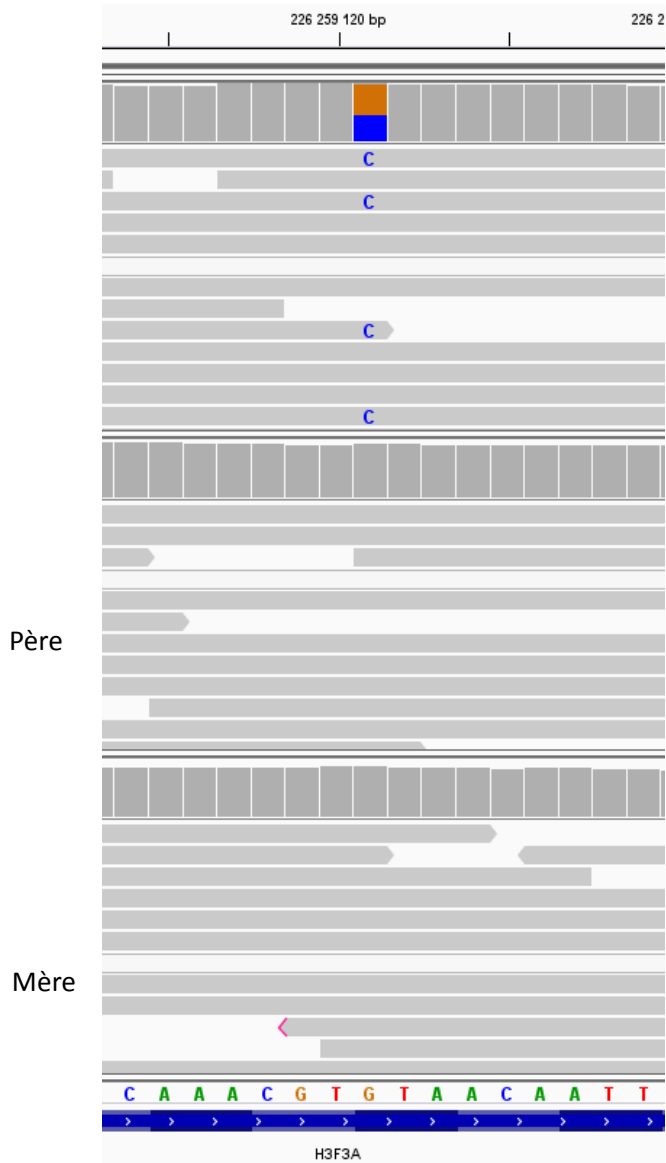
Grand-père asymptotique porteur du variant, pas en mosaïque  
⇒ **Gène connu DI, mais variant probablement non pathogène**  
⇒ **Etude de génome (projet de recherche)**

# Génome Vs Exome



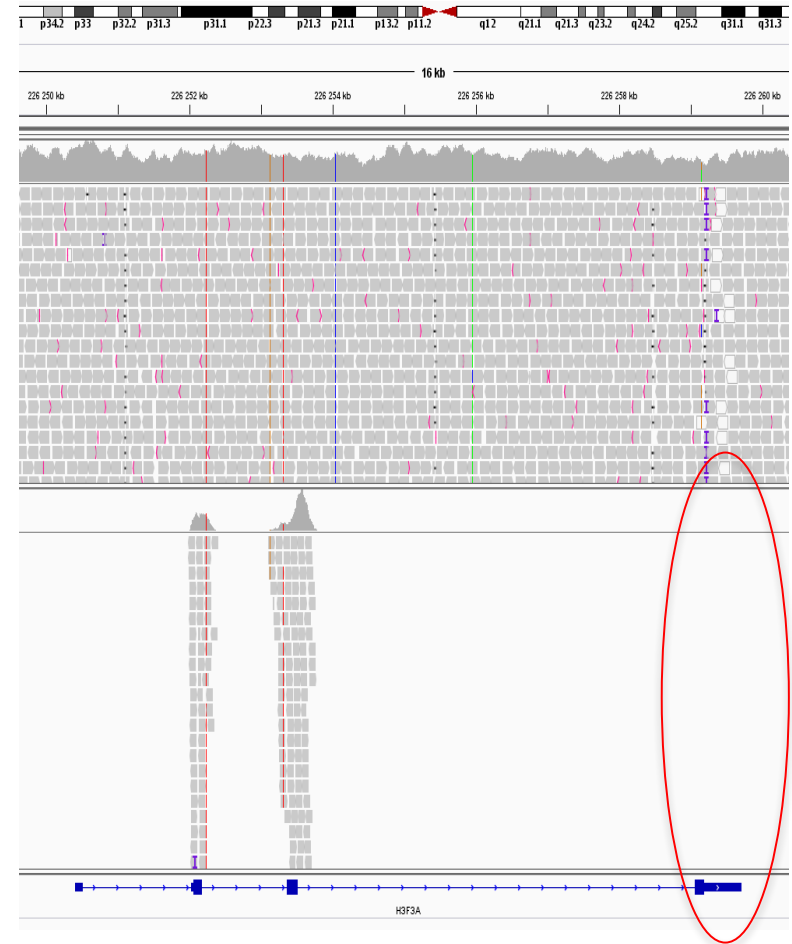
# Néomutations dans *H3F3A* codant l'histone H3.3

c.352G>C;(p.V118L)

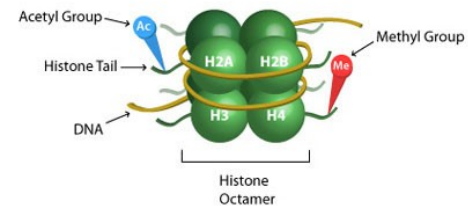


Genome

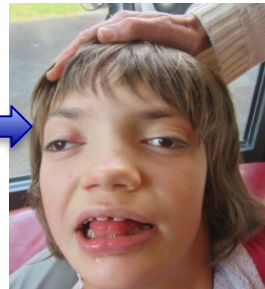
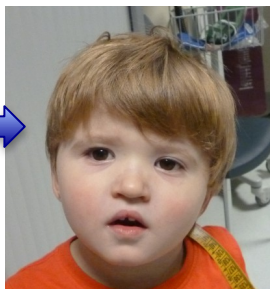
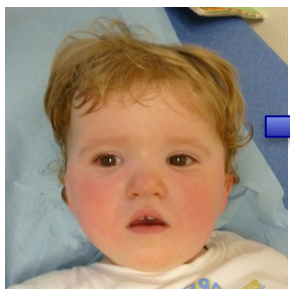
Exome



*H3F3A*



# DI liée à des mutations dans *H3F3A* et *H3F3B*



# Contexte : vers une médecine génomique



- Maladies concernées
  - Maladies rares
  - Cancers héréditaires ou non (+ analyses tumeurs)
  - Maladies complexes
- Enjeu de santé publique
- Scientifique et clinique
- Technologique
- Economique

Déficience intellectuelle => Etude DEFIDIAG

**➔ Objectif : réduire l'errance diagnostique / séquençage de milliers de génomes**

# Vers la thérapeutique?

## DIAGNOSTIC

Identification de « nouveaux »  
gènes



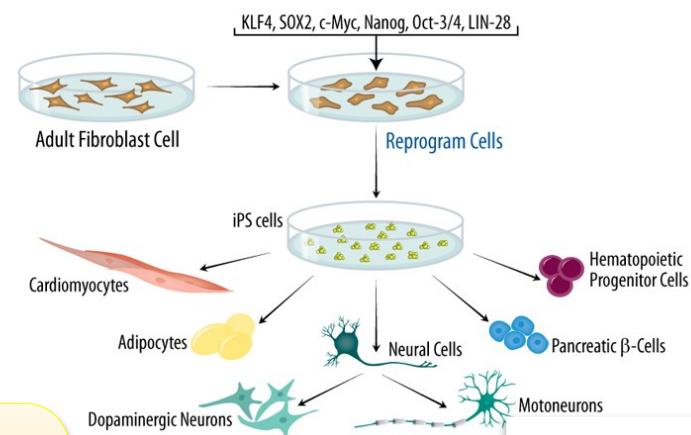
## PHYSIOPATHOLOGIE

Validation fonctionnelle  
sur modèles cellulaires / animaux



## THÉRAPEUTIQUE

Criblage moléculaire  
Thérapie génique...



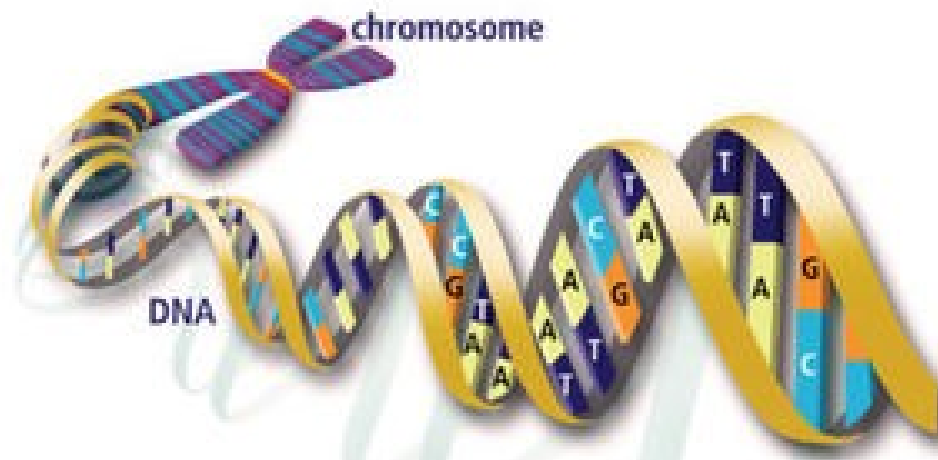
Les frères DéfisScience et AnDDI-Rares présentent

DÉFICIENCE INTELLECTUELLE ET RECHERCHE :  
DU DIAGNOSTIC AU TRAITEMENT

Quels traitements envisager et quelles pistes pour la recherche ?

# Plan

- **Introduction:**
  - définition de la DI
  - épidémio
  - étiologies
- **Médecine de précision:**
  - séquençage haut débit : étude d'exome
  - 3 exemples (diagnostic / recherche)
- **Questions éthiques**



a	Light microscope	G-banded karyotype	Microarray	Whole-exome sequence	Whole-genome sequence
Appearance				CGGATGATTACCCGTT G.....GCTC TAGCTAGCTATA....	CGGATGATTACCCGTT GATATAGCTCTCGCTC GCTCTAGCTAGCTATA GGCTATGGGTGGGGGC
Resolution	Entire chromosome	5–10 Mb	50–100 kb	1 bp	1 bp
Number of loci probed	N/A	~500	~0.05–2 million	~50 million	3 billion
Variants detected	Aneuploidy, polyploidy	Variants >5 Mb	Copy number variants	Coding regions	Majority of variants
Variants per person	0 or 1	0 or 1	10–100s	~20,000	4–5 million
Diagnostic yield	Low	—————→			High
Incidental findings	Low	—————→			High



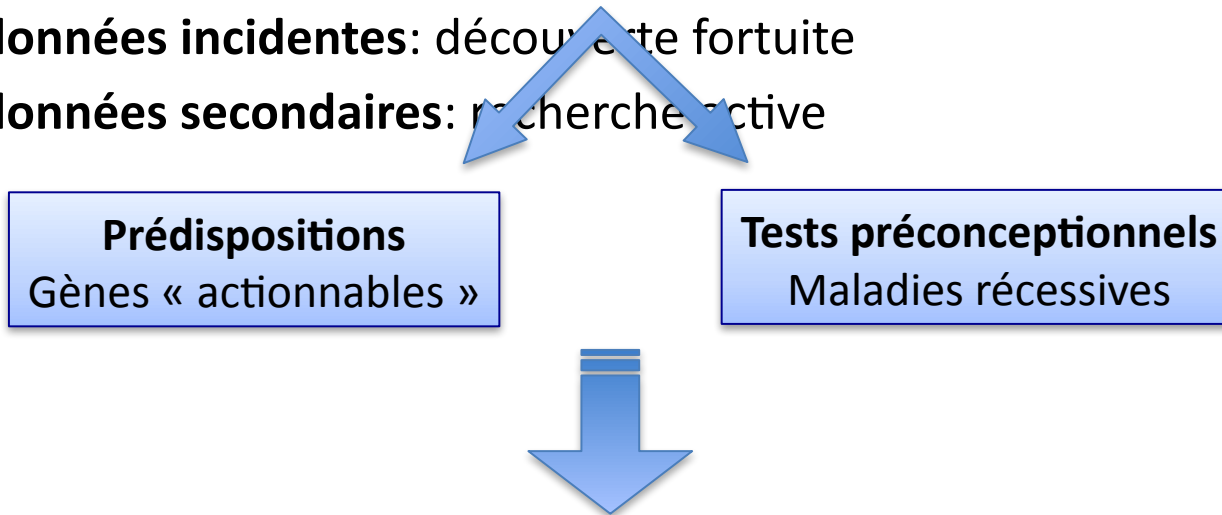
# Données additionnelles

- *Définition:*

Mise en évidence d'une anomalie ou prédisposition génétique,

indépendante de la pathologie recherchée (donnée primaire):

- **données incidentes:** découverte fortuite
- **données secondaires:** recherche active



**Vers une médecine préventive / prédictive ?**

# American College of Medical Genetics and Genomics

© American College of Medical Genetics and Genomics

**ACMG POLICY STATEMENT**

**Genetics  
inMedicine**

## **ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing**

Robert C. Green, MD, MPH<sup>1,2</sup>, Jonathan S. Berg, MD, PhD<sup>3</sup>, Wayne W. Grody, MD, PhD<sup>4-6</sup>,  
Sarah S. Kalia, ScM, CGC<sup>1</sup>, Bruce R. Korf, MD, PhD<sup>7</sup>, Christa L. Martin, PhD, FACMG<sup>8</sup>,  
Amy L. McGuire, JD, PhD<sup>9</sup>, Robert L. Nussbaum, MD<sup>10</sup>, Julianne M. O'Daniel, MS, CGC<sup>3</sup>,  
Kelly E. Ormond, MS, CGC<sup>11</sup>, Heidi L. Rehm, PhD, FACMG<sup>2,12</sup>, Michael S. Watson, PhD, FACMG<sup>13</sup>,  
Marc S. Williams, MD, FACMG<sup>14</sup> and Leslie G. Biesecker, MD<sup>15</sup>

---

**Disclaimer:** These recommendations are designed primarily as an educational resource for medical geneticists and other health-care providers to help them provide quality medical genetic services. Adherence to these recommendations does not necessarily ensure a successful medical outcome. These recommendations should not be considered inclusive of all proper procedures and tests or exclusive of other procedures and tests that are reasonably directed to obtaining the same results. In determining the propriety of any specific procedure or test, geneticists and other clinicians should apply their own professional judgment to the specific clinical circumstances presented by the individual patient or specimen. It may be prudent, however, to document in the patient's record the rationale for any significant deviation from these recommendations.

---

# Tests « obligatoires »

**Table 1** Conditions, genes, and variants recommended for return of incidental findings in clinical sequencing

Phenotype	MIM-disorder	PMID-Gene Reviews entry	Typical age of onset	Gene	MIM-gene	Inheritance <sup>a</sup>	Variants to report <sup>b</sup>
Hereditary breast and ovarian cancer	604370 612555	20301425	Adult	<i>BRCA1</i>	113705	AD	KP and EP
				<i>BRCA2</i>	600185		
Li–Fraumeni syndrome	151623	20301488	Child/adult	<i>TP53</i>	191170	AD	KP and EP
Peutz–Jeghers syndrome	175200	20301443	Child/adult	<i>STK11</i>	602216	AD	KP and EP
Lynch syndrome	120435	20301390	Adult	<i>MLH1</i>	120436	AD	KP and EP
				<i>MSH2</i>	609309		
				<i>MSH6</i>	600678		
				<i>PMS2</i>	600259		
Familial adenomatous polyposis	175100	20301519	Child/adult	<i>APC</i>	611731	AD	KP and EP
<i>MYH</i> -associated polyposis; adenomas, multiple colorectal, <i>FAP</i> type 2; colorectal adenomatous polyposis, autosomal recessive, with pilomatricomas	608456 132600	23035301	Adult	<i>MUTYH</i>	604933	AR <sup>c</sup>	KP and EP
Von Hippel–Lindau syndrome	193300	20301636	Child/adult	<i>VHL</i>	608537	AD	KP and EP
Multiple endocrine neoplasia type 1	131100	20301710	Child/adult	<i>MEN1</i>	613733	AD	KP and EP
Multiple endocrine neoplasia type 2	171400 162300	20301434	Child/adult	<i>RET</i>	164761	AD	KP
Familial medullary thyroid cancer <sup>d</sup>	1552401	20301434	Child/adult	<i>RET</i>	164761	AD	KP
<i>PTEN</i> hamartoma tumor syndrome	153480	20301661	Child/adult	<i>PTEN</i>	601728	AD	KP and EP
Retinoblastoma	180200	20301625	Child	<i>RB1</i>	614041	AD	KP and EP

## Liste définie de pathologies (69 gènes) concernant:

- Predisposition au cancer
- Maladies vasculaires: Ehlers Danlos, Loeys-Dietz
- Cardiomyopathie, troubles du rythme cardiaque...
- Susceptibilité à l'hyperthermie maligne

# Débats

Genetics  
inMedicine

## ACMG POLICY STATEMENT

© American College of Medical Genetics and Genomics

### ACMG policy statement: updated recommendations regarding analysis and reporting of secondary findings in clinical NGS testing

© 2014 John Wiley & Sons A/S.  
Published by John Wiley & Sons Ltd  
CLINICAL GENETICS  
doi: 10.1111/cgge.12460

GENETICS

Molecular and Personalized Medicine

Clin Genet 2015; 87: 301–310  
Printed in Singapore. All rights reserved

Review

### Predictive genetic disorders in mind: arguments for and against guidelines

MEETING REPORT

### Towards a European consensus for reporting incidental findings during clinical NGS testing

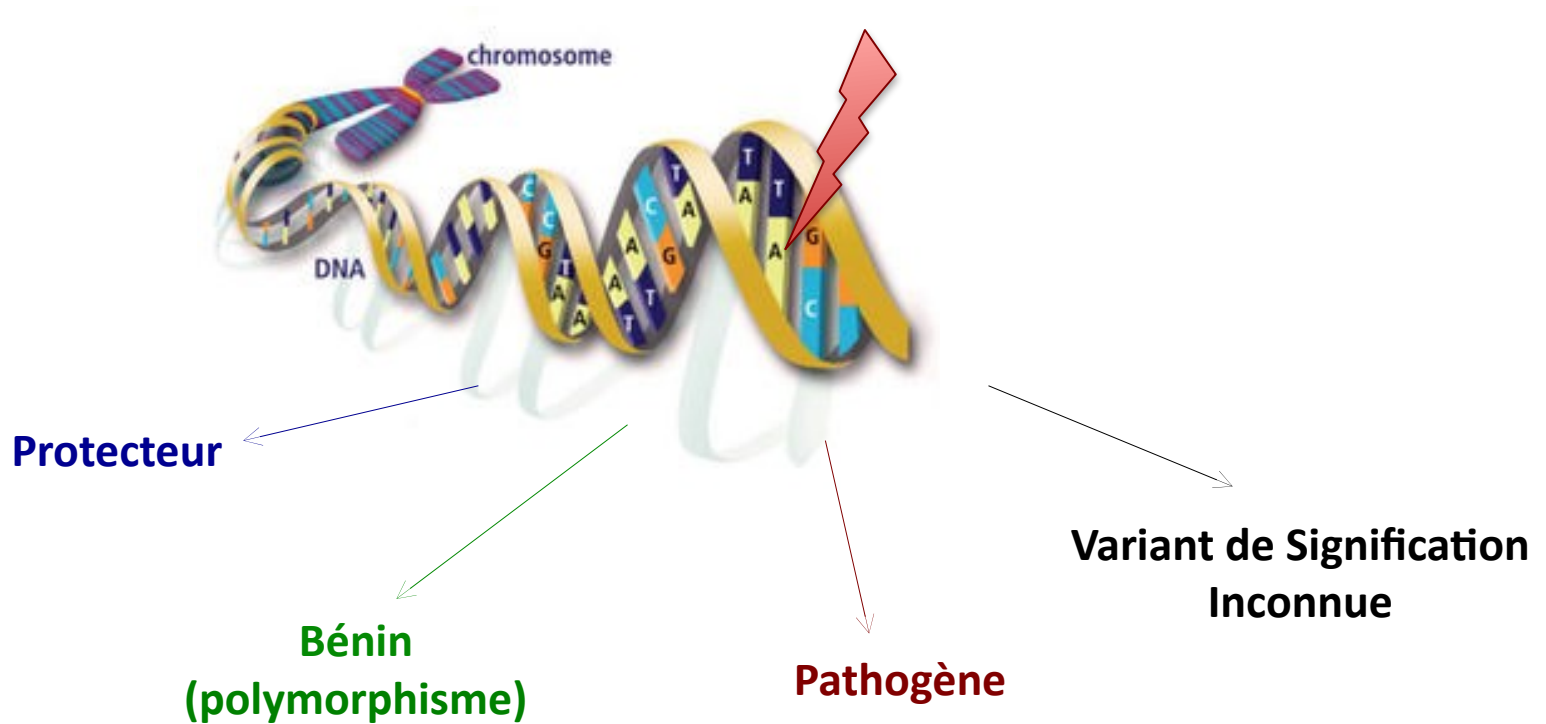
Jayne Y Hehir-Kwa<sup>\*,1,2</sup>, Mireille Claustres<sup>3</sup>, Ros J Hastings<sup>4</sup>, Conny van Ravenswaaij-Arts<sup>5</sup>, Gabrielle Christenhusz<sup>6</sup>, Maurizio Genuardi<sup>7</sup>, Béla Melegh<sup>8</sup>, Anne Cambon-Thomsen<sup>9</sup>, Philippos Patsalis<sup>10</sup>, Joris Vermeesch<sup>11</sup>, Martina C Cornel<sup>12</sup>, Beverly Searle<sup>13</sup>, Aarno Palotie<sup>14</sup>, Ettore Capoluongo<sup>15</sup>, Borut Peterlin<sup>16</sup>, Xavier Estivill<sup>17,18,19</sup> and Peter N Robinson<sup>20,21,22</sup>

European Journal of Human Genetics (2015) 23, 1601–1606  
© 2015 Macmillan Publishers Limited All rights reserved 1018-4813/15  
www.nature.com/ejhg

npg

=> intérêt de l'enfant

# Difficultés d'interprétation des données



*Analyse de NGS:*

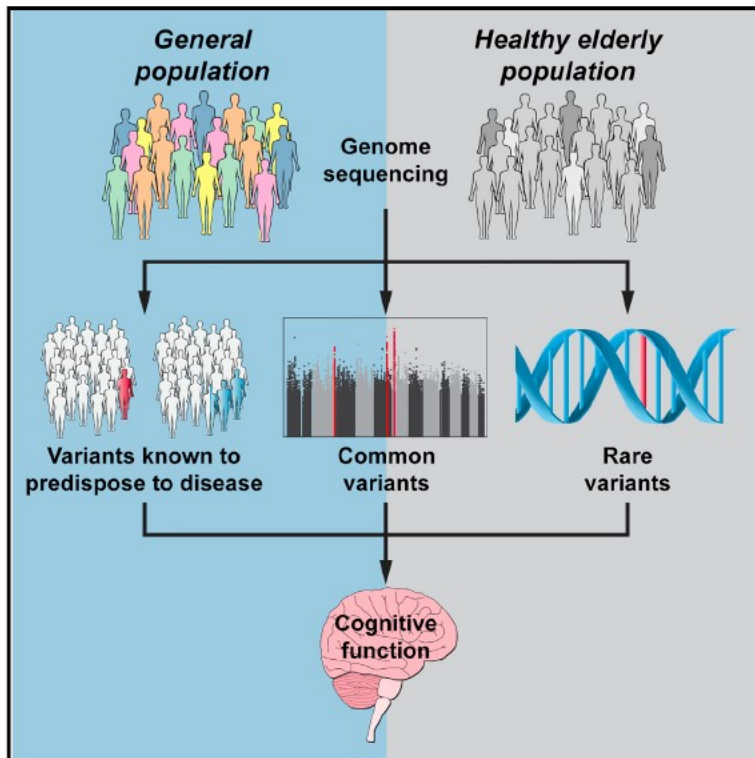
- Généticiens biologistes, bioinformaticiens
- Outils bioinformatiques
- Confrontation clinico-moléculaire

# Difficultés d'interprétation des données

- Variant « pathogène » identifié dans des cas familiaux :  
quid en population générale?



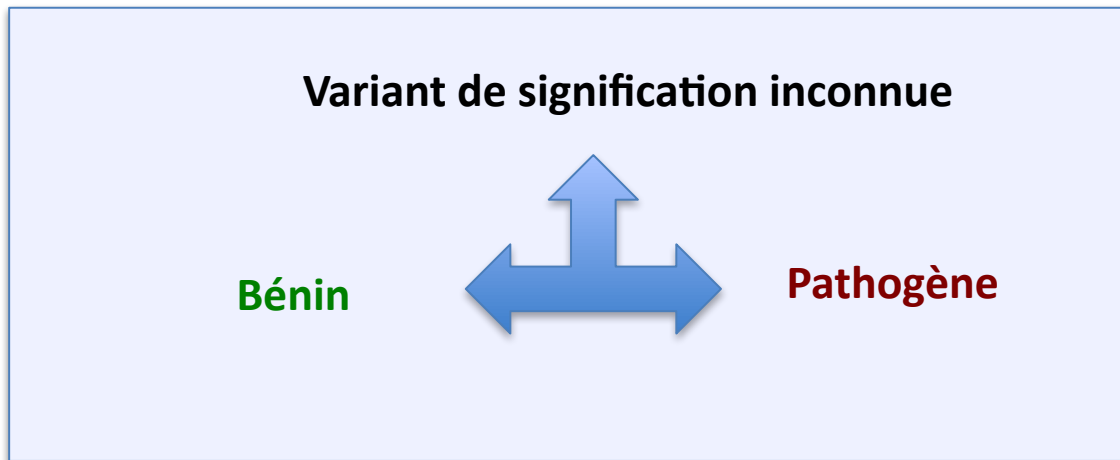
# Difficultés d'estimation du « sur-risque » potentiel



- En l'absence d'ATCD familiaux
- Etudes chez des personnes âgées:
  - Cohorte Welllderly (> 80 ans, USA)  
**Pas de différence significative pour les variants de l' ACMG !**
- Facteurs protecteurs à prendre en compte: génétiques, surtout environnementaux, hygiène de vie, etc.

# Evolution des connaissances dans le temps

- Changement du caractère pathogène / bénin d'un variant :



*BRCA2*: variants **pathogènes** => **VSI**

c.6937+1G>A

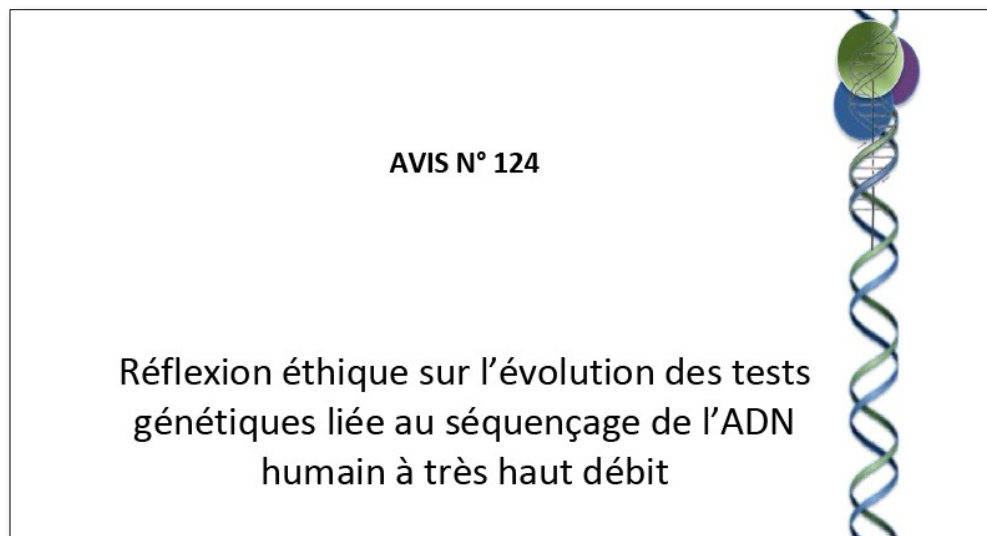
c.6901G>T (p.(Glu2301\*))

- Comment gérer la réinterprétation des données de NGS?



# Comité Consultatif National d'Ethique

## janvier 2016



**Unesco 2002 :** « *Génétique, jusqu'où peut-on aller trop loin ?* »

**CCNE:** « *jusqu'où a-t-on le droit d'aller ?* »

« Cette évolution technique risque de nous faire passer d'une génétique dont **l'objet central était d'expliquer la maladie**, à une génétique dont l'objectif principal deviendrait la **prédiction de cette maladie**, avec le **risque d'atteinte à la liberté** que cela comporte dans un **objectif de santé publique** **possiblement interventionniste.** »

# Actualités en France

- **Révision des lois de Bioéthique**
  - Rendu des données incidentes mais pas secondaires
  - Pas de tests préconceptionnels en population générale
- **Plan France Médecine Génomique**
  - Actuellement: données secondaires non proposées
  - Protocole en cours DEFIDIAG: données secondaires proposées aux parents

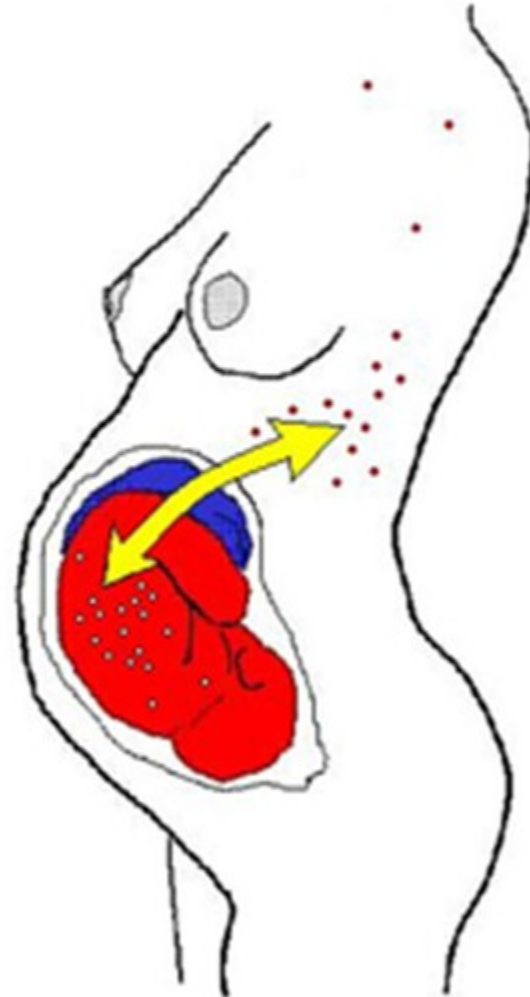


# Autre application: prénatale

- **Diagnostic prénatal non invasif: (10 SA)**

Prise de sang maternel

- Sexe foetal
- Rhésus
- Trisomie 21
- ...NGS : exome, génome



# DPN non invasif: séquençage haut débit

## RESEARCH ARTICLE

### GENOMICS

## Noninvasive Whole-Genome Sequencing of a Human Fetus

Jacob O. Kitzman,<sup>1\*</sup> Matthew W. Snyder,<sup>1</sup> Mario Ventura,<sup>1,2</sup> Alexandra P. Lewis,<sup>1</sup> Ruolan Qiu,<sup>1</sup> LaVone E. Simmons,<sup>3</sup> Hilary S. Gammill,<sup>3,4</sup> Craig E. Rubens,<sup>5,6</sup> Donna A. Santillan,<sup>7</sup> Jeffrey C. Murray,<sup>8</sup> Holly K. Tabor,<sup>5,9</sup> Michael J. Bamshad,<sup>1,5</sup> Evan E. Eichler,<sup>1,10</sup> Jay Shendure<sup>1\*</sup>

Analysis of cell-free fetal DNA in maternal plasma holds promise for the development of noninvasive prenatal genetic diagnostics. Previous studies have been restricted to detection of fetal trisomies, to specific paternally inherited mutations, or to genotyping common polymorphisms using material obtained invasively, for example, through chorionic villus sampling. Here, we combine genome sequencing of two parents, genome-wide maternal haplotyping, and deep sequencing of maternal plasma DNA to noninvasively determine the genome sequence of a human fetus at 18.5 weeks of gestation. Inheritance was predicted at  $2.8 \times 10^6$  parental heterozygous sites with 98.1% accuracy. Furthermore, 39 of 44 de novo point mutations in the fetal genome were detected, albeit with limited specificity. Subsampling these data and analyzing a second family trio by the same approach indicate that parental haplotype blocks of ~300 kilo-base pairs combined with shallow sequencing of maternal plasma DNA is sufficient to substantially determine the inherited complement of a fetal genome. However, ultradeep sequencing of maternal plasma DNA is necessary for the practical detection of fetal de novo mutations genome-wide. Although technical and analytical challenges remain, we anticipate that noninvasive analysis of inherited variation and de novo mutations in fetal genomes will facilitate prenatal diagnosis of both recessive and dominant Mendelian disorders.

2012

=> Nécessité d'un encadrement légal et éthique

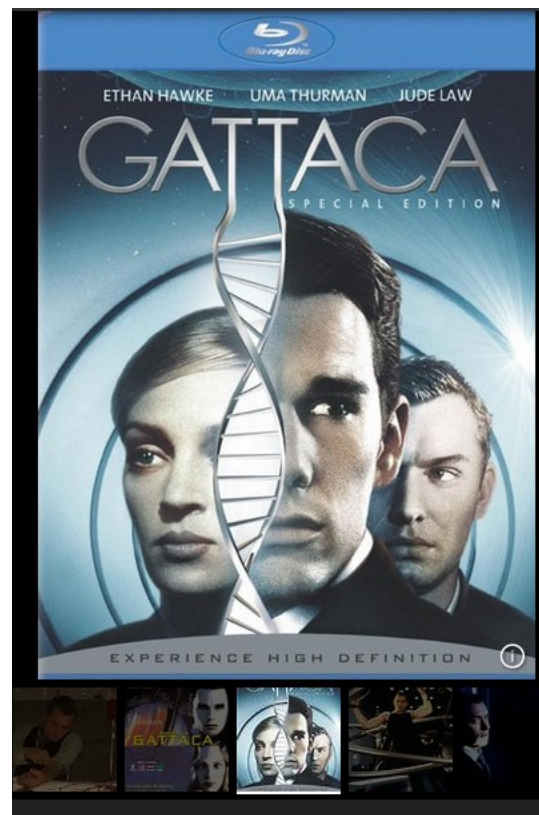
# Conclusions

## **Apport considérable du NGS pour le diagnostic dans la DI:**

- ⇒ avantages à l'échelle individuelle: PEC, conseil génétique, traitement à l'avenir...
- ⇒ questionnement par rapport aux données additionnelles

# Perspectives

- ✓ Quid de la **généralisation** des études de **séquençage haut débit** en population?
- ✓ Quid de l'**encadrement légal / éthique** (en France, ailleurs)?
- ✓ Vers une **médecine prédictive**?
  - ⇒ **enjeu sociétal**
  - ⇒ **révision des lois de bioéthique**



1997

***Primum non nocere***