Analyse moléculaire par séquençage HD des anomalies cutanées du développement en mosaïque

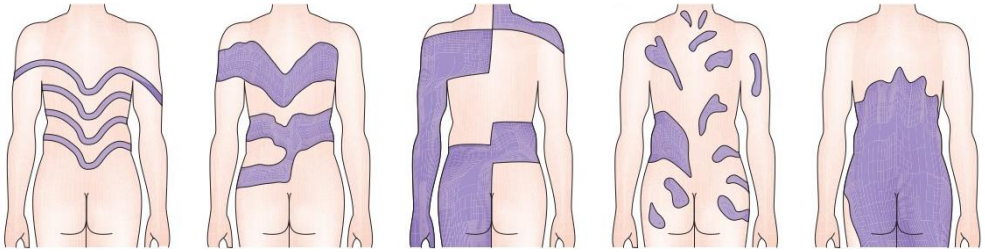
Virginie Carmignac-Quéré
Centre de référence MAGEC – site Dijon

3ème journée FIMARAD
16-11-2018

Centre MAGEC-Dijon Mosaïque - Cohorte M.U.S.T.A.R.D.

M osaic
U ndiagnosed
S kin
T raits
A nd
R elated
D isorders

Centre de référence labellisé depuis janvier 2017
Innovation en soins et diagnostic
Essais thérapeutiques innovants

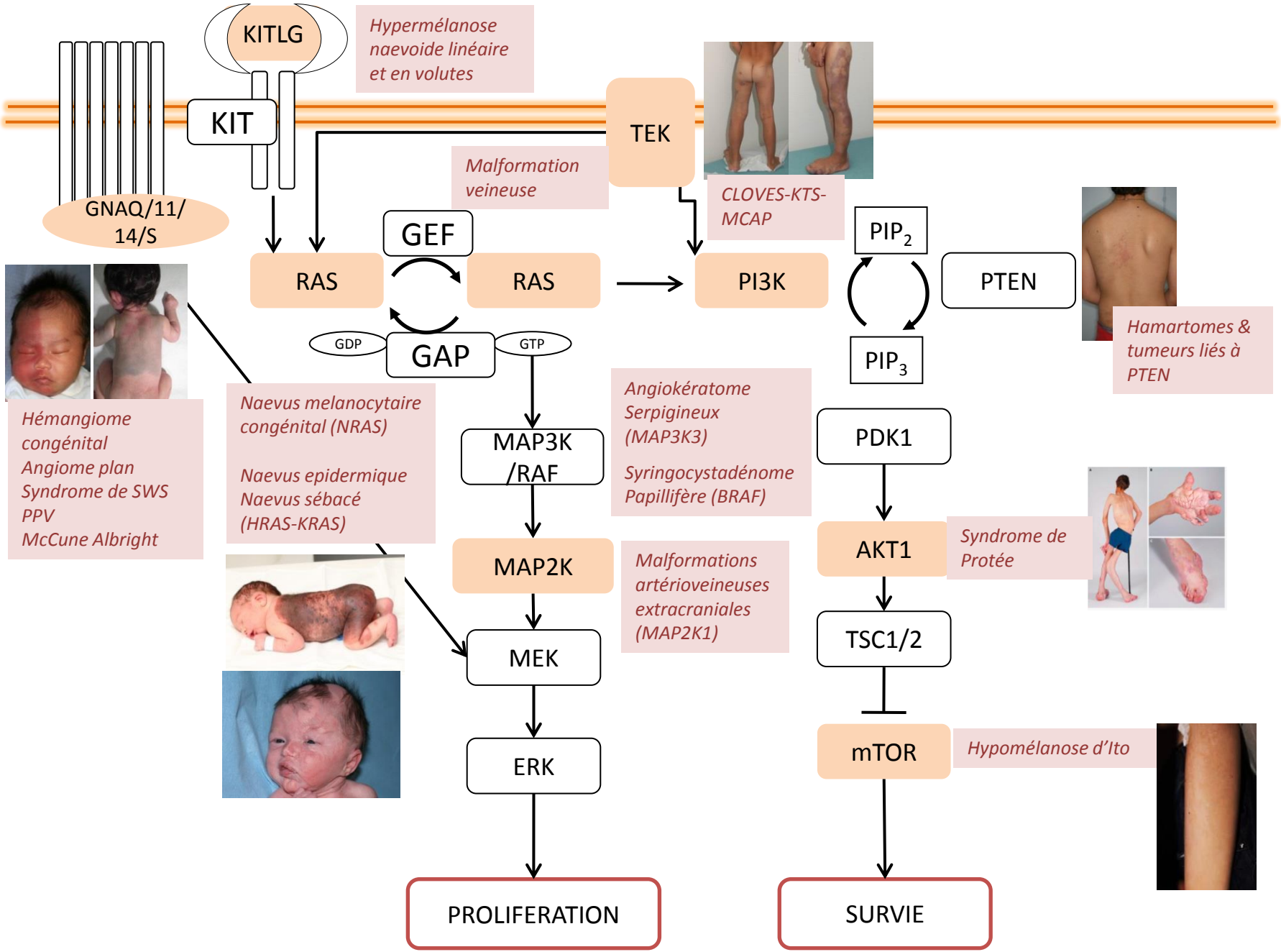


Cohorte MUSTARD: 964 cas index
2408 échantillons biologiques
dont 678 biopsies cutanées

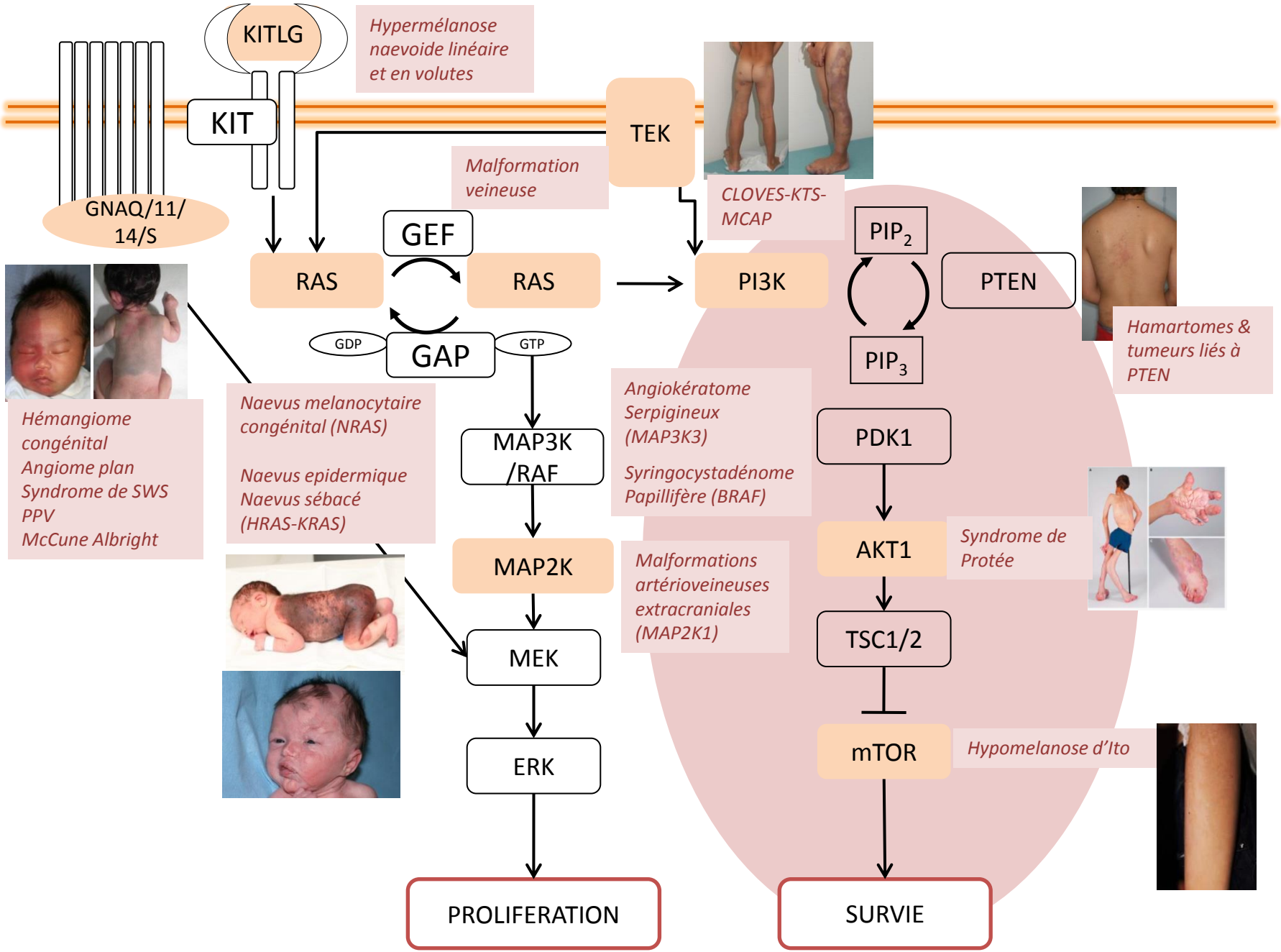
PHRC National 2010, programme ANR PDOC 2013
MUSTARD NCT01950975
MOSAIC NCT01950975

Période d'analyse: 6 ans (2013-2018)

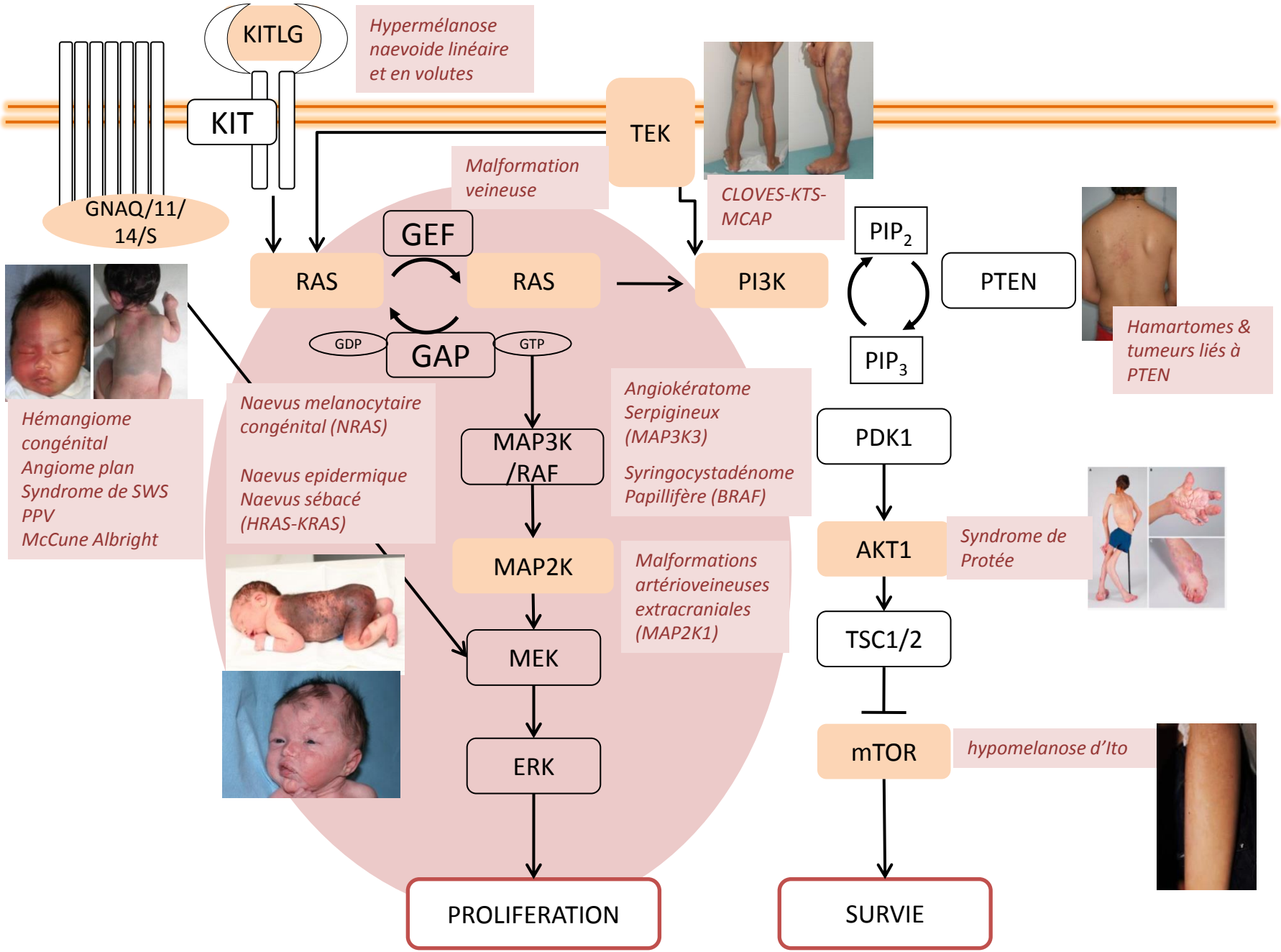
Voies de signalisation et syndromes en mosaïque associés



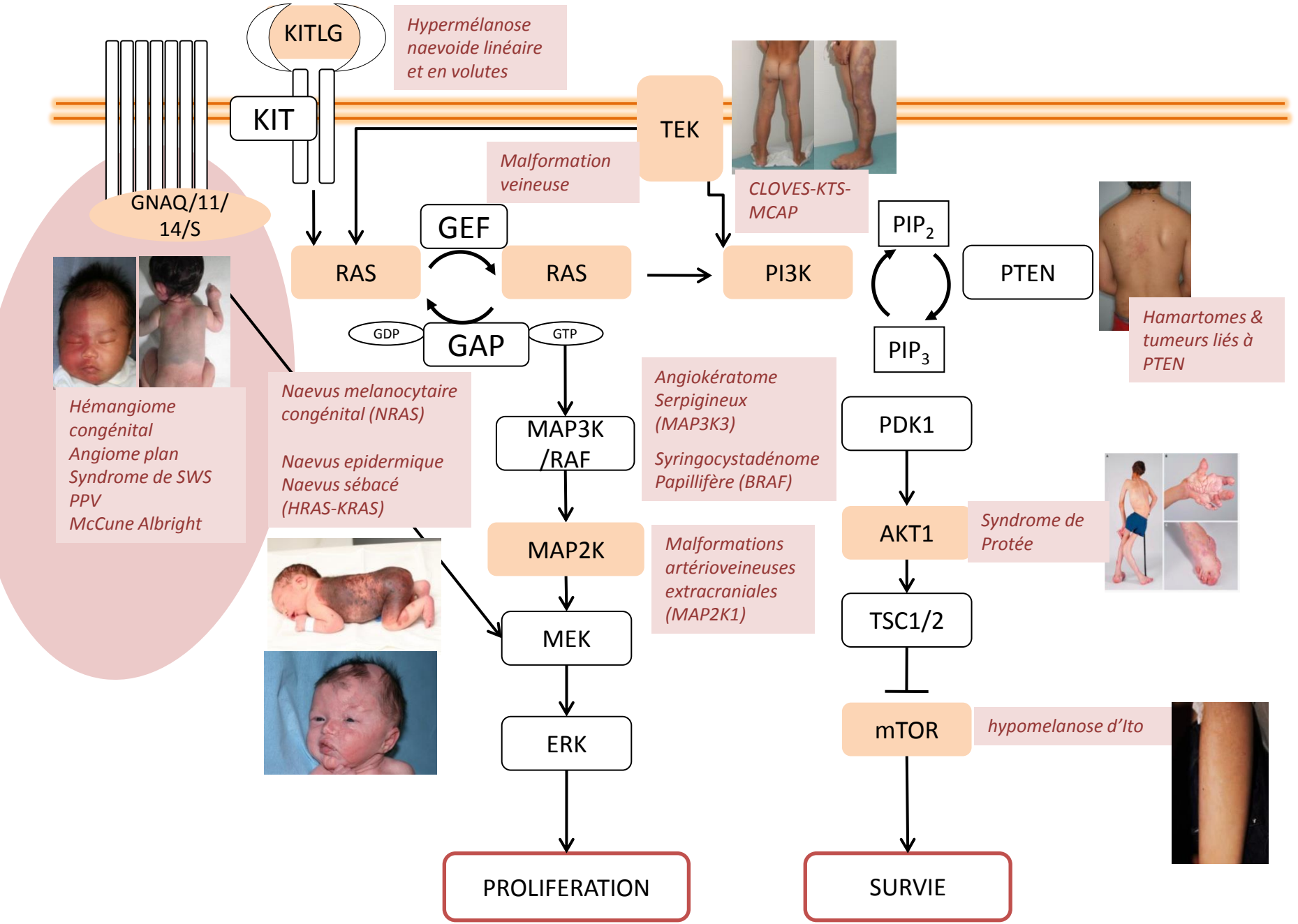
Voies de signalisation et syndromes en mosaïque associés



Voies de signalisation et syndromes en mosaïque associés



Voies de signalisation et syndromes en mosaïque associés



Stratégie diagnostique – programme de recherche

Expertise clinique du phénotype

RCP clinico-biologique d'amont
Validation du test génétique

Adipocytaire

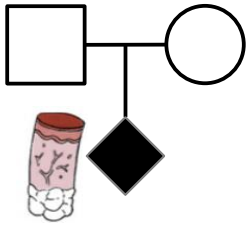
Vasculaire

Pigmentaire

Kératinocytaire

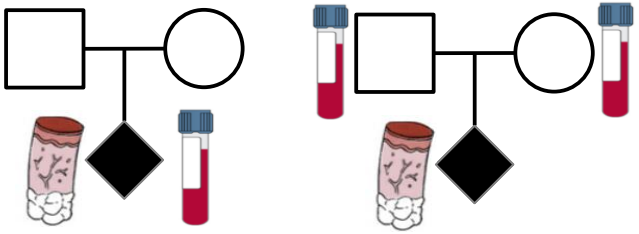
Séquençage ciblé en profondeur

WES : Séquençage d'Exome Complet

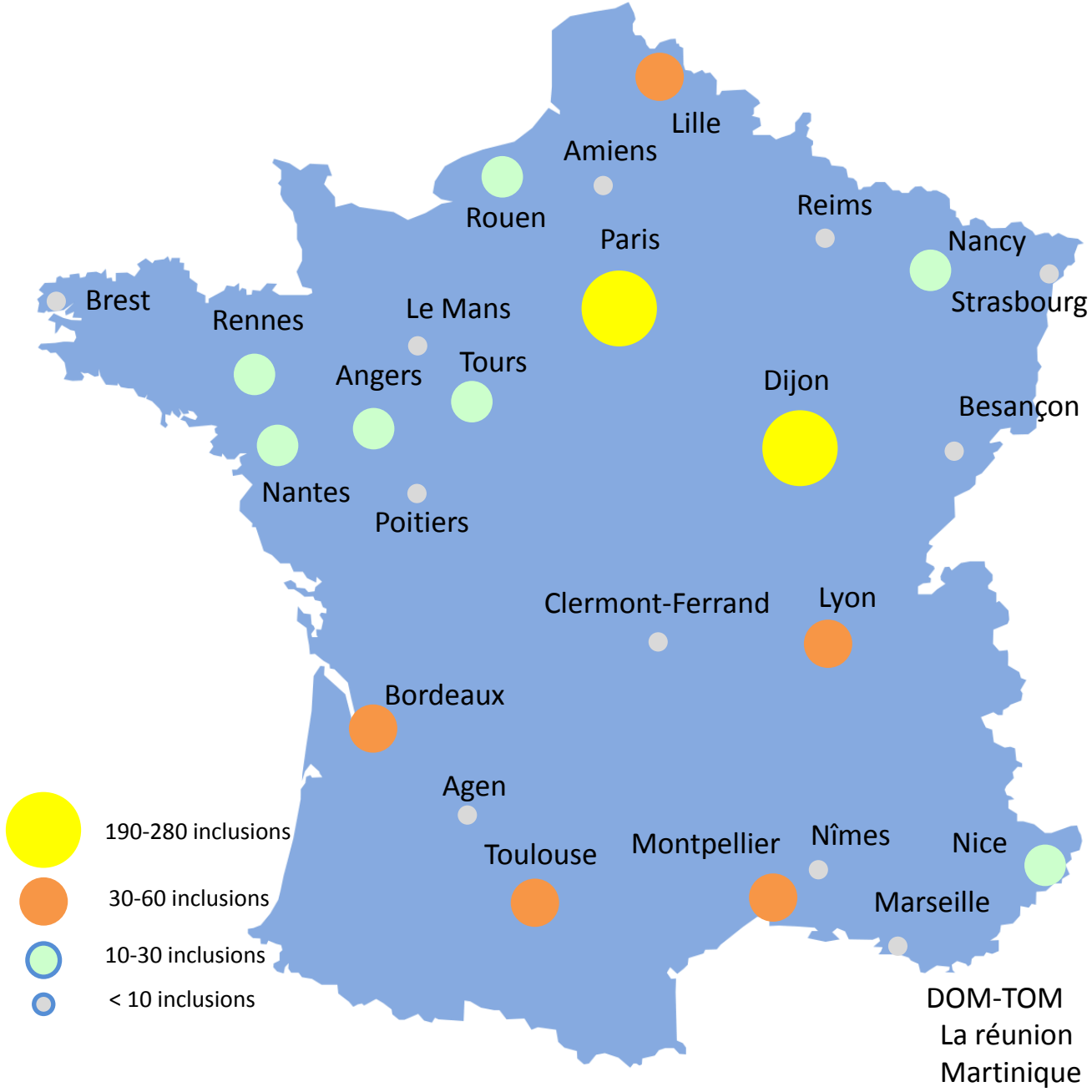


PIK3CA, TEK, AKT1, AKT2, AKT3,
PIK3R2, PTEN, MTOR,
HRAS, KRAS, NRAS, BRAF,
GNAQ, GNA11,
FGFR1, FGFR2, FGFR3
KRT1, KRT10
(RASA1, GLMN)

Paire ou trio



Cohorte M.U.S.T.A.R.D.



Belgique
- Leuwen
- Bruxelles

Espagne
- Madrid

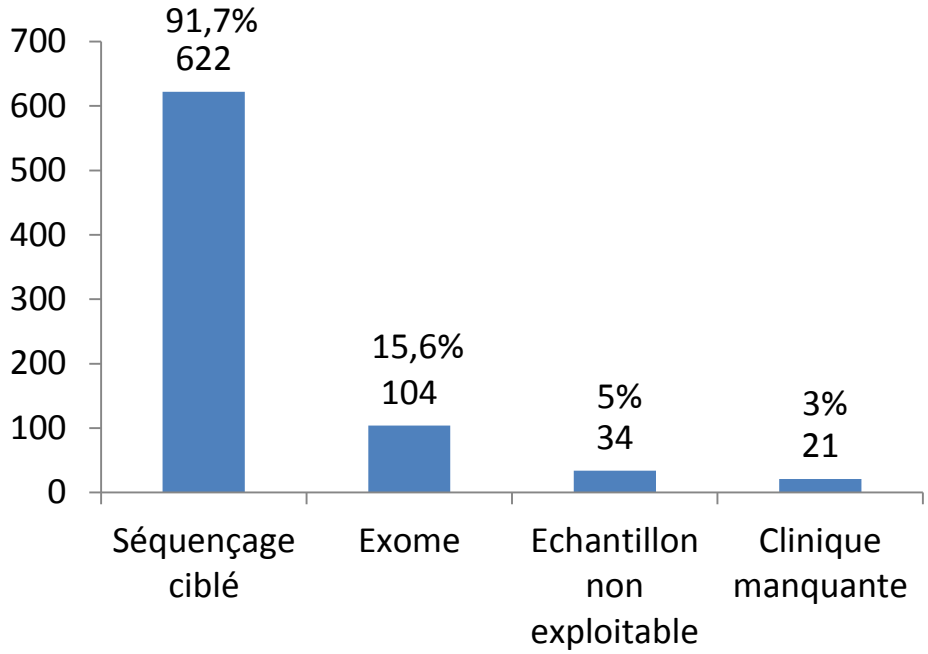
Suisse
- Zürich
- Lausanne

Royaume Uni
- Londres
- Cambridge

Algérie
- Alger

Italie
- Bari
- Messina
- Milan

Répartition des analyses



RCP clinico-biologique d'aval
Validation du résultat avant rendu

Total 678 échantillons

- 622 en séquençage ciblé
- 104 en EXOME:
  - 50 paires (peau/sang)
  - 41 trios (peau/sang parents)
  - 13 solo
  - tissu atteint : profondeur (150-200X)

Diagnostics positifs : 95% une seule analyse (de 1 à 4 gènes)
Exome : 5 nouveaux gènes

Négativité du NGS ciblé :

1/ mauvais choix du candidat par analyse phénotypique insuffisante?
Importance du phénotypage rigoureux a priori
2/ mauvais site de prélèvement tissulaire
3/ anomalie génétique encore non déterminée?
4/ sensibilité insuffisante ? (mosaïque faible)

GAD

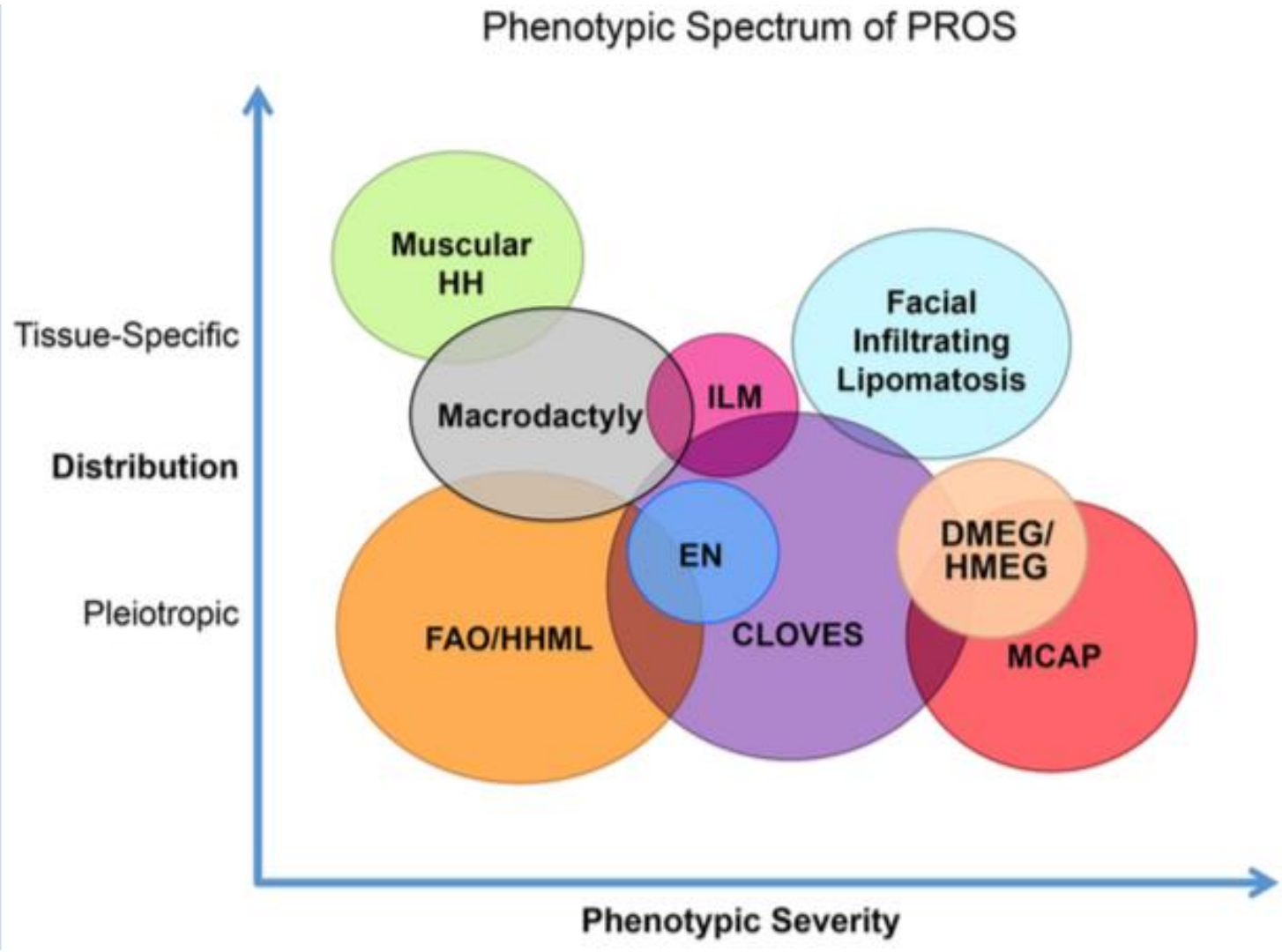
Rendement diagnostic

Répartition des diagnostics positifs

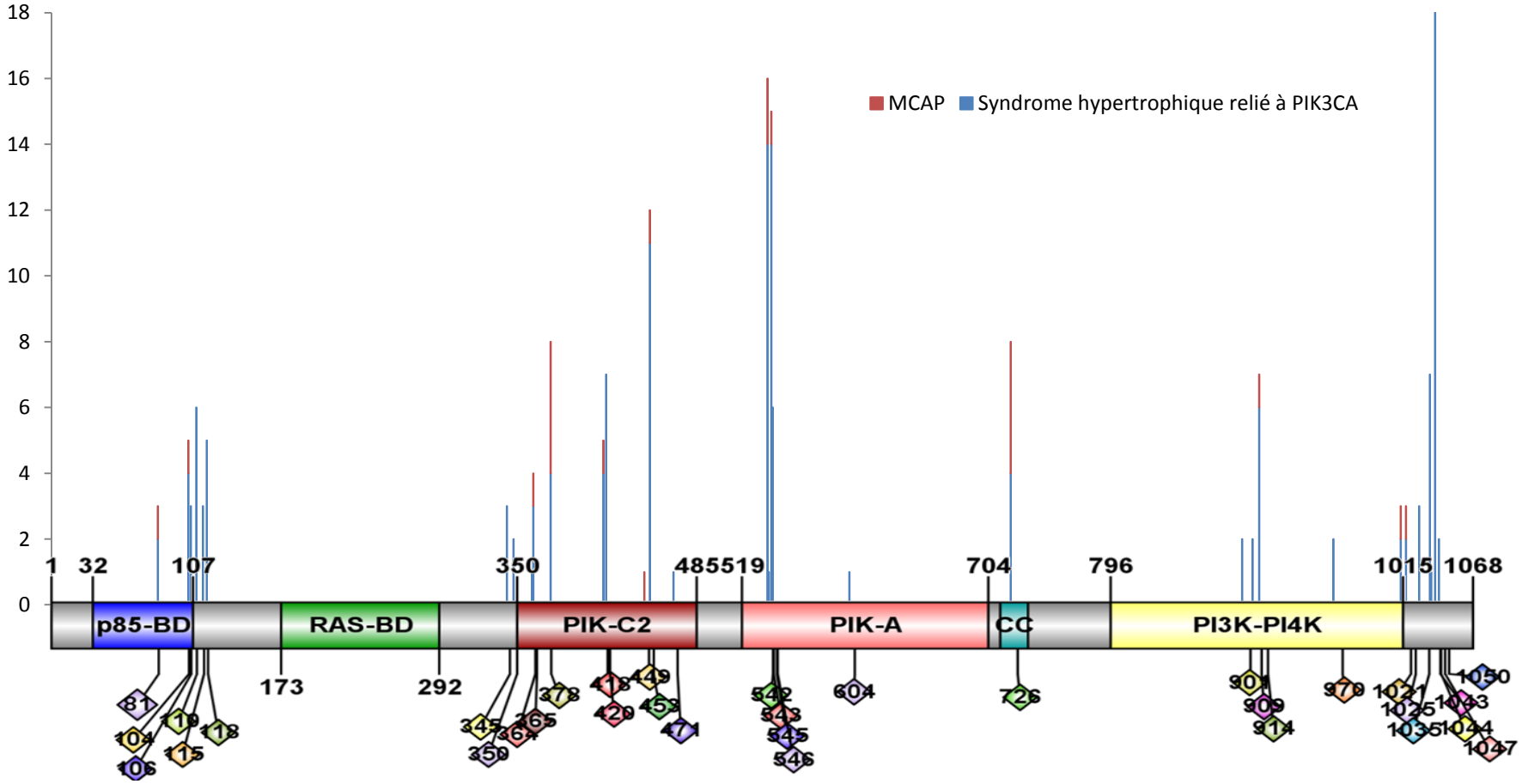
740 patients analysés par NGS ciblé:

Détection de mutations post-zygotiques pathogènes chez 364 patients (50%)

- *PIK3CA* (59%) dans les syndromes hypertrophiques CLOVES ou MCAP
- *GNAQ* et *GNA11* (14%) dans des angiomes plans syndromiques
- *KRAS* et *HRAS* (4.6%) dans des nævus épidermiques syndromiques
- *MTOR* (3%) dans l'hypomélanose d'ITO et épilepsie


Phenotypic Spectrum of PROS
Tissue-Specific
Distribution
Pleiotropic
Muscular HH
Facial Infiltrating Lipomatosis
Macrodactyly
ILM
EN
DMEG/ HMEG
FAO/HHML
CLOVES
MCAP
Phenotypic Severity

Répartition des mutations : *PIK3CA*

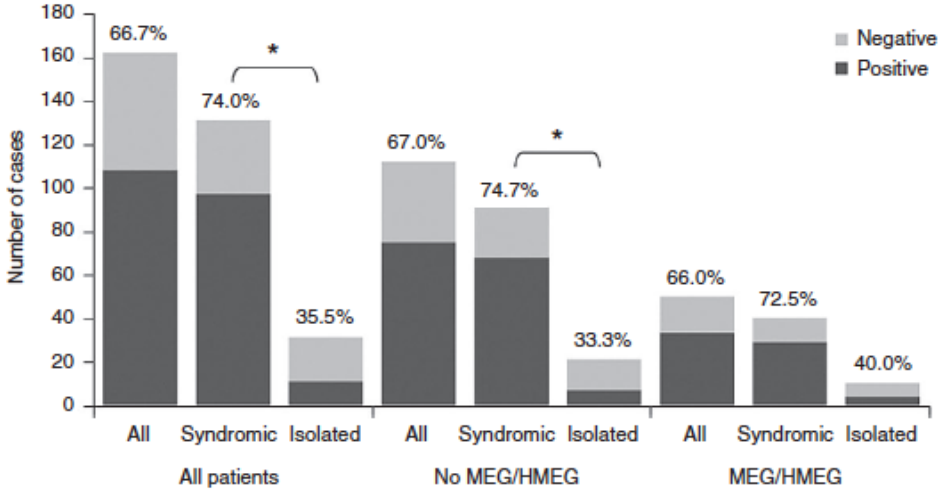


© American College of Medical Genetics and Genomics

ORIGINAL RESEARCH ARTICLE | Genetics inMedicine

Molecular diagnosis of *PIK3CA*-related overgrowth spectrum (PROS) in 162 patients and recommendations for genetic testing

Paul Kuentz, MD[1–3], Judith St-Onge, DEC[1,2,4], Yannis Duffourd, MSc[1,2], Jean-Benoît Courcet, MD[2,5], Virginie Carmignac, PhD[1,2], Thibaud Jouan, BSc[1,2], Arthur Sorlin, MD[1,2], Claire Abasq-Thomas, MD[6], Juliette Albuisson, MD, PhD[7], Jeanne Amiel, MD, PhD[8], Daniel Amram, MD[9], Stéphanie Arpin, MD[10], Tania Attie-Bitach, MD, PhD[11], Nadia Bahi-Buisson, MD, PhD[8], Sébastien Barbarot, MD, PhD[12], Geneviève Baujat, MD[8], Didier Bessis, MD[13], Olivia Boccara, MD[14], Maryse Bonnière, MD[11], Odile Boute, MD[15], Anne-Claire Bursztejn, MD, PhD[16], Christine Chiaverini, MD, PhD[17], Valérie Cormier-Daire, MD, PhD[8], Christine Coubes, MD[18], Bruno Delobel, MD[19], Patrick Edery, MD, PhD[20], Salima El Chehadeh, MD[21], Christine Francannet, MD[22], David Geneviève, MD, PhD[18], Alice Goldenberg, MD[23], Damien Haye, MD[24], Bertrand Isidor, MD, PhD[25], Marie-Line Jacquemont, MD[26], Philippe Khau Van Kien, MD, PhD[27], Didier Lacombe, MD, PhD[28], Ludovic Martin, MD, PhD[29], Jelena Martinovic, MD[30], Annabel Maruani, MD, PhD[31], Michèle Mathieu-Dramard, MD[32], Juliette Mazereeuw-Hautier, MD, PhD[33], Caroline Michot, MD, PhD[8], Cyril Mignot, MD, PhD[34], Juliette Miquel, MD[35], Fanny Morice-Picard, MD, PhD[28], Florence Petit, MD, PhD[15], Alice Phan, MD, PhD[36], Massimiliano Rossi, MD, PhD[20], Renaud Touraine, MD, PhD[37], Alain Verloes, MD, PhD[38], Marie Vincent, MD[25], Catherine Vincent-Delorme, MD[15], Sandra Whalen, MD[39], Marjolaine Willems, MD[18], Nathalie Marle, MD[1,2,40], Daphné Lehalle, MD[1,2,5], Julien Thevenon, MD, PhD[1,2,5], Christel Thauvin-Robinet, MD, PhD[1,2,5], Smaïl Hadj-Rabia, MD, PhD[14], Laurence Faivre, MD, PhD[1,2,5], Pierre Vabres, MD, PhD[1,2,41] and Jean-Baptiste Rivière, PhD[1,2,4,42]



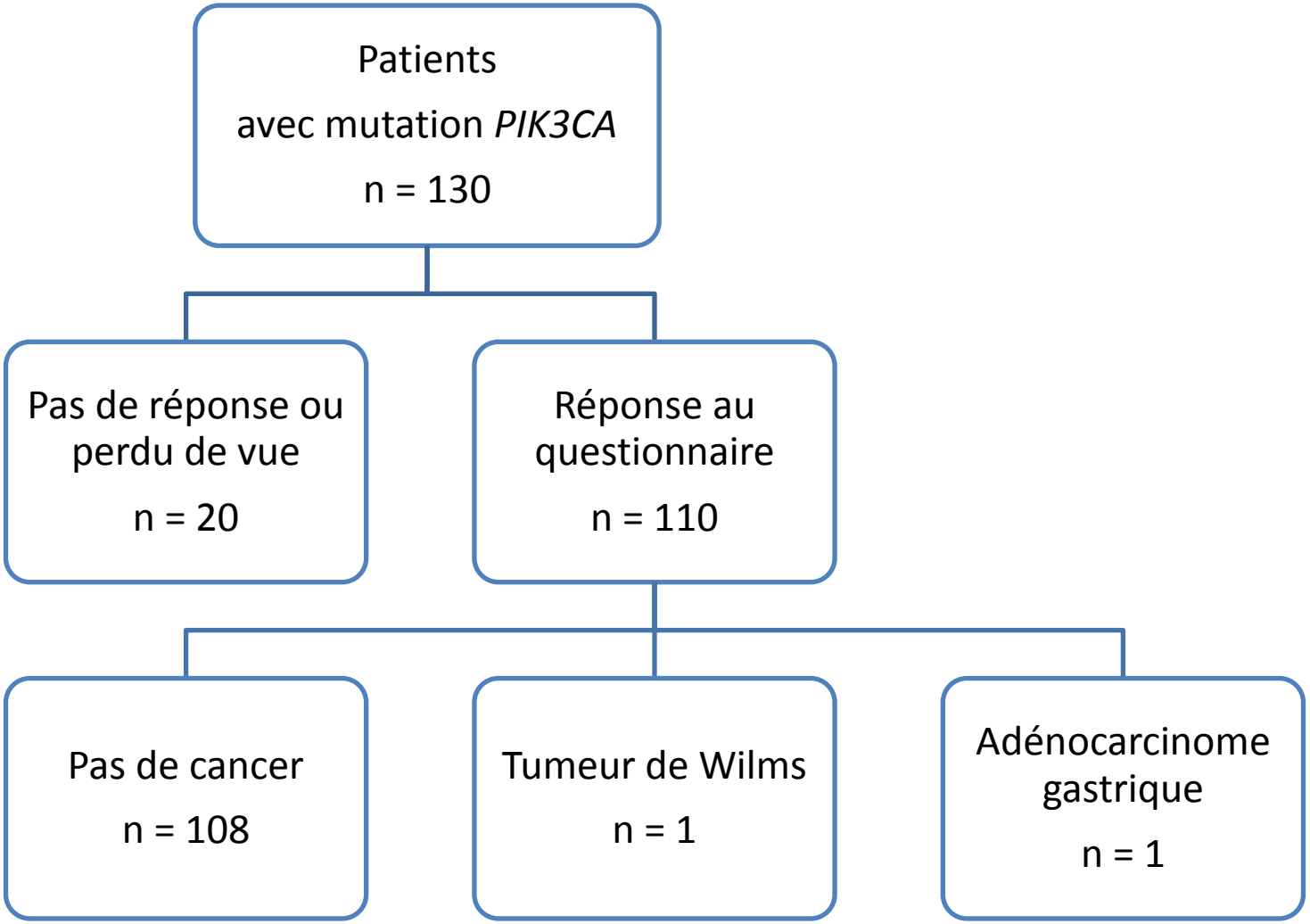
Un diagnostic moléculaire : pour quoi faire ?

Conseil génétique
- Affections sporadiques
- Mutations létales embryonnaires ne survivant que par mosaïcisme

Diagnostic clinique : définition phénotypique (reverse phenotyping)
- spectre PROS, spectre des rasopathies, spectre des protéines G

Pronostic : risque tumoral ?
- Tumeur de Wilms et PROS

Tumeur de Wilms et PROS



Un diagnostic moléculaire : pour quoi faire ?

Conseil génétique
- Affections sporadiques
- Mutations létales embryonnaires ne survivant que par mosaïcisme

Diagnostic clinique : définition phénotypique (reverse phenotyping)
- spectre PROS, spectre des rasopathies, spectre des protéines G

Pronostic : risque tumoral ?
- Tumeur de Wilms et PROS

Thérapeutique : médicaments ciblés (repositionnement d'anti-tumoraux)
- Voie PI3K-AKT-MTOR : PROMISE (SIROLIMUS), TOTEM (TASELISIB)

PROMISE

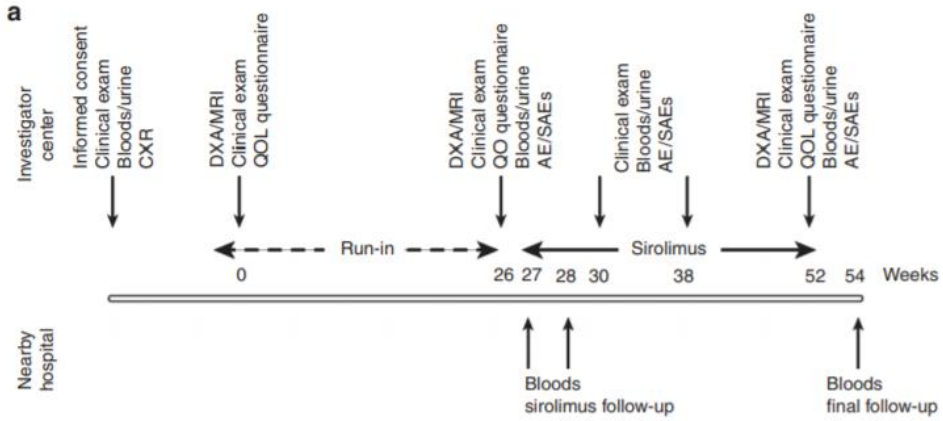
© American College of Medical Genetics and Genomics

ARTICLE | Genetics inMedicine

Open

Safety and efficacy of low-dose sirolimus in the PIK3CA-related overgrowth spectrum

Victoria E. R. Parker, MBBS PhD[1], Kim M. Keppler-Noreuil, MD[2], Laurence Faivre, MD-PhD[3], Maxime Luu, MD[4], Neal L. Oden, PhD[5], Leena De Silva, BSc[1], Julie C. Sapp, ScM[2], Katrina Andrews, MBChir[1], Marc Bardou, MD-PhD[4], Kong Y. Chen, PhD[6], Thomas N. Darling, MD, PhD[7], Elodie Gautier, MSc[3], Barry R. Goldspiel, PharmD[8], Smail Hadj-Rabia, MD-PhD[9], Julie Harris, RN[1], Georgios Kounidas, MPhil[1], Parag Kumar, PharmD[8], Marjorie J. Lindhurst, PhD[2], Romaric Loffroy, MD-PhD[10], Ludovic Martin, MD-PhD[11], Alice Phan, MD-PhD[12], Kristina I. Rother, MD[6], Brigitte C. Widemann, MD[13], Pamela L. Wolters, PhD[13], Christine Coubes, MD[14], Lucile Pinson, MD[14], Marjolaine Willems, MD-PhD[14], Catherine Vincent-Delorme, MD[15] PROMISE Working Group#, Pierre Vabres, MD-PhD[3], Robert K. Semple, MBChir PhD[1,16] and Leslie G. Biesecker, MD[2]



Dexa/IRM

Un diagnostic moléculaire : pour quoi faire ?

Conseil génétique
- Affections sporadiques
- Mutations létales embryonnaires ne survivant que par mosaïcisme

Diagnostic clinique : définition phénotypique (reverse phenotyping)
- Spectre PROS, spectre des rasopathies, spectre des protéines G

Pronostic : risque tumoral ?
- Tumeur de Wilms et PROS

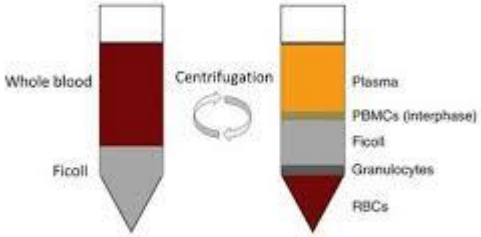
Thérapeutique : médicaments ciblés (repositionnement d'anti-tumoraux)
- Voie PI3K-AKT-MTOR : PROMISE (SIROLIMUS), TOTEM (TASELISIB)

Recherche pré-clinique
- Identification de cellules progénitrices et modèle murin

Développement pré-clinique

Criblage de molécules d'intérêt sur modèle murin de malformations vasculaires

Patients atteints des malformations veineuses ou artério-veineuses

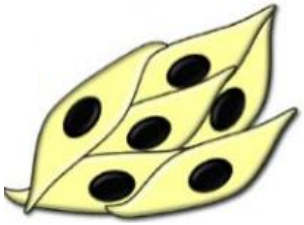


Sang périphérique

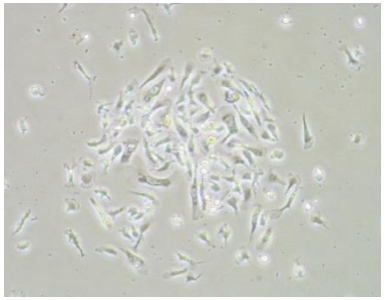
PBMC

Isolement de Cellules Progénitrices Endothéliales (CPE)

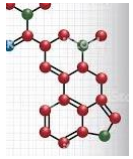
circulantes



Formation de colonies endothéliales en culture cellulaire

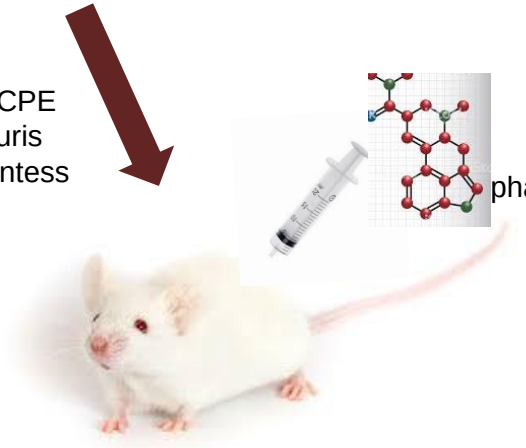


Molécules pharmacologiques



Molécules pharmacologiques

Injection des CPE dans des souris immunodéficientess



Merci

Pierre Vabres

Pr L. Faivre
Pr C. Thauvin
Pr C. Philippe

Y. Duffourd
E. Tisserant

V. Carmignac
R. Quéré
P. Kuentz
A. Sorlin

N. Bourgon
R. Mshaik

T. Jouan
C. Poë
M. Chevarin

J. Martel

J. Lavoyer

B. Bonniaud
G. Jeudy
J-C. Crépin
M. Jordan
J. Pasteur

L'équipe

Les collaborateurs

Aicha Salhi
Alice Goldenberg
Alice Phan
Annabel Maruani
Anne-Claire Bursztejn
Anne-Laure Souillet
Aude Maza
Audrey Lasek
Bérénice Doray
Bertrand Isidor
Caroline Abadie
Catherine Vincent-Delorme
Chloé Quélin
Christine Chiaverini
Christine Coubes
Claire Abasq
Cyril Mignot
Damien Haye
Daphné Lehalle
David Geneviève
Didier Bessis
Emmanuelle Bourrat
Fanny Morice-Picard
Geneviève Baujat
Hubert Journel
Jelena Martinovic
Juliette Mazereeuw-Hautier
Juliette Piard
Lisa Weibel
Ludovic Martin
Marie Gonzales
Marie Hully
Marjolaine Willems
Marlène Rio
Martin Theiler
Martine Le Merrer
Massimiliano Rossi
Mélanie Fradin
Muriel H Holder-Espinasse
Nadia Bahi-Buisson
Nicolas Chassaing
Nicole Philip
Patrick Rump
Pierre Sarda
Sébastien Barbarot
Sabine Sigaudy
Salima El Chehadeh
Smaïl Hadj-Rabia
Stéphanie Arpin
Tiffany Busa
Valérie Cormier-Daire
Veronica Kinsler