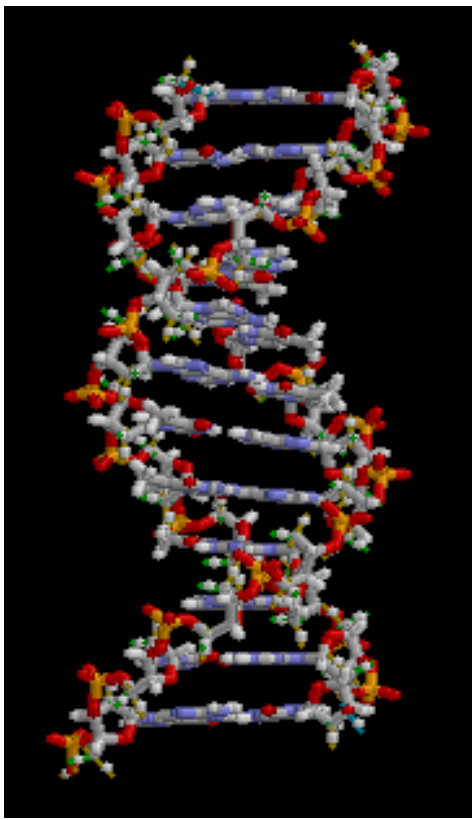




Autisme et Génétique: quelles perspectives?



ASSIPS

Luxembourg – 04/05/2018

Pr I. Maystadt

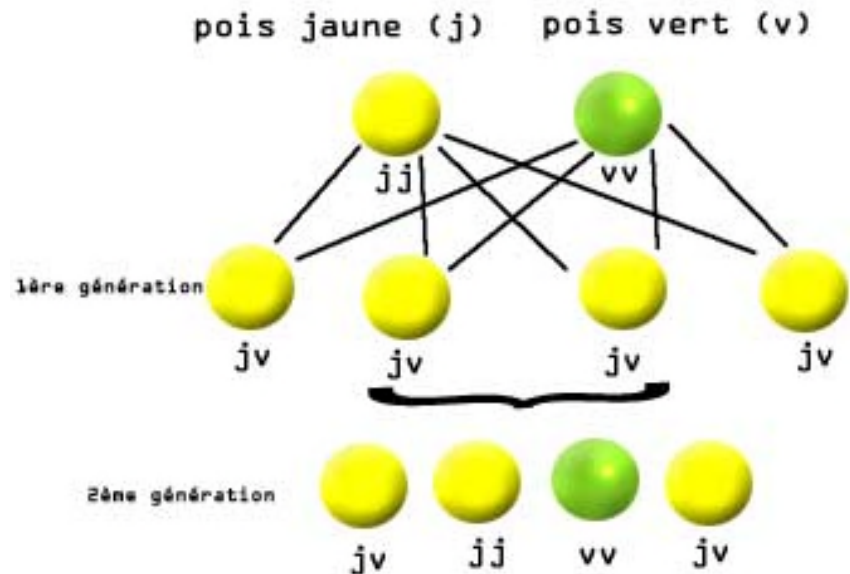


La génétique, qu'est-ce que c'est?



Mendel, 1822-1884

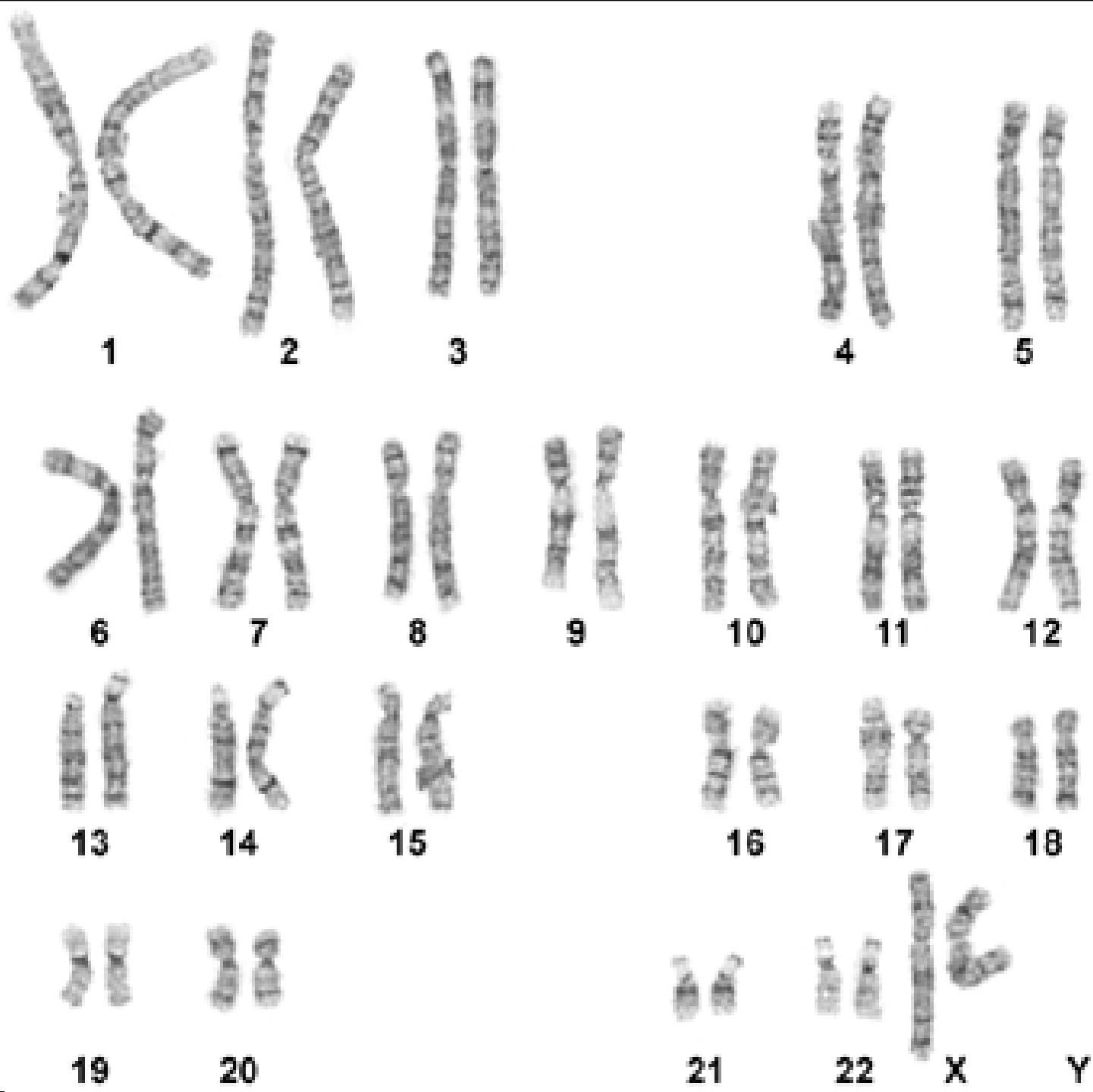
Père fondateur de la Génétique



Walther Flemming, 1877

Visualise les chromosomes





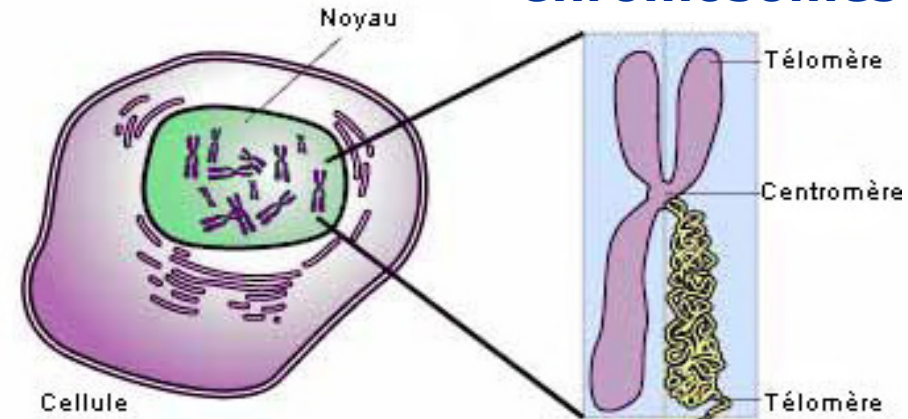
Watson et Crick, 1953

Décrivent la double hélice d'ADN



Petits rappels...

Chromosomes



1000 genes



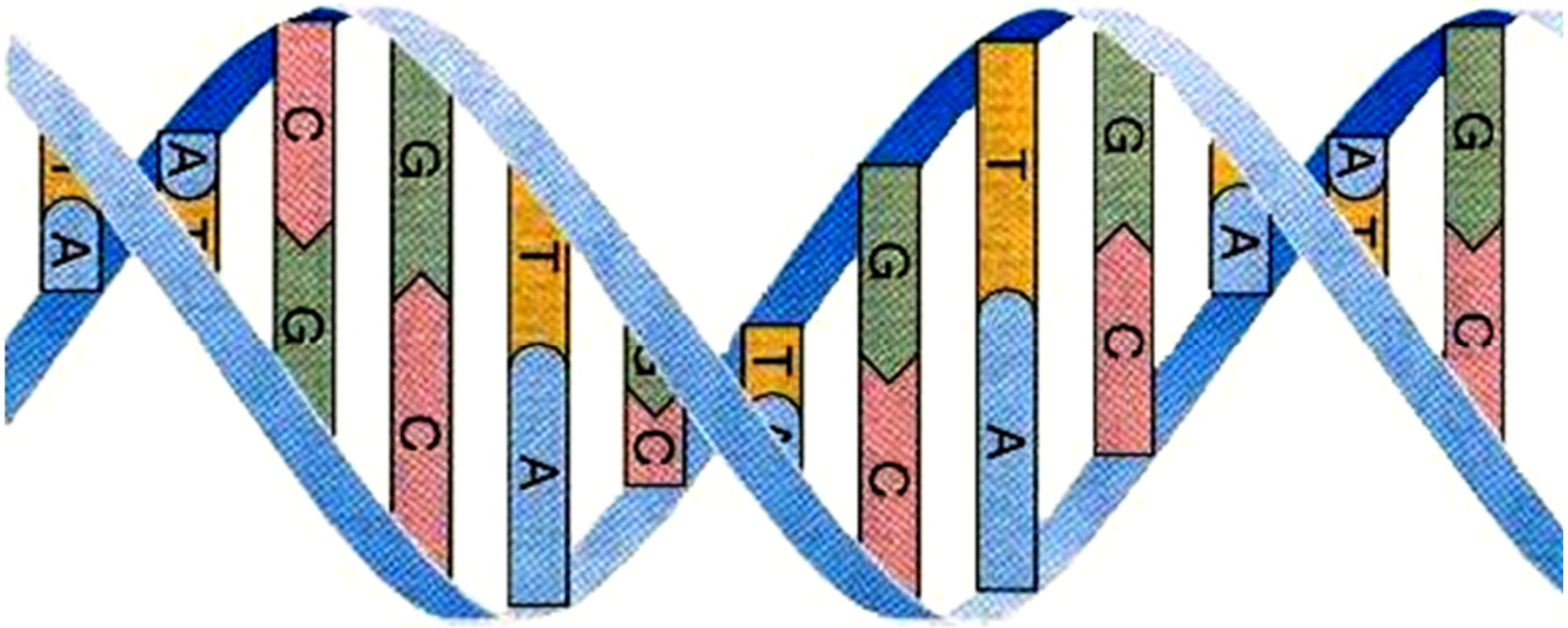
Paires de bases
(A,T,G,C)

Histones

ADN

**22.000
genes**

ADN



gène

Troubles du spectre autistique (TSA)

- Troubles de la communication sociale
- Intérêts restreints
Comportements stéréotypés et répétitifs
- Début précoce



Définition DMS-5

Troubles du spectre autistique (TSA)



-Prévalence: 6.2/1000 - 1/68

Elsabbagh et al, 2012

Mc Carthy et al, 2014

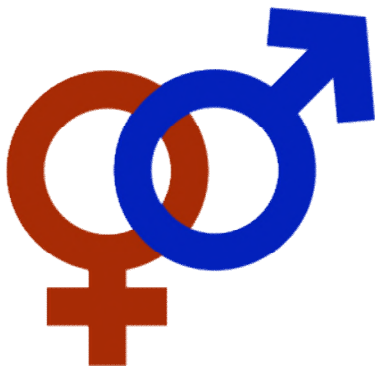


-Jumeaux monozygotes:
38-95% concordance (RR x150)

-Jumeaux dizygotes:
5-31% concordance (RR x8-10)

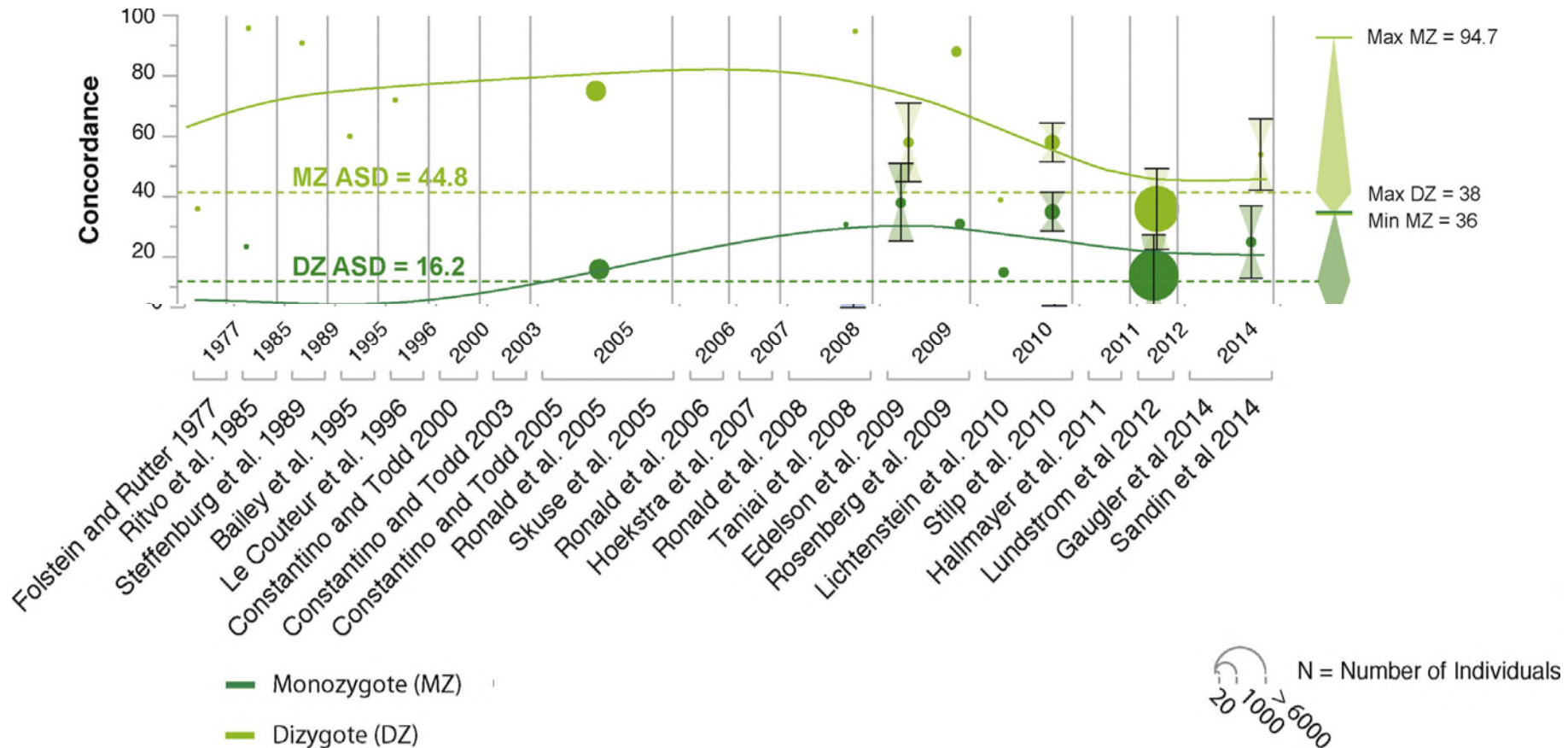
Folstein et al, 1977

Sandin et al, 2014



-Rapport M/F: 4

Etudes de jumeaux

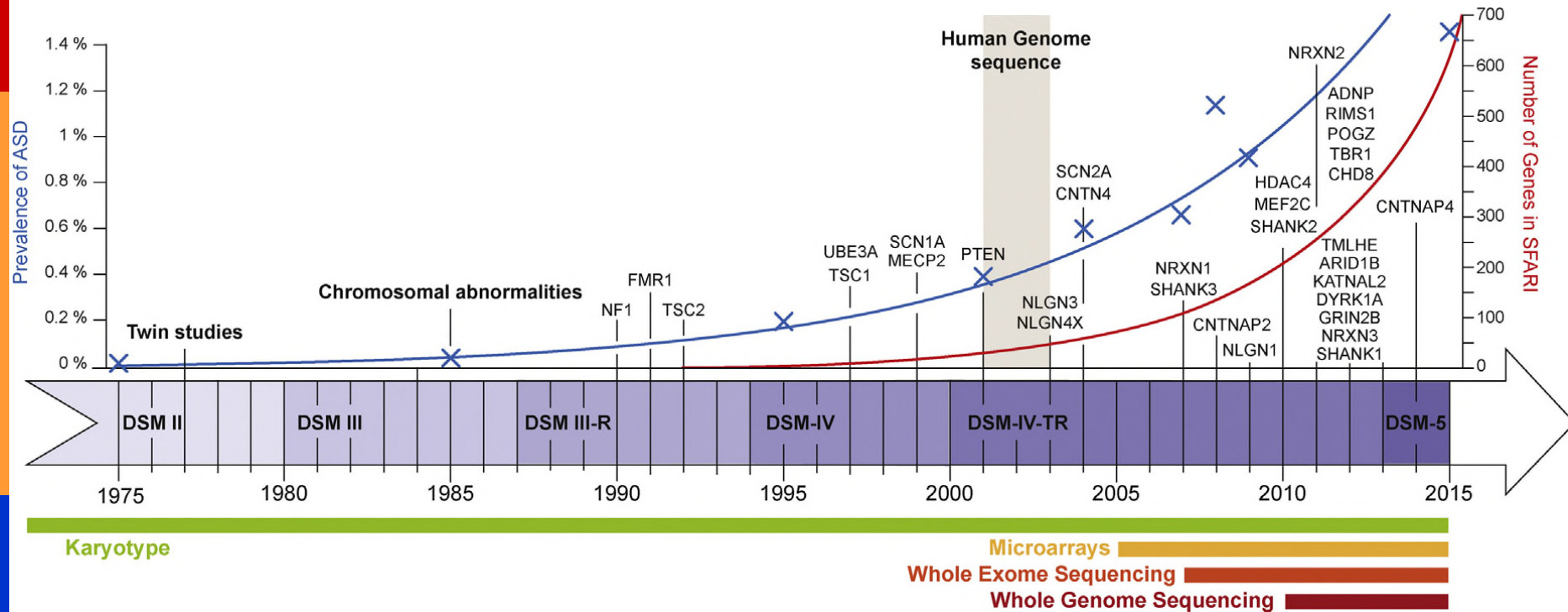


Troubles du spectre autistique (TSA)

- *Syndromique ou non syndromique*
- *Grande hétérogénéité sur le plan génétique*



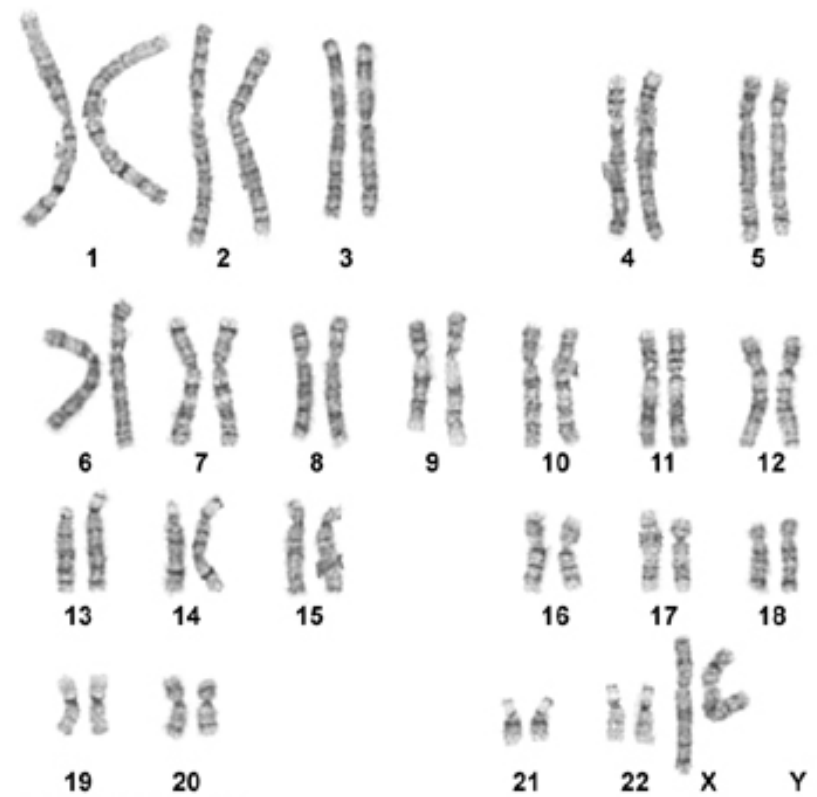
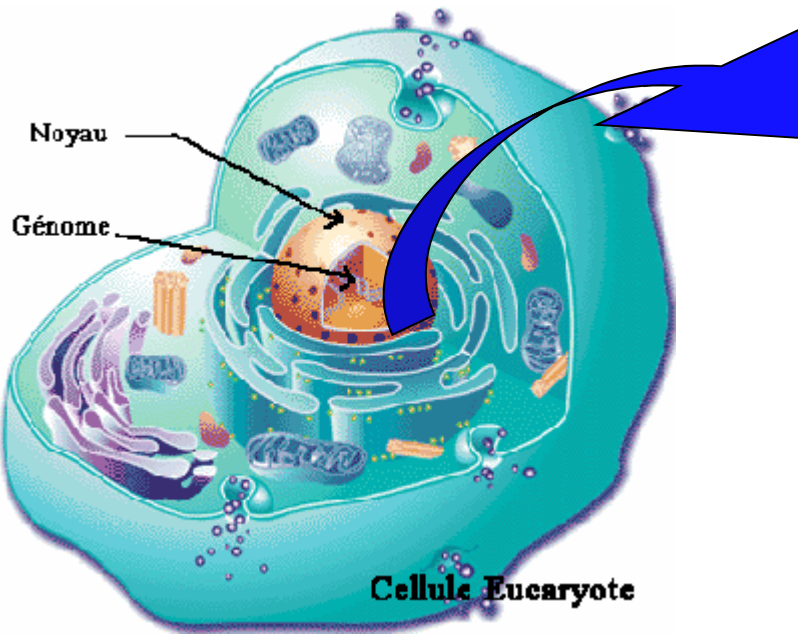
Histoire de la génétique de l'autisme



Anomalies Chromosomiques



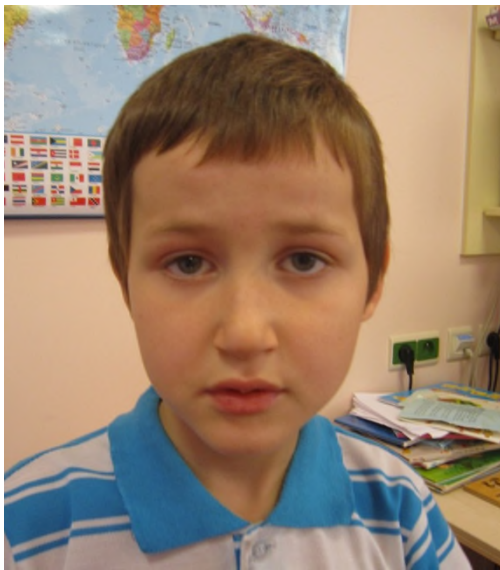
Cytogénétique



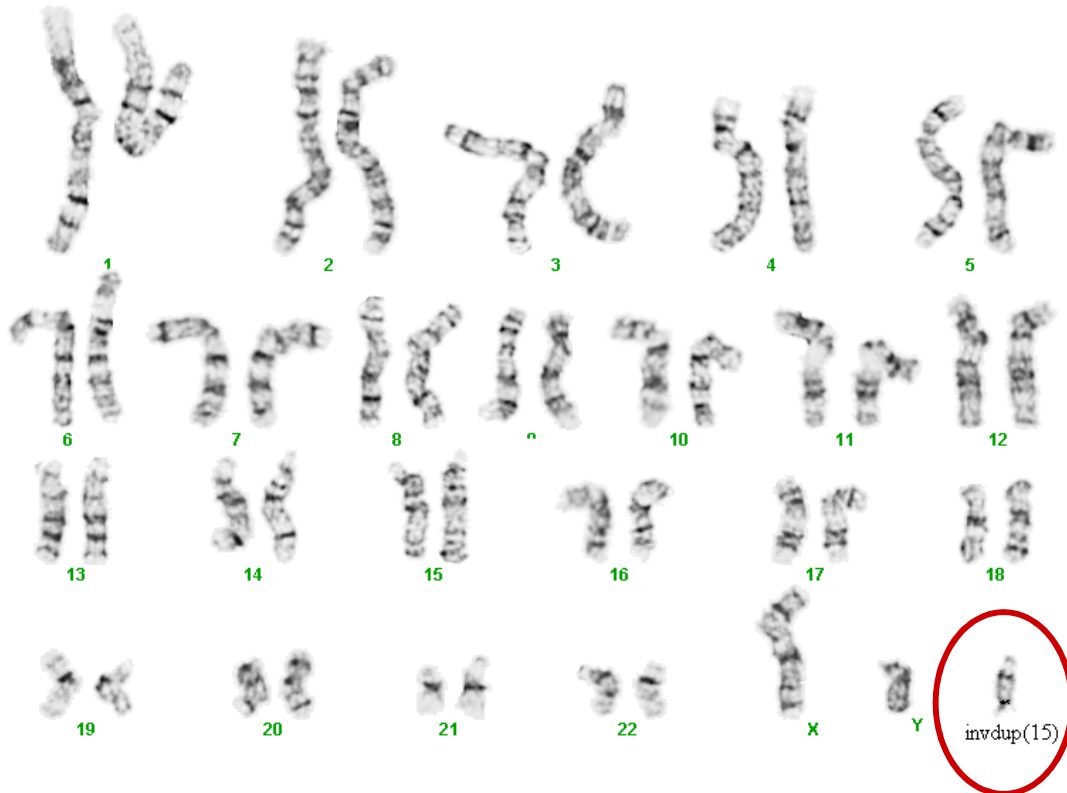
46 chromosomes

1950-2005

- Caryotype standard
- FISH

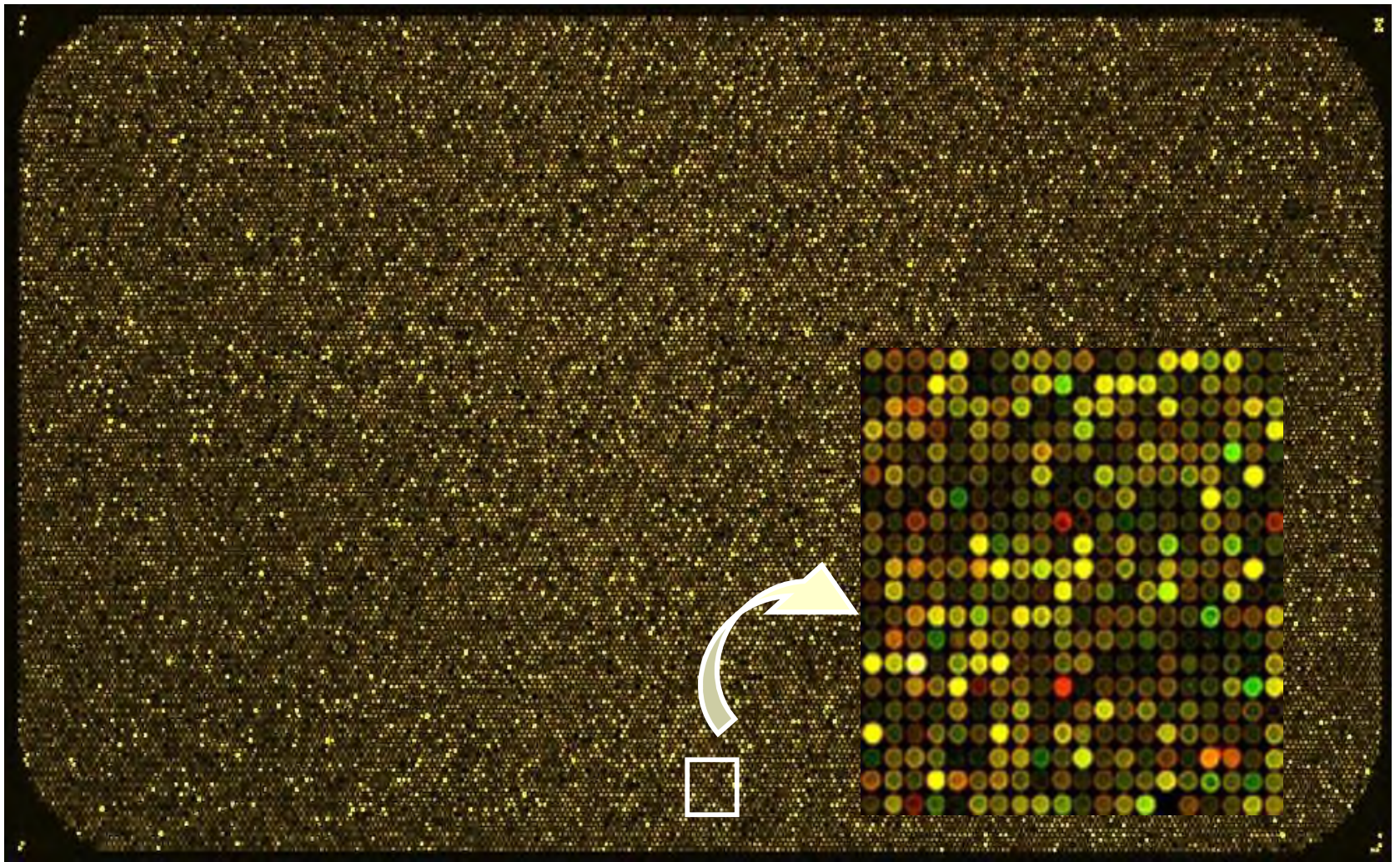


- Marche 24 mois
- Autisme sévère
- Régression du langage
- Agitation motrice
- Automutilation



Tetrasomie 15q11-q13

- Hypotonie
- Autisme
- Déficience intellectuelle
- Epilepsie
- Hypogénitalisme



> 2005:

CGH microarrays
pour l'étude des chromosomes

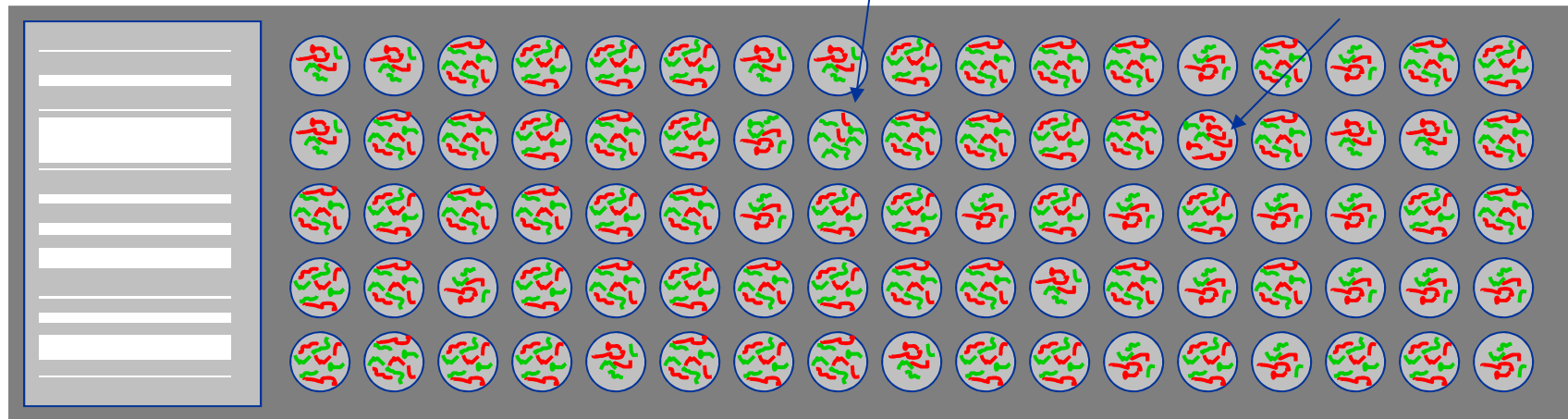
Patient's DNA

Reference DNA

DNA cleavage & labelling

Deletion

Duplication

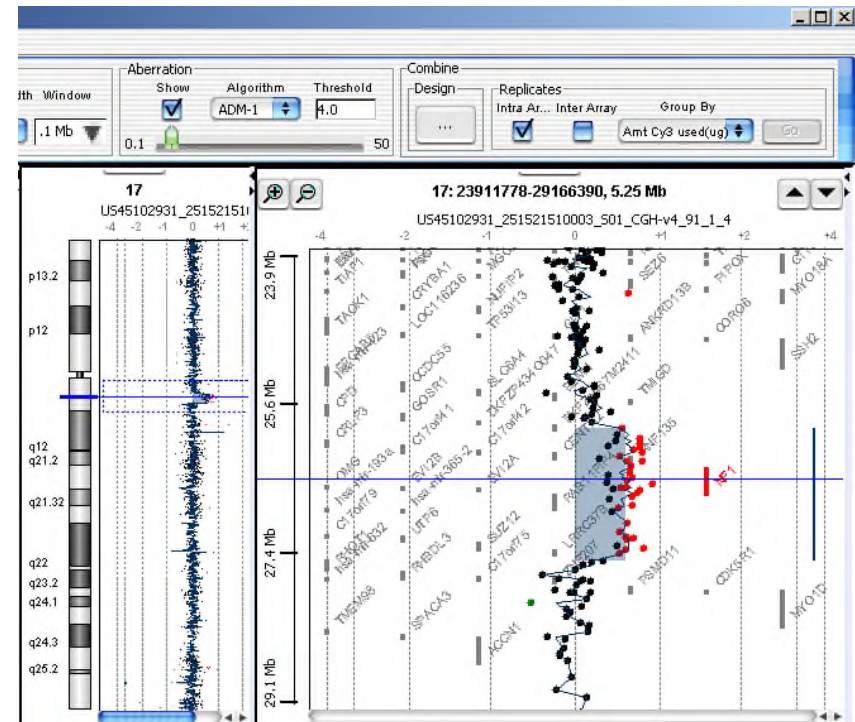
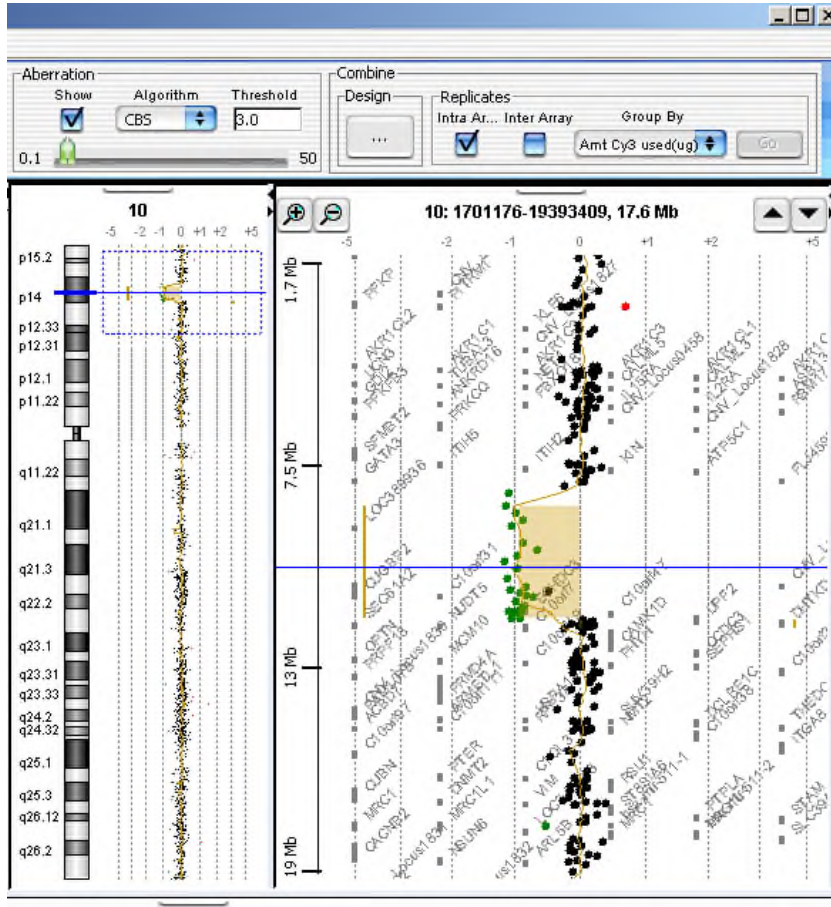


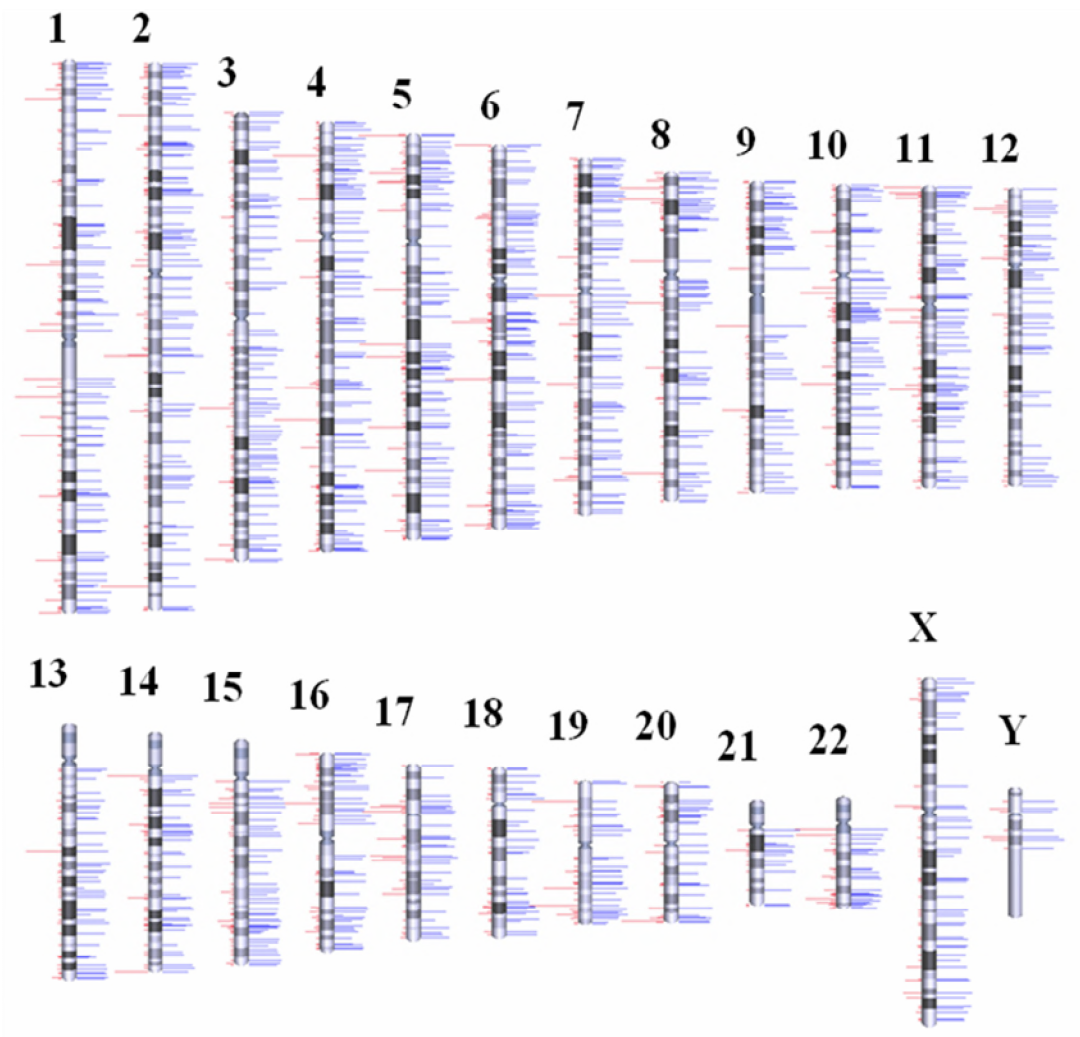
Deletion :

$$\frac{\text{Rouge}}{\text{Vert}} = \frac{1}{2} \Rightarrow \log_2\left(\frac{1}{2}\right) = -1$$

Duplication :

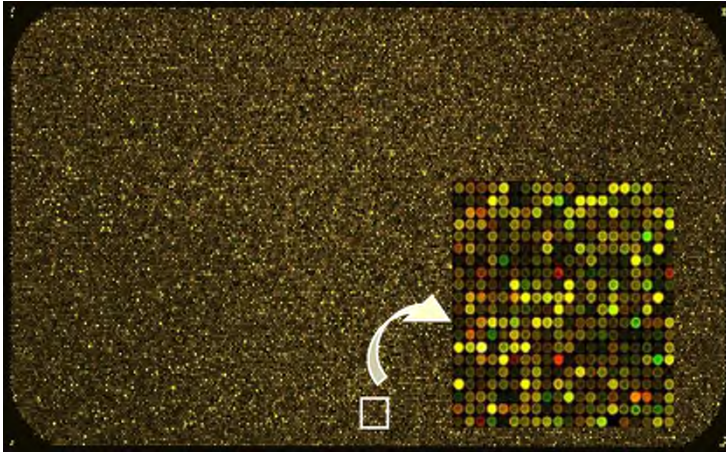
$$\frac{\text{Rouge}}{\text{Vert}} = \frac{3}{2} \Rightarrow \log_2\left(\frac{3}{2}\right) = 0,58$$





CNVs (Copy Number Variants)
>12% génome

Rôle des CNVs dans les troubles neuro-développementaux



LOCI CONNUS

- o Dup 7q11.23 (ELN)
- o Dup 15q11q13 (SNRPN)
- o Dup 17p11 (RAI1)
- o Del/Dup 22q11 (TBX1)
- o Del/dup 22q13 (SHANK3)

> CNVs connus, à forte pénétrance



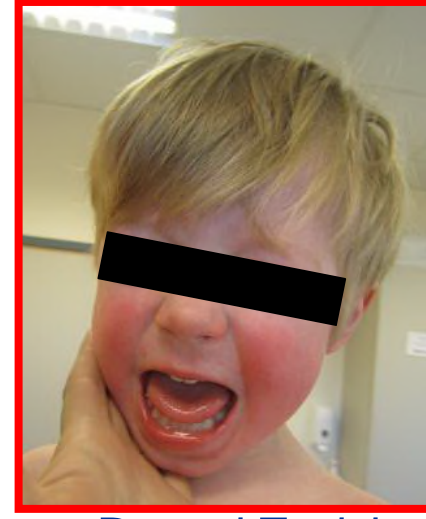
Dup 7q11.23



Dup 7q11.23



Dup 15q11q13



Dup 17p11
(Lotocki-Lupski)



Del 22q13
(Phelan Mc Dermid)

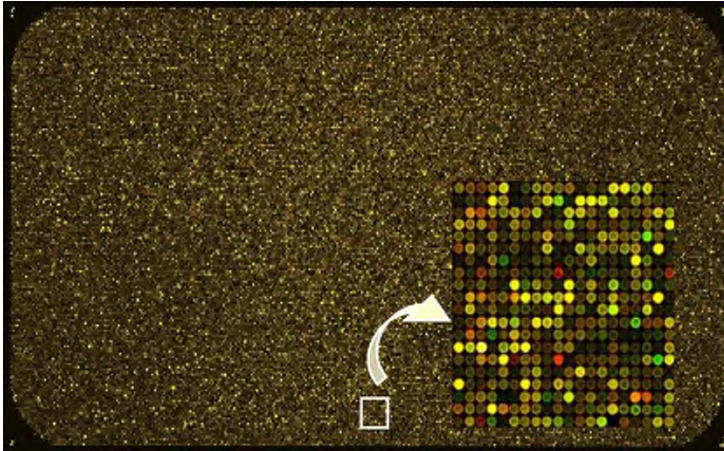


Dup 22q13



Dup 22q11.2

Rôle des CNVs dans les troubles neuro-développementaux



LOCI CONNUS

- o Dup 7q11.23 (ELN)
- o Dup 15q11q13 (SNRPN)
- o Dup 17p11 (RAI1)
- o Del/Dup 22q11 (TBX1)
- o Del/dup 22q13 (SHANK3)

NOUVEAUX LOCI

- o Del/dup 1q21.1 distale (GJA5)
- o Del 2p16.3 (NRXN1)
- o Del 2q37 (HDAC4)
- o Del/dup 3q29 (DLG1, PAK2)
- o Del/dup 7q31 (FOXP2)
- o Del/dup 15q11.2 (NIPA1, NIPA2)
- o Del/dup 15q13.3 (CHRNA7)
- o Del/dup 16p11.2 (TBX6)
- o Del/dup 16p11.2 distale (SH2B1)
- o Del/dup 16p12.2 (EEF2K, CDR2)
- o Del/dup 16p13.11 (NDE1, NTAN1)
- o Del/dup 22q11 distale

> Nouveaux CNVs à forte pénétrance



Del 2p16.3



Del 2q37



Dup 3q29



Del 15q11.2



Del 15q13.3

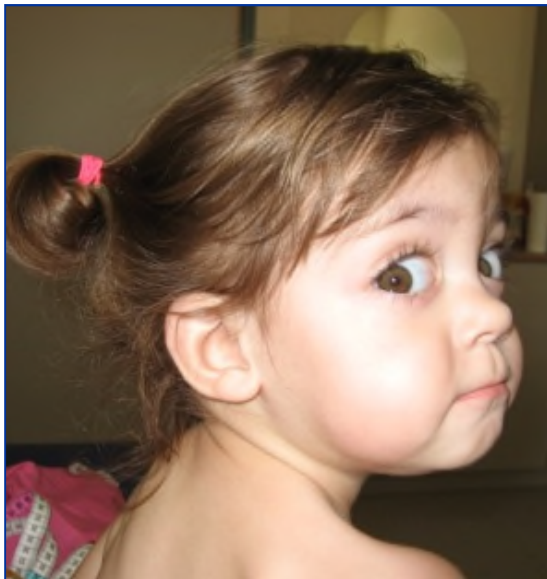


Del 16p11.2

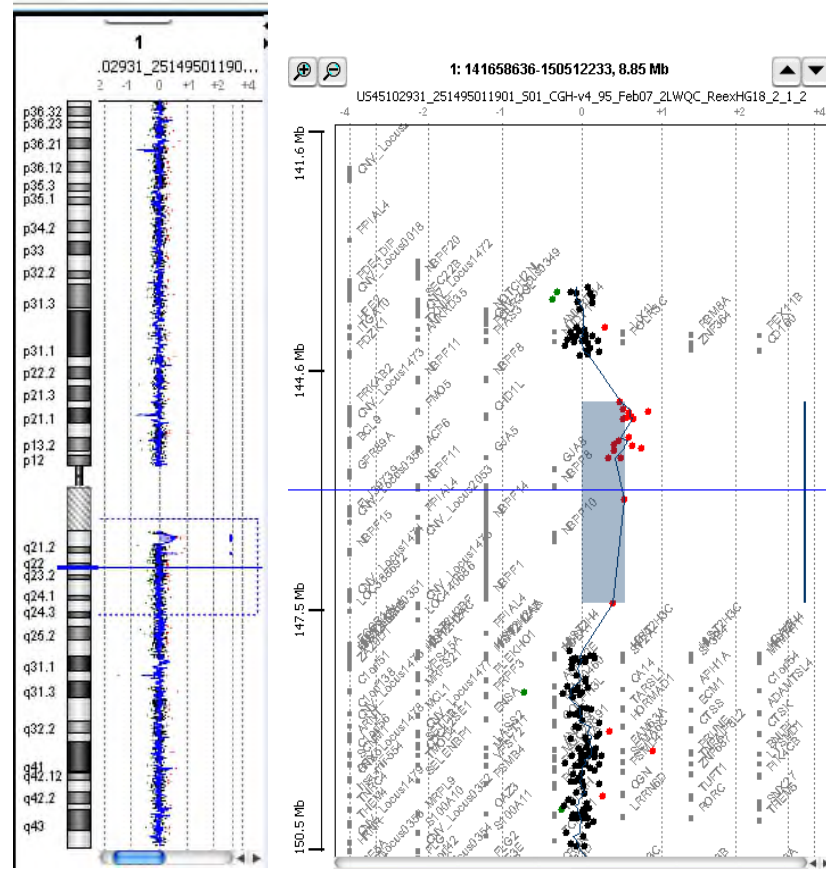
> Nouveaux CNVs à forte pénétrance



Duplication 1q21.1



- Traits autistiques
 - ↳ Troubles de la communication
 - ↳ Stéréotypies
 - ↳ Insensibilité à la douleur
- Epilepsie type absences





The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

N Engl J Med. 2008 Oct 16;359(16):1685-99

Recurrent rearrangements of chromosome 1q21.1 and variable pediatric phenotypes.

[Mefford HC](#), [Sharp AJ](#), [Baker C](#), [Itsara A](#), [Jiang Z](#), [Buyse K](#), [Huang S](#), [Maloney VK](#), [Crolla JA](#), [Baralle D](#), [Collins A](#), [Mercer C](#), [Norga K](#), [de Ravel T](#), [Devriendt K](#), [Bongers EM](#), [de Leeuw N](#), [Reardon W](#), [Gimelli S](#), [Bena F](#), [Hennekam RC](#), [Male A](#), [Gaunt L](#), [Clayton-Smith J](#), [Simonic I](#), [Park SM](#), [Mehta SG](#), [Nik-Zainal S](#), [Woods CG](#), [Firth HV](#), [Parkin G](#), [Fichera M](#), [Reitano S](#), [Lo Giudice M](#), [Li KE](#), [Casuga I](#), [Broomer A](#), [Conrad B](#), [Schwerzmann M](#), [Räber L](#), [Gallati S](#), [Striano P](#), [Coppola A](#), [Tolmie JL](#), [Tobias ES](#), [Lilley C](#), [Armenqol L](#), [Spysschaert Y](#), [Verloo P](#), [De Coene A](#), [Goossens L](#), [Mortier G](#), [Speleman F](#), [van Binsbergen E](#), [Nelen MR](#), [Hochstenbach R](#), [Poot M](#), [Gallagher L](#), [Gill M](#), [McClellan J](#), [King MC](#), [Regan R](#), [Skinner C](#), [Stevenson RE](#), [Antonarakis SE](#), [Chen C](#), [Estivill X](#), [Menten B](#), [Gimelli G](#), [Gribble S](#), [Schwartz S](#), [Sutcliffe JS](#), [Walsh T](#), [Knight SJ](#), [Sebat J](#), [Romano C](#), [Schwartz CE](#), [Veltman JA](#), [de Vries BB](#), [Vermeesch JR](#), [Barber JC](#), [Willatt L](#), [Tassabehji M](#), [Eichler EE](#).



Nature Genetics, 2008 Dec; 40(12):1466-71

Recurrent reciprocal 1q21.1 deletions and duplications associated with microcephaly or macrocephaly and developmental and behavioral abnormalities.

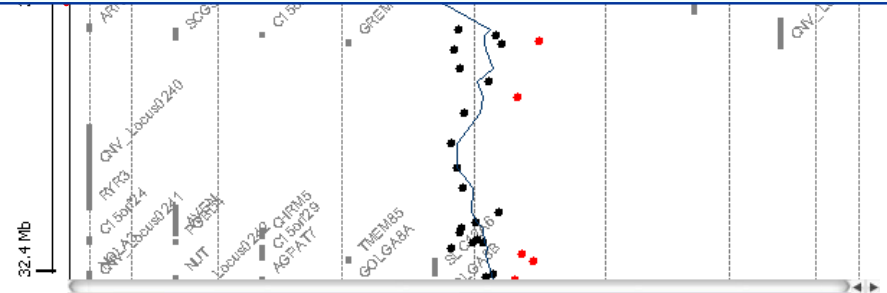
[Brunetti-Pierri N](#), [Berg JS](#), [Scaglia F](#), [Belmont J](#), [Bacino CA](#), [Sahoo T](#), [Lalani SR](#), [Graham B](#), [Lee B](#), [Shinawi M](#), [Shen J](#), [Kang SH](#), [Pursley A](#), [Lotze T](#), [Kennedy G](#), [Lansky-Shafer S](#), [Weaver C](#), [Roeder ER](#), [Grebe TA](#), [Arnold GL](#), [Hutchison T](#), [Reimschisel T](#), [Amato S](#), [Geraghty MT](#), [Innis JW](#), [Obersztyn E](#), [Nowakowska B](#), [Rosenqren SS](#), [Bader PI](#), [Grange DK](#), [Naqvi S](#), [Garnica AD](#), [Bernes SM](#), [Fong CT](#), [Summers A](#), [Walters WD](#), [Lupski JR](#), [Stankiewicz P](#), [Cheung SW](#), [Patel A](#).

> Identifications de gènes causals au sein des CNVs

Microdeletion/duplication at 15q13.2q13.3 among individuals with features of autism and other neuropsychiatric disorders

David T. Miller, Yiping Shen, Lauren A. Weiss, Joshua Korn, Irina Anselm, Carolyn Bridgemohan, Gerald F. Cox, Hope Dickinson, Jennifer Gentile, David J. Harris, Vijay Hegde, Rachel Hundley, Omar Khwaja, Sanjeev Kothare, Christina Luedke, Ramzi Nasir, Annapurna Poduri, Kiran Prasad, Peter Raffalli, Ann Reinhard, Sharon E. Smith, Magdi Sobeih, Janet Soul, Joan Stoler, Masanori. Takeoka, Wen-Hann Tan, Joseph Thakuria, Peter Wolff, Roman Yusupov, James F. Gusella, Mark J. Daly and Bai-Lin Wu

J Med Genet 2008



> Identifications de gènes causals au sein des CNVs



15: 26268589-32435259, 6.16 Mb

US45102931_251521510031_S01_CGH-v4_95_Feb07_2LWQC_ReexHG18_2_1_4



2012

SHORT REPORT

Identification of single gene deletions at 15q13.3: further evidence that *CHRNA7* causes the 15q13.3 microdeletion syndrome phenotype

N Hoppman-Chaney , K Wain, PR Seger, DW Superneau, JC Hodge

24 patients avec délétion limitée à *CHRNA7*

> Autisme, déficience intellectuelle, épilepsie, troubles psychiatriques

Tout n'est pas si simple...

Exemple 1: fille 6 ans

- Pas de retard de dvpt moteur
- Retard de langage
- Troubles dyspraxiques
- Déficience intellectuelle légère
- **PAS de traits autistiques**

Délétion intragénique (exons 1 & 2)
homozygote de CHRNA7
(Parents Hz: QI borderline)

EXPRESSIVITE VARIABLE



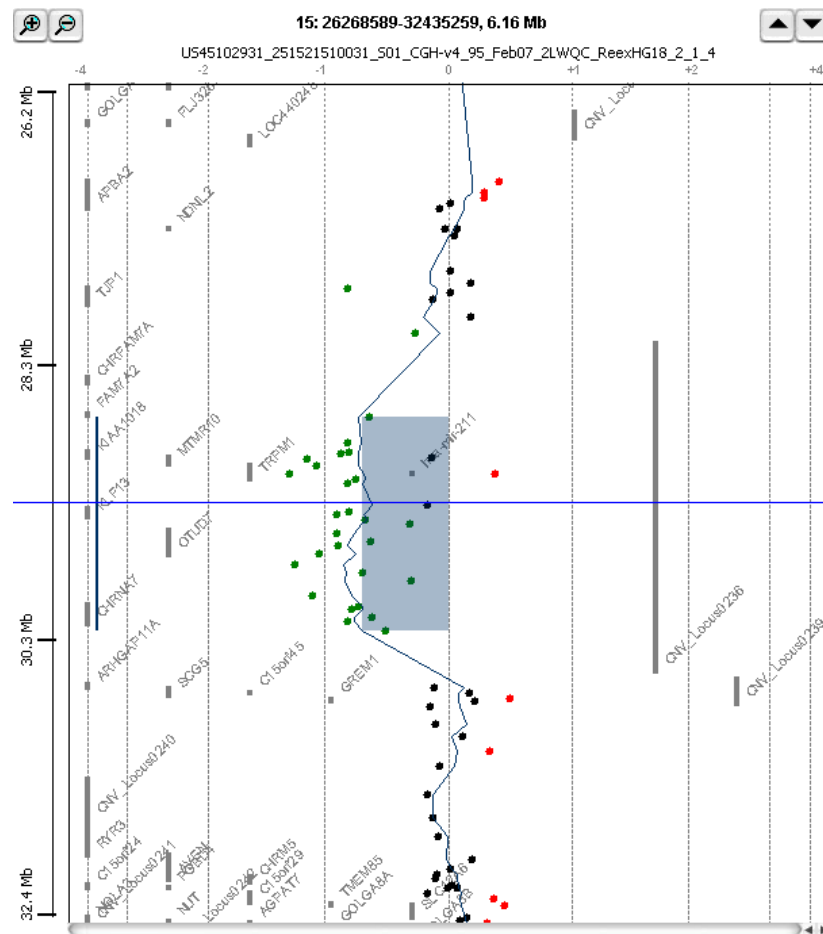
Tout n'est pas si simple...

Exemple2: 2 frères



- Retard de dvpt
 - ▣ Marche > 18mois
 - ▣ Retard de langage
- Troubles apprentissage
- Epilepsie
- Traits autistiques

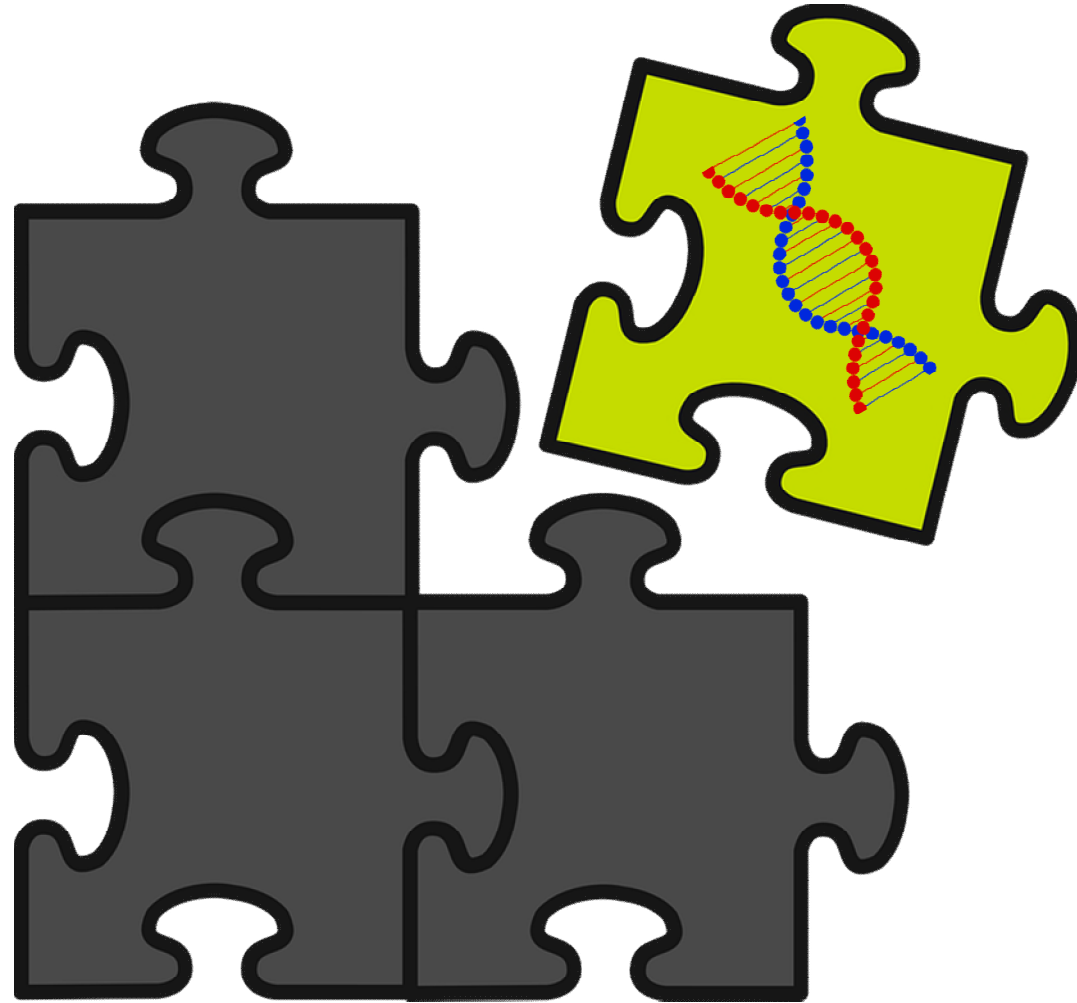
15q13.3 deletion (1,5 Mb)



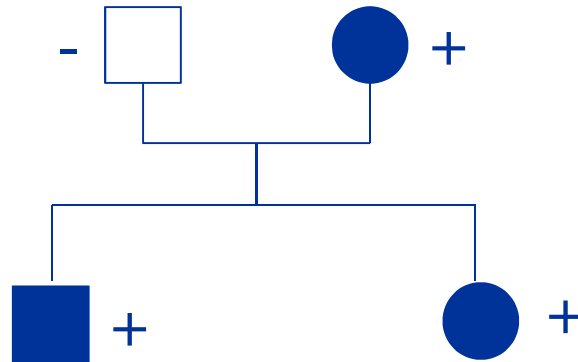
Chez les 2 frères
Mais aussi chez père ASYMPTOMATIQUE

PENETRANCE INCOMPLETE

CNVs = **Facteur de susceptibilité**
à pénétrance et expressivité variables

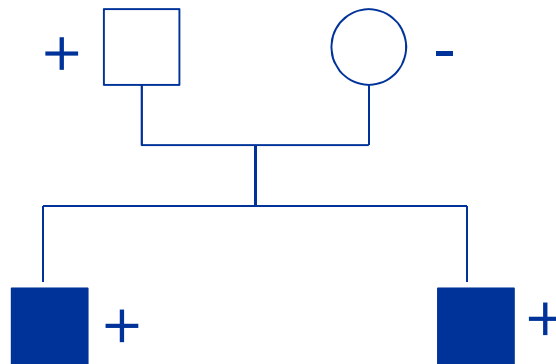


Cas familiaux



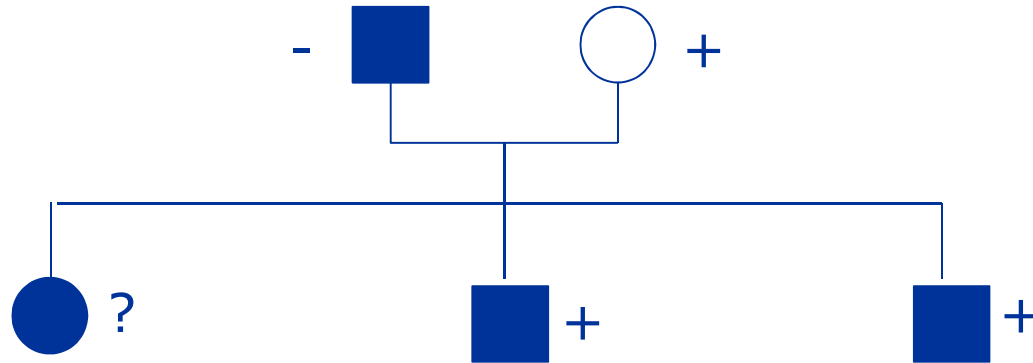
Del 15q13.3 (mat)

Cas familiaux



Del 15q13.3 (pat)

Cas familiaux



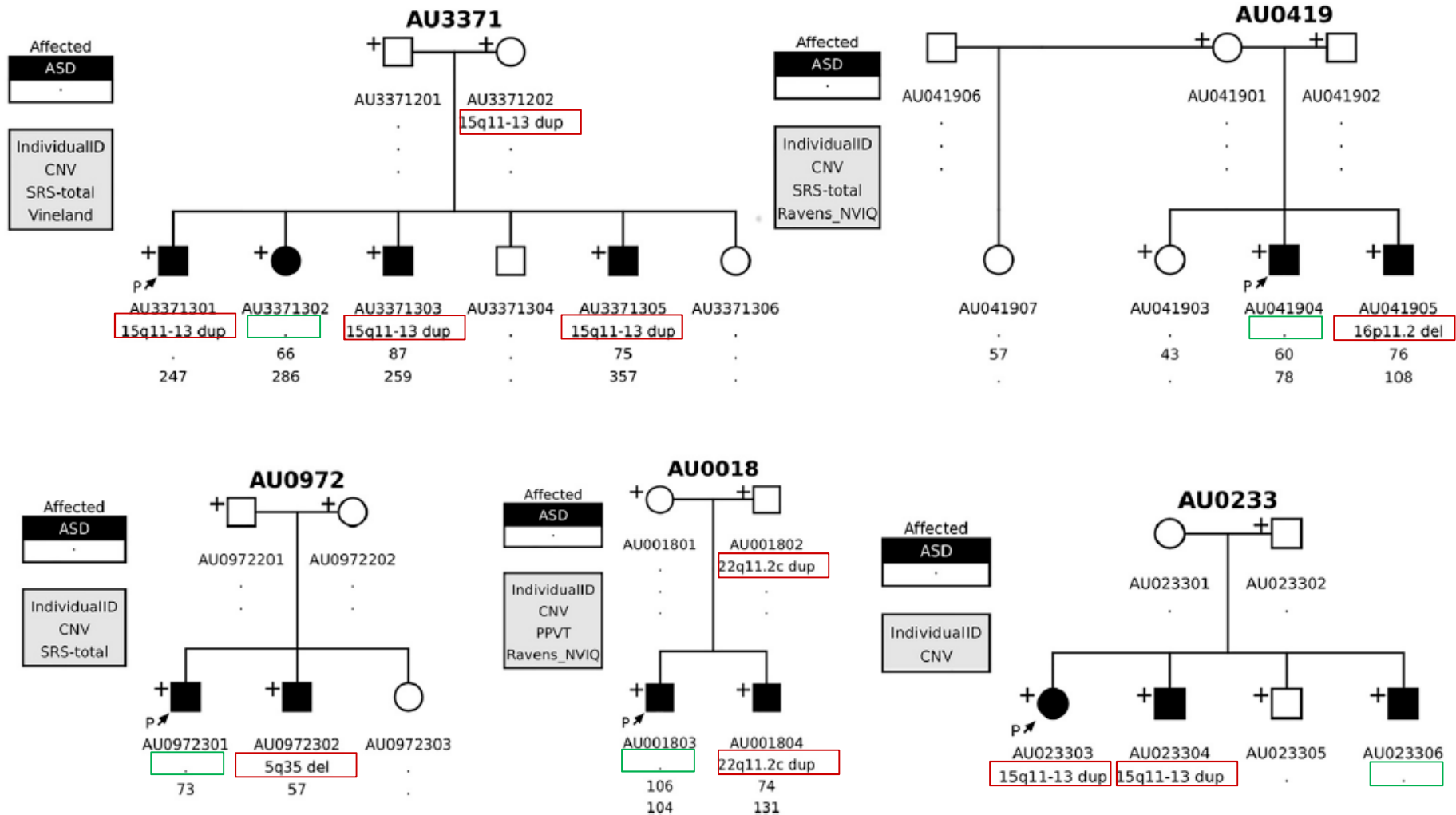
Dup 16p11.2 (mat)

Rare Inherited and De Novo CNVs Reveal Complex Contributions to ASD Risk in Multiplex Families

Virpi M. Leppa, Stephanie N. Kravitz, Christa Lese Martin, Joris Andrieux, Cedric Le Caignec, Dominique Martin-Coignard, Christina DyBuncio, Stephan J. Sanders, Jennifer K. Lowe, Rita M. Cantor, Daniel H. Geschwind  

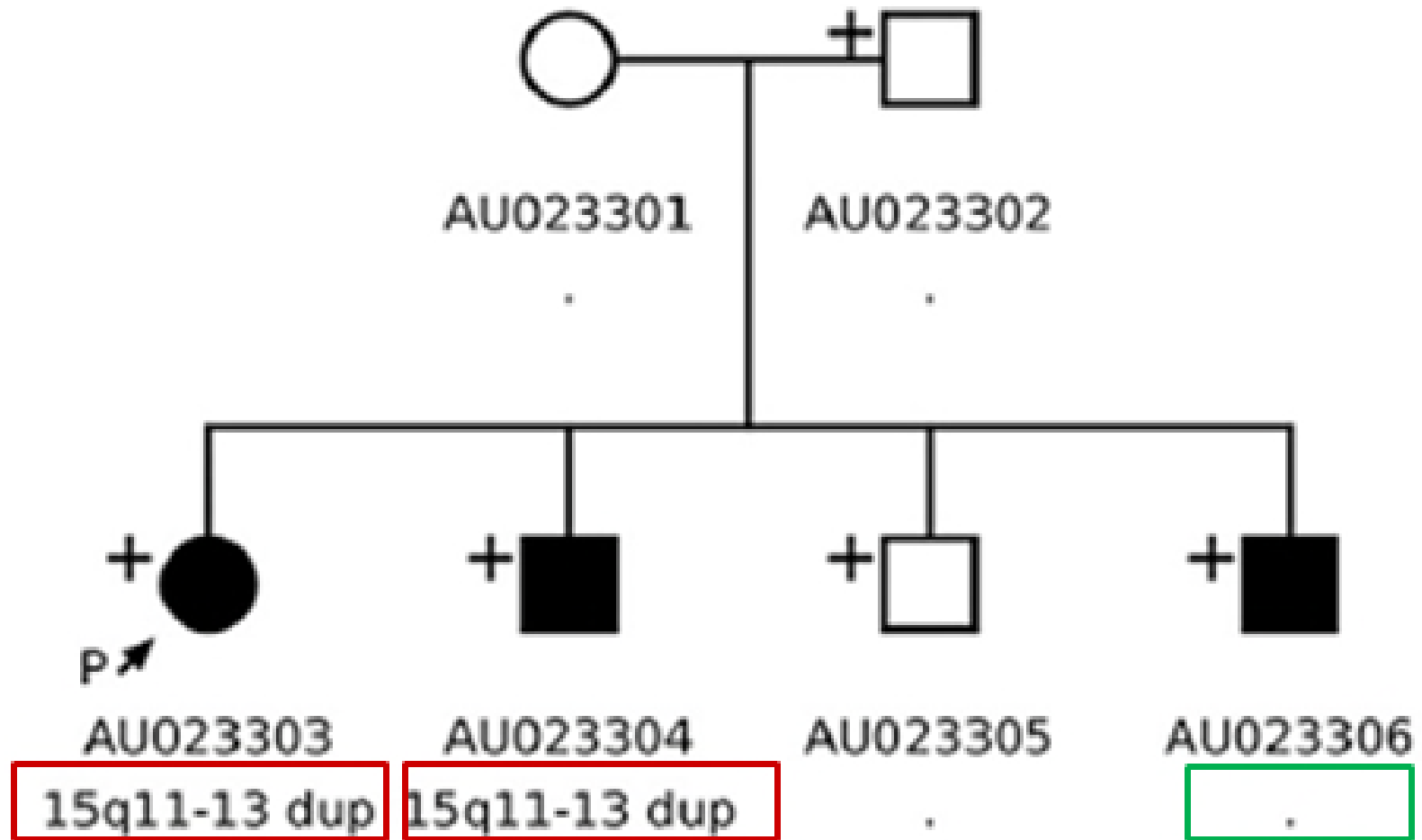
1189 familles multiplexes

- 1,7 x plus de larges CNVs (de novo ou hérités) chez sujets atteints, mais moins de CNVs de novo que dans familles simplex
- QI des sujets atteints inversement proportionnel au nombre de CNVs de novo



➤ CNVs à pénétrance élevée pas toujours présents chez tous les sujets atteints d'une famille multiplex

AU0233



Analyse CGH-microarrays

- Indiquée pour tout patient avec TSA
- Valeur diagnostique

mais peu de valeur prédictive vu pénétrance incomplète et expressivité variable



> Mars 2014: CGH sur toutes les PLA/CVS
(*n* = 4380)



	DELETION	DUPLICATION
1q21.1 distale (<i>GJA5</i>)	3	6
2p16.3 (<i>NRXN1</i>)	3	1
2q37 (<i>HDAC4</i>)	2	2
3q29	0	0
7q11.23 (<i>ELN</i>)	0	0
7q31 (<i>FOXP2</i>)	0	0
15q11.2 (<i>NIPA1, NIPA2</i>)	4	25
15q13.3 (<i>CHRNA7</i>)	4	28
16p11.2 (<i>TBX6</i>)	3	4
16p11.2 distale (<i>SH2B1</i>)	2	3
16p12.2 (<i>EEF2K, CDR2</i>)	4	1
16p13.11 (<i>NDE1, NTAN1</i>)	6	9
17p11 (<i>RAI1</i>)	0	3
22q11 (<i>TBX1</i>)	12	17
22q11 distale	1	1
22q13 (<i>SHANK3</i>)	1	3

148 cas/4380 = 3,4%

	DELETION	DUPLICATION
1q21.1 distale (<i>GJA5</i>)	3	6
2p16.3 (<i>NRXN1</i>)	3	1
2q37 (<i>HDAC4</i>)	2	2
3q29	0	0
7q11.23 (<i>ELN</i>)	0	0
7q31 (<i>FOXP2</i>)	0	0
15q11.2 (<i>NIPA1, NIPA2</i>)	4	25
15q13.3 (<i>CHRNA7</i>)	4	28
16p11.2 (<i>TBX6</i>)	3	4
16p11.2 distale (<i>SH2B1</i>)	2	3
16p12.2 (<i>EEF2K, CDR2</i>)	4	1
16p13.11 (<i>NDE1, NTAN1</i>)	6	9
17p11 (<i>RAI1</i>)	0	3
22q11 (<i>TBX1</i>)	12	17
22q11 distale	1	1
22q13 (<i>SHANK3</i>)	1	3

53 cas/4380 = 1,2%

Anomalies Géniques



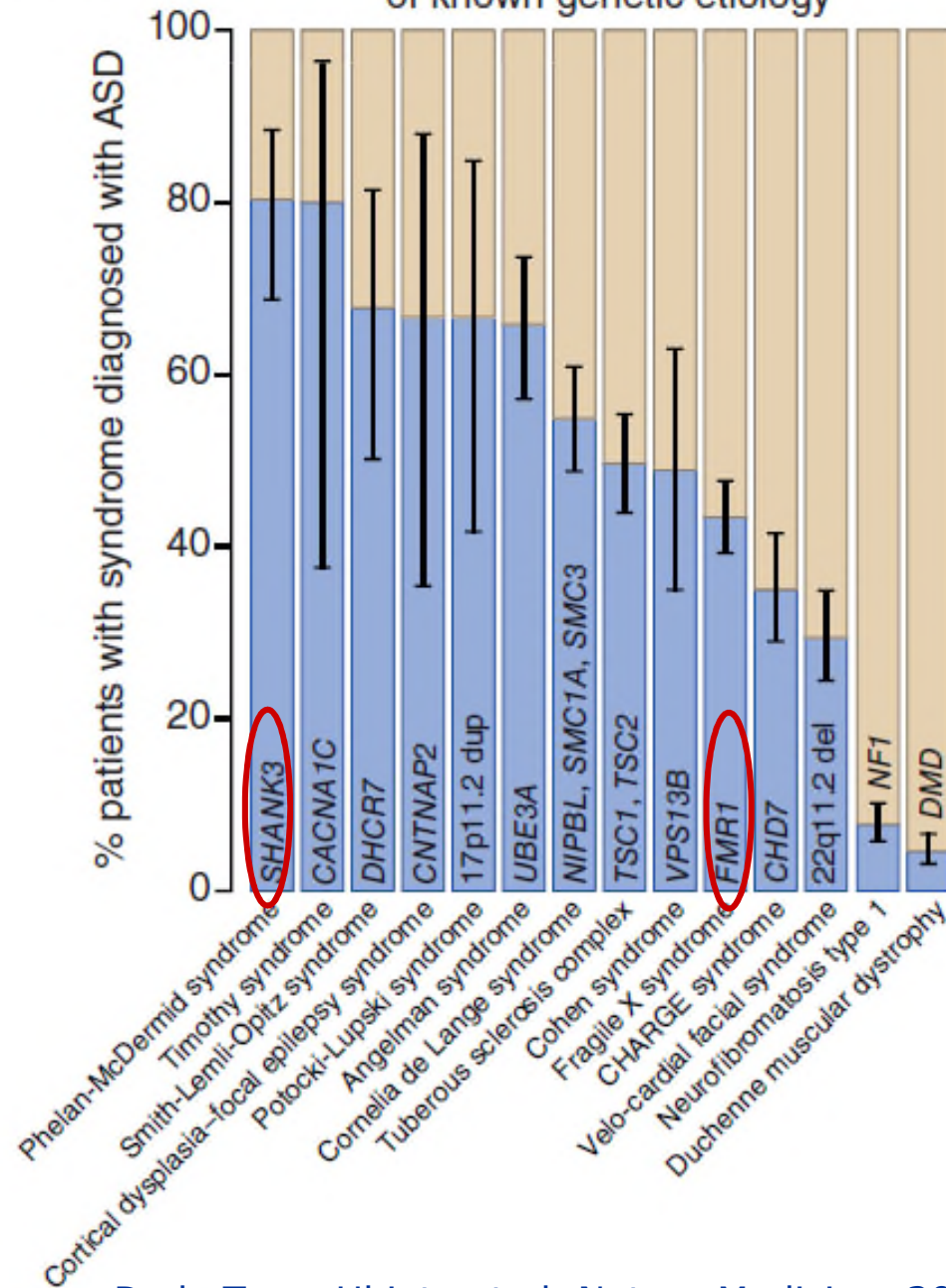
>1980

Séquençage de gènes (Sanger)

Détection d'expansions de triplets (WB)

Penetrance

Prevalence of ASD in syndromes of known genetic etiology



X fragile



Angelman



Cohen

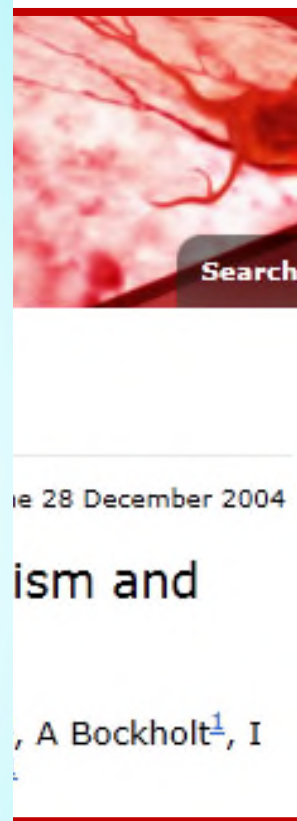
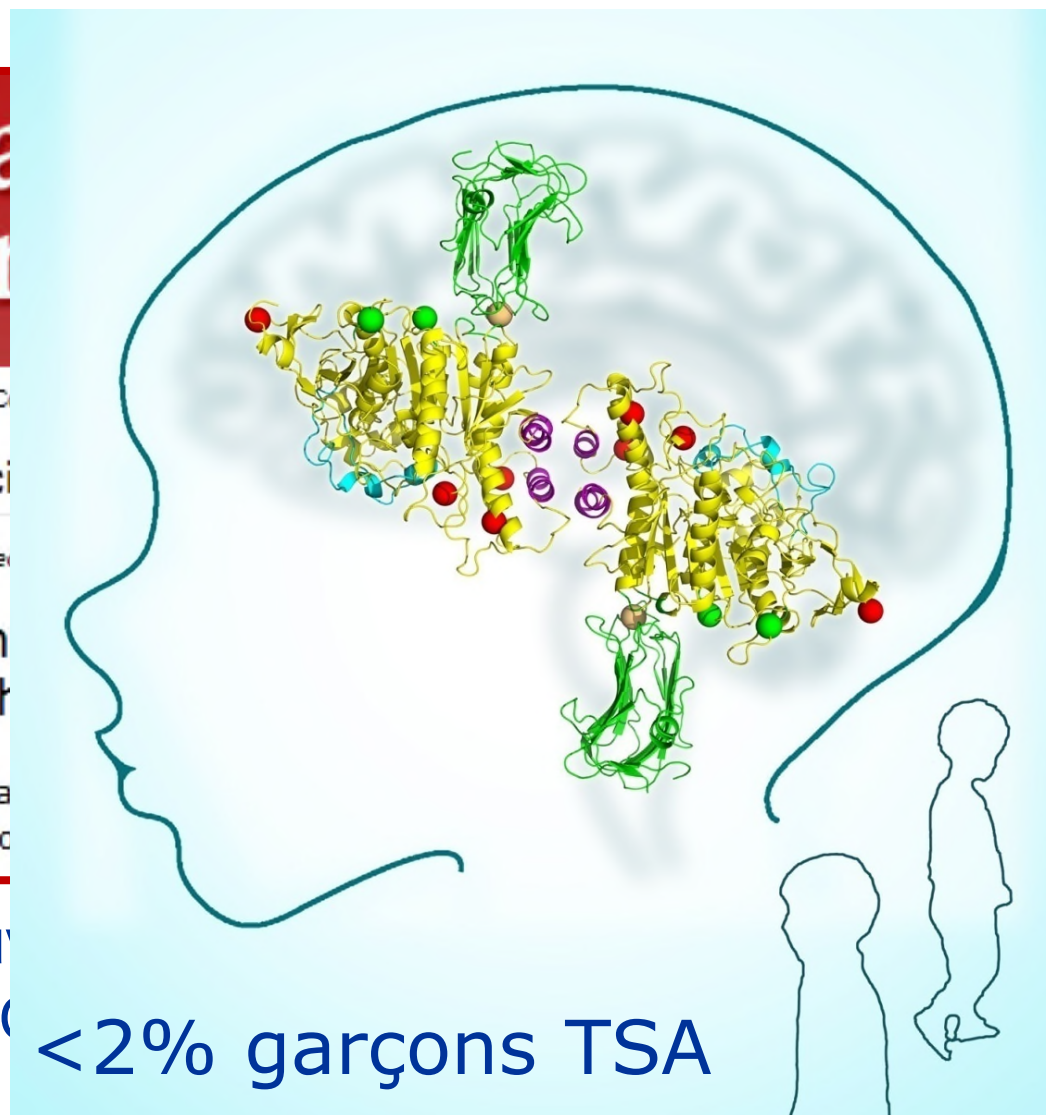


Cornelia de Lange



SLO

L'étude des gènes



Gènes découverts
SHANK3, NLGN1

<2% garçons TSA

« Major Gene Model »

classique:

Next generation sequencing (>2007)

- Le whole-exome sequencing (WES)
- Le whole-genome sequencing (WGS)



Seq. Genome humain
1990-2004



NGS (Next Generation Sequencing)

De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism

Stephan J. Sanders, Michael T. Murtha, Abha R. Gupta, John D. Murdoch, Melanie J. Raubeson, A. Jeremy Willsey, A. Gulhan Ercan-Sencicek, Nicholas M. DiLullo, Neelroop N. Parikshak, Jason L. Stein, Michael F. Walker, Gordon T. Ober, Nicole A. Teran, Youeun Song, Paul El-Fishawy, Ryan C. Murtha, Murim Choi, John D. Overton, Robert D. Bjornson, Nicholas J. Carriero, Kyle A. Meyer, Kaya Bilguvar, Shrikant M. Mane, Nenad Šestan, Richard P. Lifton + *et al.*

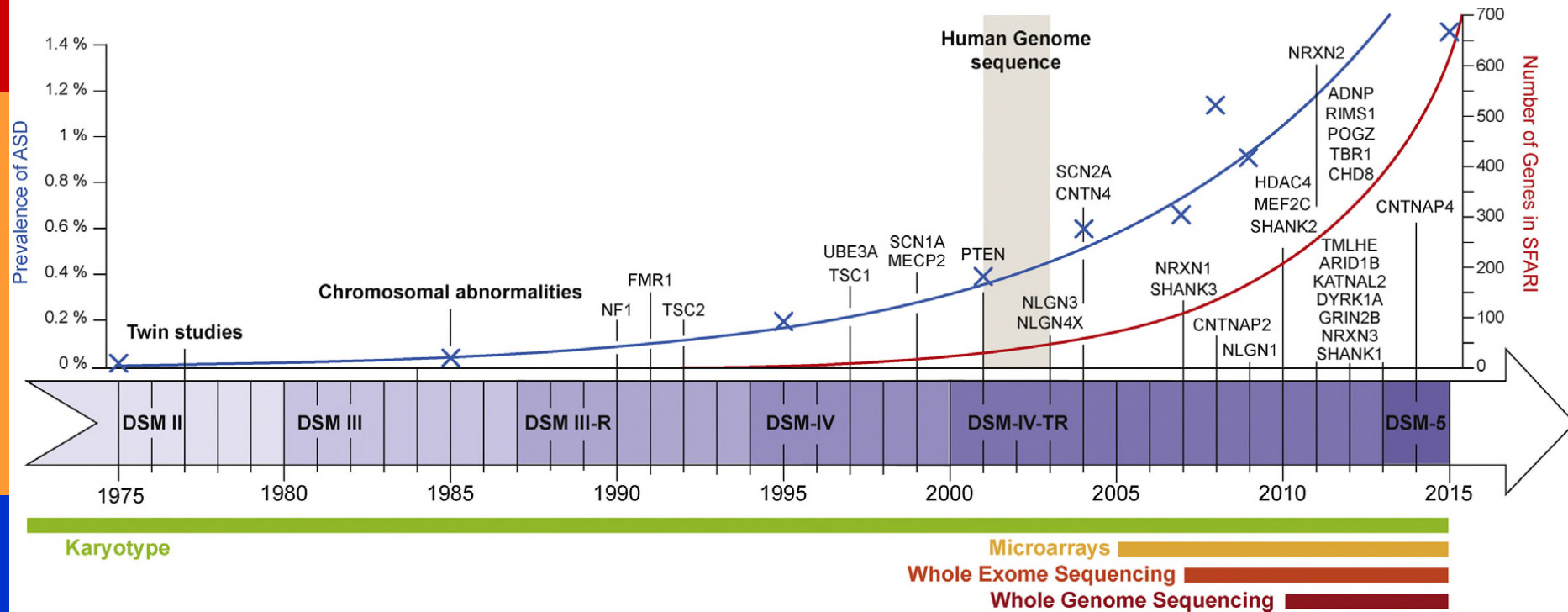
Affiliations | Contributions | Corresponding authors

Nature (2012) | doi:10.1038/nature10945

928 patients

- 279 mutations **de novo**
- Identification de nouveaux gènes pathogènes (ex:SCN2A, DYRK1A, CHD8,...)
- Le plus souvent en association avec déficience intellectuelle ou autres troubles neurodéveloppementaux (épilepsie,...)

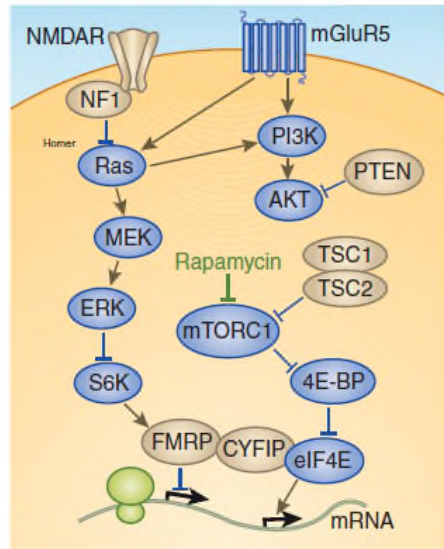
NGS (Next Generation Sequencing)



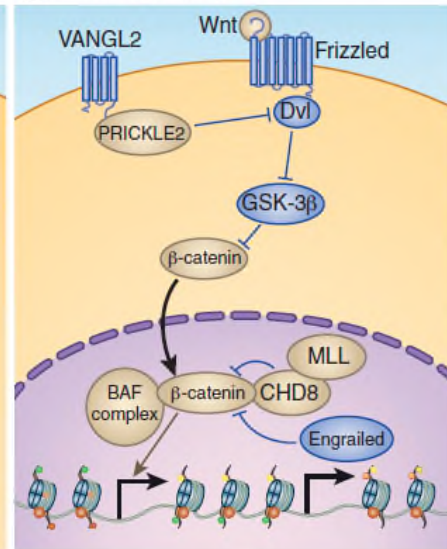
Bourgeron et al, Comptes Rendus Biologies, 2016

Identification de gènes en lien avec TSA

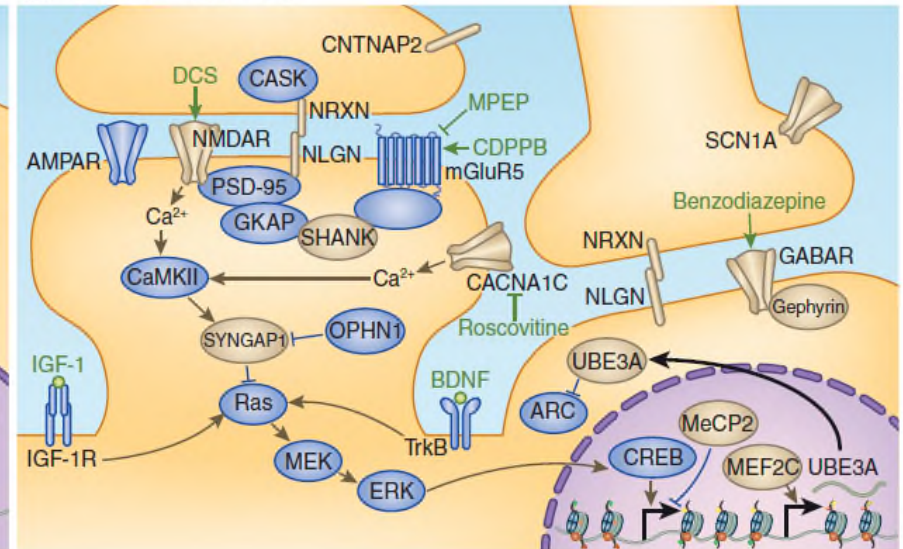
① Protein translation



② Wnt signaling



③ Synaptic signaling



- Meilleure compréhension des mécanismes physio-pathologiques
- Perspectives thérapeutiques?

NGS (Next Generation Sequencing)



TSA:

- Soit dû à un gène causal à forte pénétrance
« Major gene model »
- Soit dû à une somme de facteurs hérités à faible pénétrance
« Polygenic risk model »

« Polygenic risk Model »



« Major Gene Model »

Hérédité polygénique et gènes modificateurs



balance entre les « bons » et les « mauvais » gènes

Exome sequencing and the genetic basis of complex traits

Adam Kiezun, Kiran Garimella, Ron Do, Nathan O Stitzel, Benjamin M Neale, Paul J McLaren, Namrata Gupta, Pamela Sklar, Patrick F Sullivan, Jennifer L Moran, Christina M Hultman, Paul Lichtenstein, Patrik Magnusson, Thomas Lehner, Yin Yao Shugart, Alkes L Price, Paul I W de Bakker, Shaun M Purcell & Shamil R Sunyaev

Affiliations | Corresponding author

Nature Genetics 44, 623–630 (2012) | doi:10.1038/ng.2303

Published online 29 May 2012

- We conclude that enthusiasm for exome sequencing studies to identify the genetic basis of complex traits should be combined with **caution stemming** from the observation that on the order of over **10,000 samples** may be required **to reach sufficient statistical power**.

En pratique, en consultation de génétique, face au patient...



- Microarrays
- Gène ciblé si orientation clinique
- Panel autisme
- Projet de recherche

« puce autisme » IPG

50 gènes

FMR1
UBE3A
TSC1
TSC2
CHD7
CHD8
ARID1B
VPS13B
MECP2
PTEN

SHANK1
SHANK2
SHANK3
FOXP1
FOXP2
FOXP3
NLGN1
NLGN3
NLGN4X
NLGN4Y

HDAC4
MEF2C
CNTNAP2
CNTNAP4
ADNP
RIMS1
POGZ
TBR1
TMLHE
KATNAL2

DYRK1A
GRIN2B
NRXN1
NRXN2
NRXN3
CHRNA7
ANK2
SYNGAP1
BCKDK
DHCR7

CACNA1C
NIPBL
SMC1A
SMC3
SCN1A
SCN2A
SCN8A
BCKDK
PTCHD1
GRIN2A



Analyse «multi-gene panel »



Mut non-sens *SLC9A6*
(de novo) **Christianson**



Mut faux-sens *CHD2*
(de novo)



Mutation faux-sens *SYNGAP1*
(de novo)



Mut faux-sens *ATRX*
(mat)



Mut faux-sens *FOXP1*
(de novo)



Mut stop *CHD8*
(de novo)

Analyse «multi-gene panel »



Mut non-sens
dans *NLGN3 (mat)*

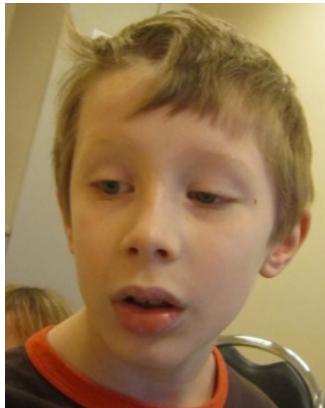
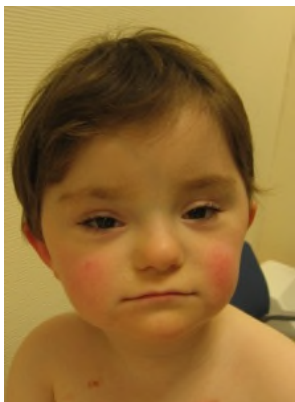


Mut non-sens
dans *NLGN4X(mat)*



Dup intragénique
(exons 2-3)
dans *NLGN4X(mat)*

En cas de résultat négatif ?



Whole-exome sequencing (WES): Pas si simple en routine...



1 individu = 3300 livres de 1000 pages,
avec 1000 lettres par page...

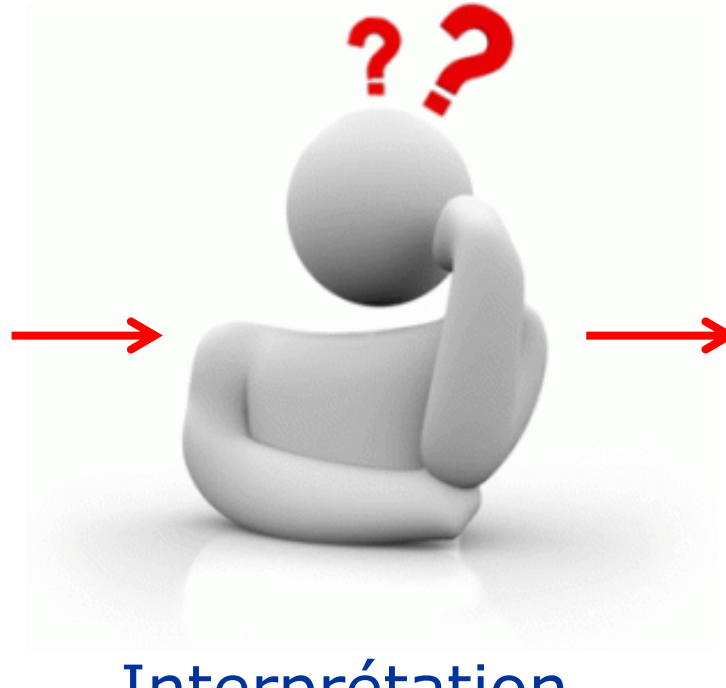


Entre 1 individu et ADN de référence
= 20.000 – 40.000 variations
dont 200 potentiellement pathogènes...

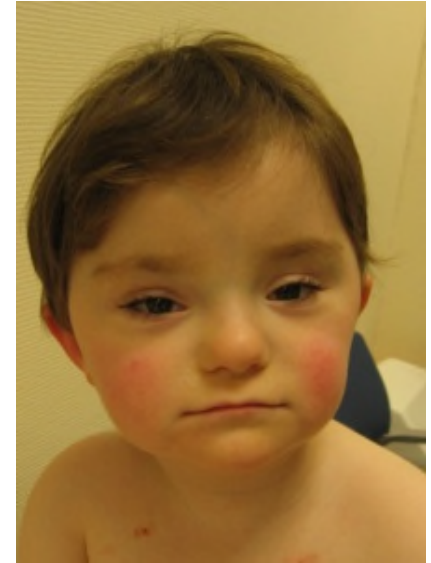
«Reverse phenotyping »



Génotype



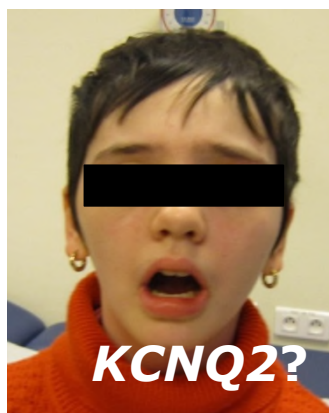
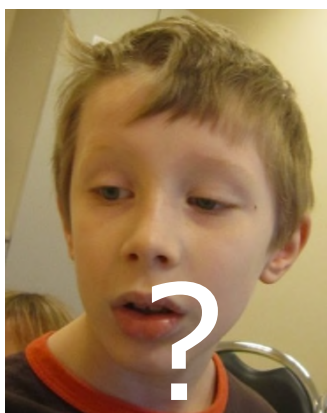
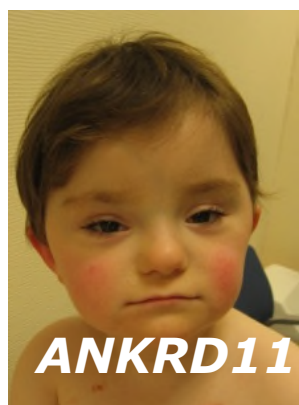
Interprétation
des variants



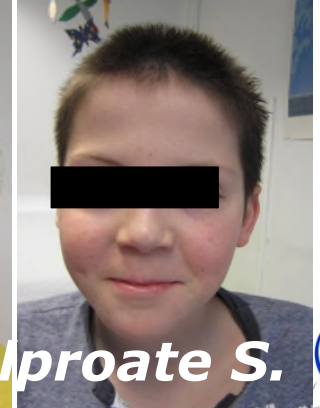
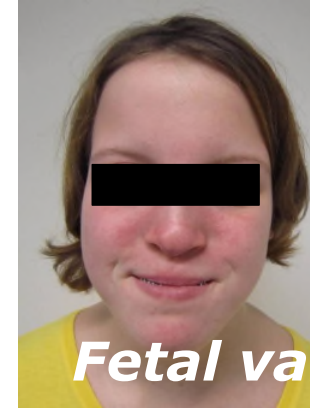
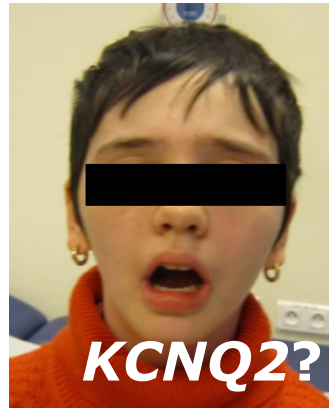
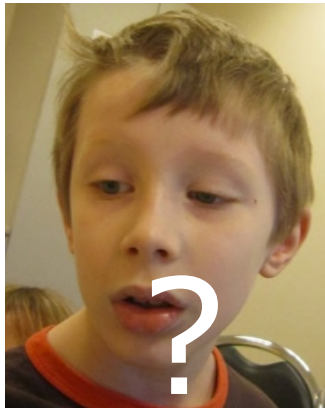
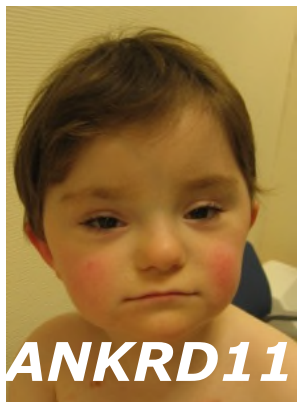
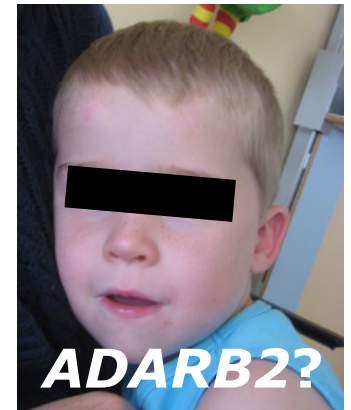
Corrélations
genotype-
phenotype

➤ Les compétences cliniques restent essentielles pour interpréter les résultats

Résultats WES en routine ?



Causes environnementales?



Causes environnementales

➤ Substances tératogènes pdt grossesse

- Acide valproïque (Dépakine®), Thalidomide, Misoprostol, SSRIs ? Paracetamol ???,...
- Ethanol, Cocaine, Tabagisme intensif???,...
- Métaux lourds?, Pesticides?, Pollution (particules fines)???

➤ Pathologies maternelle

- Diabète
- Maladies auto-immunes (Ac anti- β 2GP1 IgG, Ac anti-TPO,...)
- Prééclampsie
- Rubéole, CMV, Influenza ?,...
- Fièvre prolongée?
- Maladies inflammatoires ???

➤ Pathologies foetales

- Hypoxémie, asphyxie périnatale,...
- RCIU
- Grande prématurité

Pourquoi la génétique n'est souvent qu'une pièce du puzzle?

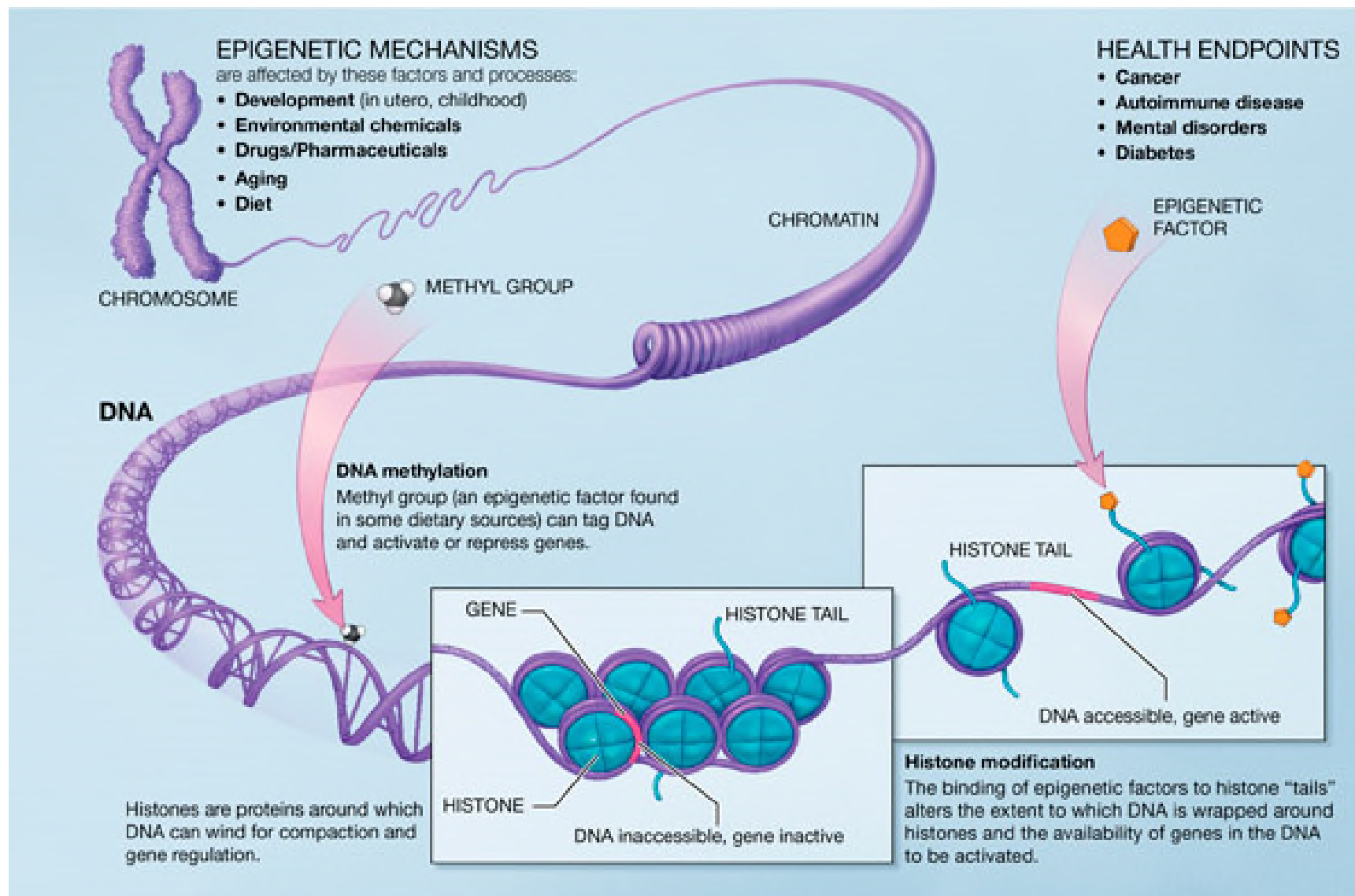
Gène(s)

Epigénétique

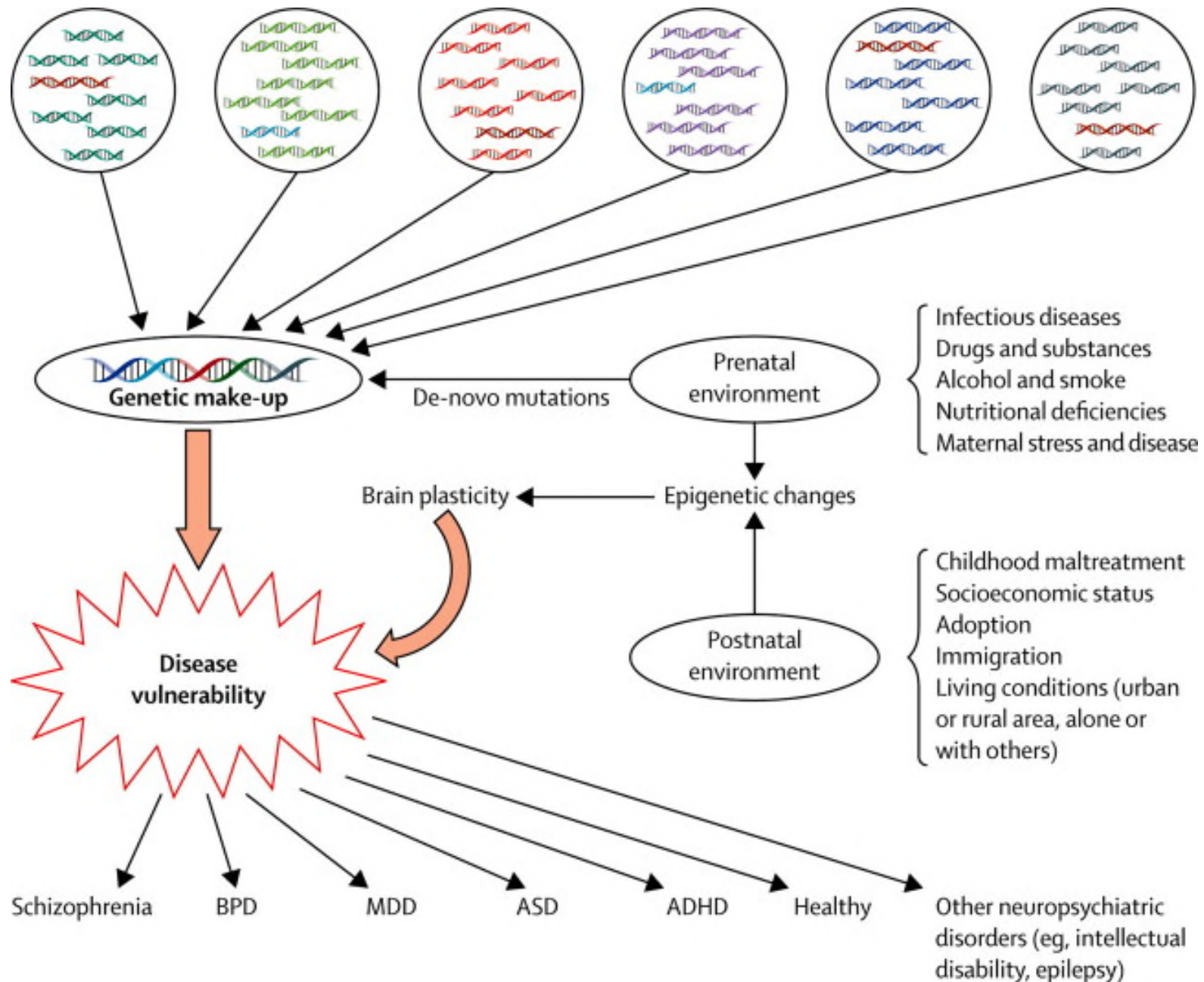


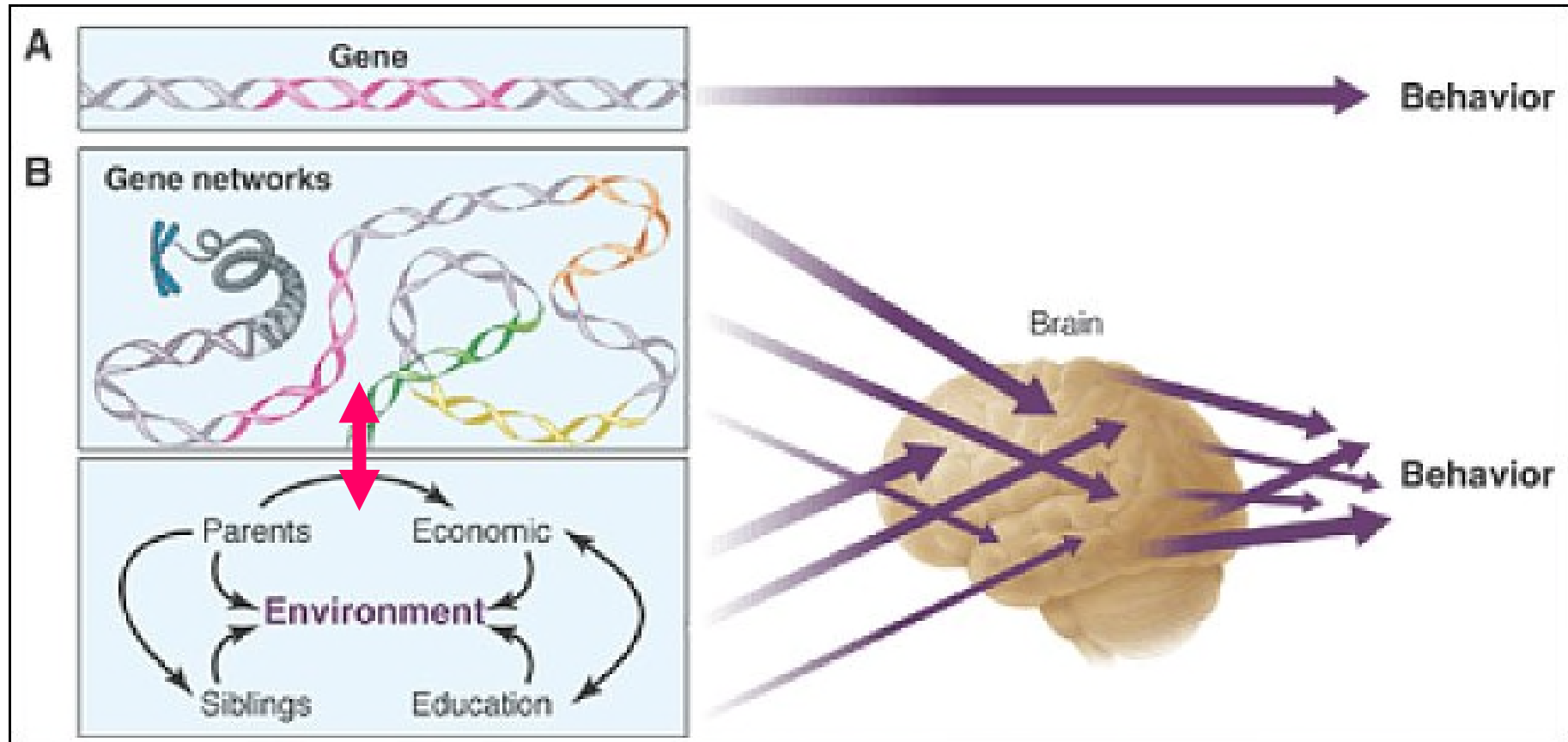
Autres mécanismes: anomalies immunitaire, stress oxydatif augmenté, anomalies mitochondriales, anomalies sérotonine, anomalies cellules de Purkinje, anomalies substance blanche, troubles migration neuronale,...

Modifications épigénétiques



Maladies multifactorielles (facteurs environnementaux)







Bilan génétique indiqué dans TSA

- microarrays
Détection de CNVs: 4-10% (12-17% si DI)
- séquençage ciblé
Formes syndromiques: 5%
- panel multi-gènes (+X-ome, Mendeliome)
Formes syndromiques/non-syndromiques: 3-5%
(10-15% si DI et/ou épilepsie)

**Taux diagnostic: 15-20% si non syndromique
30-40% si syndromique**

- WES, (WGS)

35-40% ?



Mais interprétation des résultats souvent difficile en dehors de grandes cohortes

Importance pour le patient/les parents



- Mettre un terme à l'errance diagnostique
- Accepter le diagnostic
- Mieux comprendre les symptômes
- Répondre aux questions du patient/parents
- Eviter des investigations inutiles
- Meilleur suivi préventif
- Parfois traitement mieux ciblé
- Nouvelles perspectives thérapeutiques

**Mais rester prudent
dans l'interprétation des résultats...**



Importance pour les autres membres de la famille

- Screening diagnostic
- Screening prénatal ou préimplantatoire
- Screening prédictif



**Mais être d'autant plus prudent
dans un contexte prénatal
ou prédictif...**



Croire en la recherche

- *Inclure les patients dans des protocoles de recherche (WES, WGS,...)*
- *Mieux décrire les phénotypes des cohortes de patients atteints et de contrôles*
- *Partager les données au niveau international*
- *Comprendre les mécanismes physiopathologiques de l'autisme*
- *Espoirs thérapeutiques*



IPG (Institut de Pathologie et de Génétique)

25 Avenue Lemaître, 6041 Gosselies, Belgique



Equipe Médicale

Karin Dahan

Anne Destrée

Stéphanie Moortgat

Damien Lederer

Isabelle Maystadt

Dominique Roland

Urielle Ullmann

Christian Dugauquier

Christine Verellen-Dumoulin

Colombine Meunier

Marie Deprez

Equipe Para-Médicale

Dominique van Paemel

Alexia Detheux

Cécile Minet

Aude Lombart

Equipe Laboratoire

Valérie Benoit

Pascale Hilbert

Sébastien Boulanger

Sandrine Mary

Bernard Grisart

Damien Feret

Sonia Rombout

Benoit Parmentier

Marianne Crespin

Charlotte Hougardy

Jean-Martin Billard

Blanche Martin

Alex Marichal

Emilie Brunin

Olivier Froment