

ETAT DES LIEUX DU CO-FINANCEMENT  
KIWANIS / FONDATION MALADIES RARES

OCTOBRE 2020

# ETAT DES LIEUX DU CO-FINANCEMENT

## KIWANIS / FONDATION MALADIES RARES

OCTOBRE 2020

PROJET	MONTANT TOTAL	MONTANT CO-FINANCE PAR LE KIWANIS	REGION
Chelly-2016	60 000,00 €	800,00 €	Grand Est
Khalfallah-2013	25 000,00 €	3 000,00 €	Sud-Méditerranée
Laugel-2016	11 628,00 €	5 000,00 €	Grand Est
Gardie-2017	24 200,00 €	9 500,00 €	Ouest
Lenaers-2017	26 850,00 €	10 000,00 €	Ouest
Bézieau-2016	27 300,00 €	9 200,00 €	Ouest
Millat-2017	10 120,00 €	10 120,00 €	Rhône-Alpes-Auvergne
Lesca-2017	36 900,00 €	19 600,00 €	Rhône-Alpes-Auvergne
Bohm-2017	25 000,00 €	20 000,00 €	Grand Est
Debant-2017 <sup>^</sup>	51 175,00 €	20 125,00 €	Sud-Méditerranée
Chassaing 2018	19 800,00 €	10 000,00 €	Sud-Ouest
Studer 2019	27 280,00 €	15 000,00 €	Sud-Méditerranée
Cossée 2019	20 300,00 €	10 000,00 €	Sud-Méditerranée
<b>Total</b>	<b>365 553,00 €</b>	<b>142 345,00 €</b>	

## SOMMAIRE

1/ PROJET DU PR JAMEL CHELLY	4
2/ PROJET DES DRs BARBARA BARDONI & OLFA KHALFALLAH	5
3/ PROJET DU PR VINCENT LAUGEL	7
4/ PROJET DU DR BETTY GARDIE	9
5/ PROJET DU DR GUY LENAERS	11
6/ PROJET DU DR STEPHANE BEZIEAU	13
7/ PROJET DU DR GILLES MILLAT	15
8/ PROJET DU DR GAËTAN LESCA	17
9/ PROJET DU DR JOHANN BÖHM	19
10/ PROJET DU DR ANNE DEBANT	20
11/ PROJET DU DR NICOLAS CHASSAING	21
12/ PROJET DU DR MICHELE STUDER	22
13/ PROJET DU DR MIREILLE COSSEE	23

## 1/ PROJET DU PR JAMEL CHELLY

### STRASBOURG



#### IDENTIFICATION ET VALIDATION DES CAUSES GÉNÉTIQUES DES MALFORMATIONS DU DÉVELOPPEMENT DU CORTEX.

*Ce projet vise à préciser l'origine génétique des malformations du développement cortical à l'origine d'une déficience intellectuelle associée à un handicap moteur, et souvent une épilepsie, afin de mieux comprendre cette pathologie et pouvoir envisager des approches thérapeutiques.*

**Budget : 60 000 € - Soutien de 800 € par la Fondation Kiwanis**

**Projet réalisé en 2017.**

Les malformations du développement du cortex cérébral, aussi appelées **malformations du développement cortical**, sont des maladies génétiques rares à transmission autosomique dominante. Elles se caractérisent par une paralysie des membres, un retard de développement ou une déficience intellectuelle et une épilepsie réfractaire à la médication. Ces maladies se manifestent généralement dans l'enfance. **Les causes génétiques de ces maladies ne sont pas connues et il n'existe aucun traitement.**

Les premiers travaux de l'équipe du Pr Jamel CHELLY (IGBMC, Strasbourg) avaient permis d'identifier des régions chromosomiques candidates. Le séquençage plus précis (Sanger) de ces régions codantes puis le séquençage de nouvelle génération n'avaient pas permis d'identifier de mutation responsable.

Le projet du Pr Jamel CHELLY, sélectionné et financé par la Fondation Maladies Rares, avait donc pour objectif d'identifier les causes génétiques des malformations du développement cortical et de valider les mécanismes physiopathologiques impliqués.

**Le séquençage du génome entier de huit individus a permis d'identifier la cause de cette maladie rare.** Elle est due à des expansions de répétitions en tandem, survenant dans des gènes différents, sur les chromosomes 2 et 5. Ce résultat a pu être validé par trois techniques différentes dont le séquençage par nanopore et le peignage moléculaire. Ceci a permis de démontrer la grande instabilité de ces expansions. Plus de sept familles (une centaine de patients au total) porteuses de ce type d'expansion ont alors pu être identifiées et diagnostiquées.

**Le séquençage du génome entier de huit individus porteurs de ces malformations a été réalisé en 2017, grâce au soutien de la Fondation Maladies Rares et du Kiwanis. Cette découverte contribue à réduire l'errance diagnostique dans ce syndrome et à mieux comprendre les mécanismes responsables du tremblement cortical et de l'épilepsie.**

## 2/ PROJET DES DRS BARBARA BARDONI

& OLFA KHALFALLAH NICE



### RECHERCHE DE MOLÉCULES ACTIVES SUR UN MODÈLE CELLULAIRE DU SYNDROME DE L'X FRAGILE PAR CRIBLAGE À HAUT DÉBIT

*Ce projet vise à identifier des candidats médicaments pour le syndrome de l'X Fragile, forme de déficience intellectuelle héréditaire la plus fréquente et résultant d'une atteinte de la partie terminale du chromosome sexuel X.*

**Budget : 25 000 € - Soutien de 3 000 € par la Fondation Kiwanis**

**Réalisation du projet en 2015.**

**Le Syndrome de l'X Fragile (SXF)** est une maladie génétique rare qui touche 10 000 patients en France et 150 000 en Europe, avec une prévalence de 1/4000 hommes et de 1/7000 femmes. Cette maladie représente la forme la plus courante de déficience intellectuelle héréditaire et l'une des principales causes d'autisme.

Le SXF est causé par l'absence d'expression du gène FMR1 et de sa protéine codée, FMRP, une protéine de liaison à l'ARN qui module l'expression de diverses protéines impliquées dans la fonction neuronale. FXS partage un certain nombre de symptômes avec l'autisme. Ainsi, un développement thérapeutique pour SXF pourrait ainsi avoir une application beaucoup plus large sur certaines formes de troubles du spectre autistique (TSA).

**Aucun traitement n'existe actuellement.** Les approches thérapeutiques actuelles se concentrent sur la thérapie comportementale et une approche médicamenteuse pour atténuer un nombre limité de symptômes, tels que l'hyperactivité, les convulsions et l'anxiété.

**Pour ces raisons, le laboratoire du Dr Barbara BARDONI a pour objectif de développer une nouvelle approche thérapeutique pour le FXS.** Des résultats récents suggèrent que plusieurs voies interconnectées étaient modifiées chez les neurones des patients atteints du SXF et qu'il était essentiel de rendre disponibles de nouvelles molécules à administrer aux patients à différents stades de la vie, seules ou en combinaison, pour traiter les phénotypes multiples.

Certains modèles animaux récapitulant des phénotypes FXS ont été générés et le modèle murin Fmr1-KO est disponible depuis 2009. Ce modèle récapitule la plupart des symptômes de la maladie et certains de ses phénotypes sont intéressants pour les études précliniques.

## 2/ PROJET DES DRS BARDONI & KHALFALLAH

### SUITE

Afin d'avoir à disposition un modèle cellulaire de cette maladie, une déplétion stable de FMRP a été obtenue dans une lignée de cellules souches embryonnaires de souris (shFmr1 ES) qui ne présente pas d'altérations morphologiques mais une expression anormale d'un sous-ensemble de gènes principalement impliqués dans la différenciation et la maturation neuronale.

Cette lignée a comme phénotype majeur une accélération des premières étapes de la neuro-genèse (le processus de génération et maturation des neurones). En considérant ce phénotype, l'équipe du Dr BARDONI a mis en évidence la possibilité d'utiliser cette lignée cellulaire pour cribler une banque de biomolécules. Ainsi, les molécules révélant la capacité d'inverser activement le phénotype de ce modèle pourraient être utiles pour traiter les patients atteints du SXF.

**Avec le soutien financier de la Fondation Maladies Rares et du Kiwanis, un premier criblage a été réalisé pour le projet des Dr KHALFALLAH et Dr BARDONI à la Plateforme de Chimie Biologique Intégrative de Strasbourg (PCBIS) dirigée par le Dr Pascal Villa à l'aide de la banque de Prestwick (1280 médicaments approuvés par la FDA) et d'une banque de 230 petites molécules obtenue des docteurs Maria Duca et Stéphane Azoulay à l'Institut de Chimie de Nice (ICN). Plusieurs molécules ont été validées qui se sont montrées capables d'inhiber la différenciation neuronale accélérée des cellules ES shFmr1.**

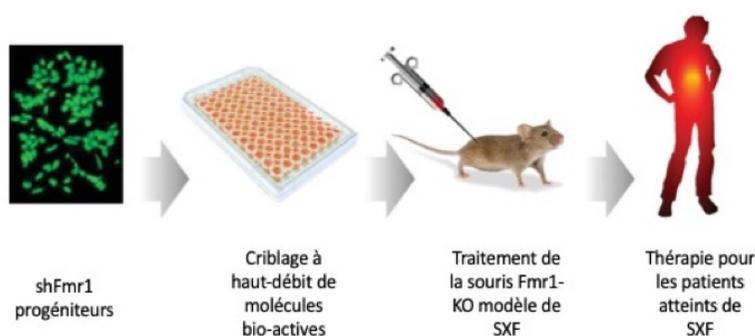


Schéma des différentes étapes de la recherche. À partir des progéniteurs neuraux shFmr1, un criblage à haut débit a été effectué pour identifier les petites molécules (d'une sélection de médicaments déjà approuvés pour l'utilisation clinique) capables de rétablir le phénotype shFMR1. Ces molécules seront testées chez les souris Fmr1-KO, le modèle murin de FXS, afin de définir leur capacité à sauver certains de leurs phénotypes comportementaux. Les molécules capables de corriger ces phénotypes seront directement testées sur des patients atteints de FXS lors d'essais cliniques de phase II.

### Publications

- Khalfallah O, Jarjat M, Davidovic L, Nottet N, Cestèle S, Mantegazza M, Bardoni B. (2017) Depletion of the Fragile X Mental Retardation Protein in Embryonic Stem Cells Alters the Kinetics of Neurogenesis. *Stem Cells*, 35:374-385. doi: 10.1002/stem.2505. PMID:27664080
- Bardoni B, Capovilla M, Lalli E. (2017) Modeling Fragile X syndrome in neurogenesis: An unexpected phenotype and a novel tool for future therapies. *Neurogenesis (Austin)*, 4(1):e1270384. doi: 10.1080/23262133.2016.1270384. PMID:28203608

## 3/ PROJET DU PR VINCENT LAUGEL

### STRASBOURG



#### IDENTIFICATION DE NOUVELLES CAUSES GÉNÉTIQUES DU SYNDROME DE COCKAYNE PAR SÉQUENÇAGE À HAUT DÉBIT.

*Ce projet vise à identifier l'origine génétique du syndrome de Cockayne, une maladie multi-systémique, caractérisée par un retard de développement, une dysmorphie faciale, une photosensibilité, des troubles neurologiques progressifs et un déficit intellectuel, afin de diminuer l'errance diagnostique des enfants atteints.*

**Budget : 11 628 € - Soutien de 5 000 € par la Fondation Kiwanis**

**Réalisation du projet en 2016.**

**Le syndrome de Cockayne (CS)** est une pathologie multisystémique rare (2,7 cas / million de naissances) de transmission autosomique récessive. Il se caractérise, entre autres, par un retard de croissance progressif et sévère associé à une microcéphalie, une déficience intellectuelle, une neuropathie démyélinisante périphérique, des anomalies sensorielles, une photosensibilité cutanée ainsi que des anomalies dentaires. Ce syndrome se manifeste durant la première année de l'enfant et l'espérance de vie n'excède pas 20 ans. Les causes génétiques de ce syndrome ne sont pas toutes connues et aucun traitement n'existe.

Le Pr Vincent LAUGEL (Laboratoire de Génétique médicale, CHU de Strasbourg) a rassemblé une cohorte de 300 patients chez lesquels était suspecté un syndrome de Cockayne. Pour plus de la moitié de ces patients, aucune anomalie génétique déjà connue n'avait pu être identifiée, suggérant qu'une nouvelle anomalie génétique est cause de leur syndrome.

**Le projet de l'équipe du Pr Vincent LAUGEL avait donc pour objectif d'étudier et d'identifier ces nouvelles causes génétiques, chez quatre enfants atteints.**

L'ADN de ces quatre enfants a été extrait ainsi que l'ADN de chacun de leurs parents (appelé aussi séquençage en trio). La présence de variations dans 15 gènes déjà connus a été préalablement exclue par séquençage haut débit. Ces enfants ont ensuite bénéficié d'un séquençage par exome (séquençage de 2 742 gènes connus comme impliqués dans les pathologies humaines), sans résultat. En partenariat avec une plateforme technologique spécialisée dans le séquençage génétique (Plate-forme Biopuces & Séquençage - IGBMC, Illkirch), les exomes de ces enfants a alors été réalisé et analysé. Plusieurs variations génétiques ont pu être identifiées.

Chez trois enfants ces variations n'ont pu être corrélées à la pathologie qu'ils présentent, appelant à réaliser le séquençage de leur génome entier dans l'avenir.

### 3/ PROJET DU PR VINCENT LAUGEL

#### *SUITE*

Chez un des enfants, une des variations génétiques trouvée a pu être corrélée à sa pathologie. Quatre autres patients porteurs de cette variation ont ensuite pu être identifiés dans la littérature. De plus, l'identification de la variation génétique responsable a permis de réaliser un diagnostic prénatal pour les parents qui ont donné naissance à un enfant en bonne santé.

**Avec le soutien du Kiwanis et de la Fondation Maladies Rares, l'équipe a donc été en mesure d'analyser le génome de quatre enfants par séquençage à haut débit. Sur ces quatre patients, un enfant a pu être diagnostiqué d'une nouvelle mutation génétique.**

Cette découverte contribue à diminuer l'errance diagnostique de tous les enfants atteints du Syndrome de Cockayne et a permis le diagnostic génétique de cet enfant ; un diagnostic prénatal chez ses parents qui ont donné naissance à un nouvel enfant, en bonne santé ; l'initiation d'études fonctionnelles sur cette nouvelle mutation génétique afin de mieux la comprendre et d'ouvrir la voie à la découverte d'un traitement.

## 4/ PROJET DU DR BETTY GARDIE

### NANTES



#### SÉQUENÇAGE DU GÉNOME ENTIER DE JEUNES PATIENTS ATTEINTS D'ÉRYTHROCYTOSES HÉRÉDITAIRES

*Ce projet vise à :*

- Identifier de nouvelles anomalies génétiques chez des patients souffrant d'érythrocytoses héréditaires (EH), et aboutir ainsi à de nouvelles possibilités de diagnostic ;
- Comprendre les mécanismes en jeu dans la survenue de complications liées aux érythrocytoses héréditaires.

*Pour cela, le séquençage de 8 jeunes patients atteints par ces polyglobulies héréditaires a été réalisé en 2018-2020 par le Dr Betty GARDIE.*

**Budget : 24 200 € - Soutien de 9 500 € par la Fondation Kiwanis**

**Réalisation du projet en 2018-2020**

**Les érythrocytoses héréditaires (EH)** sont des maladies hématologiques rares caractérisées par production excessive de globules rouges. L'EH est reconnue chez les jeunes patients (enfants, adolescents). Elle peut être compliquée par des épisodes thromboemboliques ou hémorragiques sévères, de l'hypertension artérielle pulmonaire, et plus rarement, par des tumeurs (hémangiomes, paragangliomes, phéochromocytomes).

8 gènes avaient été mis en évidence dans la survenue des EH. En revanche, dans plus de 80% des cas, aucune anomalie génétique n'était retrouvée, n'autorisant aucun diagnostic ni prise en charge précise aussi bien pour les patients que pour leurs familles. Par conséquent, aucun traitement curatif n'existait.

**Le premier objectif du projet fut d'identifier les mutations responsables des EH afin de permettre un diagnostic et un suivi approprié des patients. Le second objectif était d'identifier et de disséquer les mécanismes moléculaires impliqués dans la survenue des EH et des complications associées.**

La première étape du projet a été de recruter et sélectionner des patients atteints d'EH (François Girodon). Les données de 250 patients ont été collectées.

La seconde étape a été de réaliser un séquençage ciblé de gènes candidats (28 gènes impliqués dans les voies majeures de l'érythrocytose) à l'aide d'un panel de séquençage nouvelle génération (Service de Génétique Moléculaire du CHU de Nantes, Stéphane Bézieau). Une anomalie avait été mise en évidence chez 25% des patients. Il restait donc 75% des cas sans cause connue. De plus, dans un contexte de recherche, la présence d'anomalies dans des régions non codantes de certains gènes avait été mise en évidence. Il était donc important d'élargir les recherches à l'ensemble du génome.

L'objet du projet financé était donc de réaliser le séquençage du génome entier de patients négatifs suite à un premier test diagnostique. Huit patients et apparentés ont ainsi été sélectionnés (24 échantillons).

## 4/ PROJET DU DR BETTY GARDIE

*SUITE*

### Conclusions de la recherche

Le séquençage a mis en évidence un très grand nombre de variants génétiques dans des régions profondes du génome dont la fonction est encore inconnue. Les régions qui entourent les gènes qui sont connus pour être impliqués dans les polyglobulies vont être étudiées de façon plus approfondie. Notamment, certains variants pourraient être impliqués dans des mécanismes de régulation des gènes (expression, épissage, maturation) encore inexplorés et qu'il sera intéressant de mettre à jour.

Ont été mises en évidence des variations du génome qui pourraient être en lien avec la maladie dans un grand nombre de gènes dont la fonction est encore inconnue. De façon très intéressante, une duplication de grande taille est apparue de novo chez un des patients étudiés. Cette région comprend 22 gènes qui se retrouvent donc en trois au lieu de deux exemplaires dans le génome du patient. Aucun de ces gènes n'est encore connu comme étant impliqué dans la fabrication des globules rouges. L'étude plus approfondie de ces nouveaux gènes pourrait donc permettre une avancée majeure dans la compréhension de cette maladie complexe.

Une mise en commun des résultats de séquençage est également prévue avec d'autres collaborateurs européens qui travaillent sur cette pathologie, notamment d'Oxford, afin de cibler les études sur des gènes retrouvés de façon concomitante dans plusieurs études.

### Retombées concrètes de l'étude pour les patients, leurs familles et le personnel médico-social

Cette étude a plus particulièrement mis à jour la complexité de cette pathologie dont l'étude, au vu des gènes impliqués dans des voies biologiques majeurs, pourrait avoir **un impact dans la compréhension et l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques de nombreuses pathologies.**

Grâce à ce projet, **les érythrocytoses héréditaires ont pu être intégrées dans la liste des maladies rares qui seront dorénavant séquencées dans le cadre du Plan France Médecine Génomique (PFMG) 2025**, pour lequel deux plateformes de séquençage très haut débit (STHD) sont désormais opérationnelles. Ces résultats et avancées ont ainsi un impact majeur dans le diagnostic et le suivi clinique des personnes souffrants d'érythrocytoses héréditaires.

Des collaborations ont également pu être mises en place et permettre le dépôt d'un projet auprès de l'Agence Nationale de la Recherche au printemps 2020.

Cette étude a donc permis une avancée majeure avec l'identification potentielle de nouveaux mécanismes de régulation de gènes connus, mais également l'identification de nouveaux gènes potentiellement impliqués dans les érythrocytoses héréditaires.

### Valorisation et communication

Le Dr Betty GARDIE prépare actuellement un article scientifique sur ces résultats. Les associations de patients dans les polyglobulies héréditaires ont bénéficié de la connaissance de ces avancées scientifiques et médicales.

## 5/ PROJET DU DR GUY LENAERS ANGERS



### IDENTIFICATION DE NOUVELLES CAUSES GÉNÉTIQUES DES NEUROPATHIES OPTIQUES HÉRÉDITAIRES (NOH) DU JEUNE ENFANT PAR SÉQUENÇAGE À HAUT DÉBIT.

*Ce projet vise à identifier par les techniques de séquençage à haut débit l'origine génétique des neuropathies optiques héréditaires (NOH) chez 20 patients d'âge inférieur à 12 ans et à initier ensuite la caractérisation des mécanismes responsables de leur perte de vision. Les NOH représentent une forme fréquente de cécité génétique, liée à une dégénérescence des nerfs optiques, nerfs qui transportent l'information visuelle de la rétine au cerveau.*

**Budget : 26 850 € - Soutien de 10 000 € par la Fondation Kiwanis**  
**Réalisation du projet en 2017.**

**Les neuropathies optiques héréditaires (NOH)** se caractérisent par une dégénérescence bilatérale des nerfs optiques. Celle-ci peut entraîner une perte congénitale de la vue chez les enfants. Il ne s'agit pas d'une maladie de l'œil, mais d'un défaut de la transmission des informations de l'œil au cerveau. Les NOH touchent 1 personne sur 10 000 dans le monde. Il n'existe aujourd'hui aucun traitement et la cause génétique reste inconnue chez 50% des malades.

L'équipe du Dr Guy LENAERS a travaillé plus particulièrement sur l'atrophie optique dominante (AOD), qui est une neuropathie optique héréditaire. L'atrophie optique dominante (AOD) ou maladie de Kjer (OMIM n°165500) est une maladie aveuglante des mitochondries qui touche des centaines de milliers de patients à travers le monde.

En recherchant les mutations OPA1, OPA3, WFS1 et ADNmt dans les NOH, un diagnostic génétique est possible pour 50% des cas. **Le projet consistait à chercher l'origine génétique des NOH chez 20 patients d'âge inférieur à 12 ans puis d'initier la caractérisation des mécanismes responsables de leur perte de vision.** L'équipe espérait grâce à ce financement, poursuivre ses efforts, et atteindre une probabilité de diagnostic génétique des NOH de 85% d'ici 3 ans.

L'équipe du Dr Guy LENAERS avait déjà identifié sept nouveaux gènes dans l'atrophie optique dominante. Néanmoins, 35% des patients restaient sans diagnostic génétique.

## 5/ PROJET DU DR GUY LENAERS

### *SUITE*

Avec le soutien du Kiwanis et de la Fondation Maladies Rares, l'équipe a été en mesure d'analyser 30 patients, dont 20 de moins de 12 ans, indexés avec AOD et sans diagnostic génétique. 20 nouveaux gènes candidats à l'AOD ont été identifiés.

L'équipe affine actuellement l'impact de ces nouveaux gènes dans l'AOD.

Pour cela, l'équipe est en discussion sur ces nouveaux gènes avec des collègues internationaux, et souhaite réaliser un séquençage de génome entier sur les 10 patients où aucune mutation n'a été retrouvée.

### Publications

- Charif M, Nasca A, Thompson K, et al. Neurologic Phenotypes Associated With Mutations in RTN4IP1 (OPA10) in Children and Young Adults. *JAMA Neurol.* 2018;75(1):105-113. doi:10.1001/jamaneurol.2017.2065
- Gerber S, Charif M, Chevrollier A, et al. Mutations in DNM1L, as in OPA1, result in dominant optic atrophy despite opposite effects on mitochondrial fusion and fission. *Brain.* 2017;140(10):2586-2596. doi:10.1093/brain/awx219

## 6/ PROJET DU PR STEPHANE BEZIEAU

### NANTES



#### DIAGNOSTIC GÉNÉTIQUE DE CAS DE DÉFICIENCES INTELLECTUELLES SÉVÈRES

*Ce projet vise à mieux comprendre les bases moléculaires de la déficience intellectuelle.*

*Le diagnostic génétique est le point de départ pour initier les recherches sur l'origine de la maladie et envisager des approches thérapeutiques. C'est aussi un élément déterminant dans les conseils à rendre aux familles pour orienter leurs choix de parentalité à venir.*

**Budget : 27 300 € - Soutien de 9200 € par la Fondation Kiwanis**

**Réalisation du projet en 2016.**

La **déficience intellectuelle** touche 1% de la population mondiale, avec une cause génétique dans 2 cas sur 3. Elle représente un symptôme courant dans un grand nombre de maladies neuro-développementales rares souvent dépistées durant l'enfance. Elle peut dans ce cas être associée à des retards de croissance, une dysmorphie, des malformations du système nerveux central, un spectre autistique ou une épilepsie.

La cause génétique de la déficience intellectuelle reste inconnue chez de nombreux malades à l'issue des premiers tests. Il reste de nombreuses mutations à identifier dans des gènes connus, ainsi que de nouveaux gènes responsables à découvrir. Le diagnostic génétique est une étape indispensable afin de proposer un conseil génétique, améliorer la prise en charge et développer de nouveaux médicaments.

L'équipe du Pr Stéphane Bézieau au CHU de Nantes mène de nombreux travaux collaboratifs pour identifier les causes génétiques de ces déficiences intellectuelles rares et sévères. Elle développe notamment depuis 2013, un programme de diagnostic moléculaire qui a déjà permis d'établir une cause génétique chez 50% des jeunes malades suivis et de découvrir de nouveaux gènes responsables chez 20% d'entre eux, dont plusieurs déjà publiés (CHAMP1, PSMD12, GNB1, DHX30, CAMK2A/B). Cependant, environ un tiers des patients sont restés sans diagnostic, aussi cette étude visait à élucider et réduire l'errance diagnostique.

Le projet consistait à chercher par les techniques de séquençage à haut débit du génome entier, l'origine génétique des déficiences intellectuelles chez sept patients pour lesquels les premiers tests n'avaient pas permis de conclure à un diagnostic.

Grâce au financement de ce projet, l'équipe du Pr Bézieau a identifié de nouveaux variants génétiques. Sur les sept patients : un diagnostic a été réalisé et

## 6/ PROJET DU PR STEPHANE BEZIEAU

### SUITE

rendu chez quatre d'entre eux, un diagnostic potentiel atteint pour un des patients, aucune cause identifiée chez deux patients. Compte tenu de ces résultats prometteurs, un nouveau projet a été financé par la Fondation Maladies Rares, permettant le financement de 13 trios supplémentaires d'exomes complets.

### Publications

- Isidor B, Küry S, Rosenfeld JA, et al. De Novo Truncating Mutations in the Kinetochore-Microtubules Attachment Gene CHAMP1 Cause Syndromic Intellectual Disability. *Hum Mutat.* 2016;37(4):354-358. doi:10.1002/humu.22952
- Küry S, Besnard T, Ebstein F, et al. De Novo Disruption of the Proteasome Regulatory Subunit PSMD12 Causes a Syndromic Neurodevelopmental Disorder. *Am J Hum Genet.* 2017;100(4):689. doi:10.1016/j.ajhg.2017.03.003
- Petrovski S, Küry S, Myers CT, et al. Germline De Novo Mutations in GNB1 Cause Severe Neurodevelopmental Disability, Hypotonia, and Seizures. *Am J Hum Genet.* 2016;98(5):1001-1010. doi:10.1016/j.ajhg.2016.03.011
- Küry S, van Woerden GM, Besnard T, et al. De Novo Mutations in Protein Kinase Genes CAMK2A and CAMK2B Cause Intellectual Disability. *Am J Hum Genet.* 2017;101(5):768-788. doi:10.1016/j.ajhg.2017.10.003

## 7/ PROJET DU DR GILLES MILLAT

### LYON



#### CRÉATION D'UN MODÈLE EXPÉRIMENTAL DE FIBROÉLASTOSE ENDOMYOCARDIQUE POUR MIEUX LA DÉTECTER ET LA SOIGNER.

*Ce projet a pour objectif de créer un modèle de fibroélastose endomyocardique chez le poisson-zèbre afin de mieux comprendre la maladie pour ensuite la traiter chez l'enfant. La fibroélastose endomyocardique constitue une cause d'insuffisance cardiaque inexpliquée de l'enfant. Ce projet a pour principal objectif de comprendre les mécanismes physiopathologiques de la maladie. Il vise à confirmer que des mutations génétiques peuvent conduire à des cas de fibroélastose endomyocardique. Ceci permettrait également d'aider au diagnostic prénatal.*

**Budget : 10 120 € - Soutien de 10 120 € par la Fondation Kiwanis**

**Réalisation du projet 2017-2020**

**La fibroélastose endomyocardique** constitue une cause d'insuffisance cardiaque inexpliquée de l'enfant. Elle résulte de l'épaississement diffus de l'endocarde menant à une myocardiopathie dilatée dans la plupart des cas, plus rarement restrictive. Elle peut être primitive ou secondaire à une autre malformation cardiaque, notamment une sténose ou une atrésie aortique. La forme primitive est le plus souvent sporadique mais 10% des cas seraient familiaux, tous les modes de transmission (autosomique dominant, autosomique récessif, lié à l'X) ayant été décrits.

Une étude moléculaire par séquençage NGS d'un panel de 95 gènes impliqués dans la mort subite cardiaque a été réalisée au sein d'une famille dans laquelle deux nourrissons sont décédés après quelques semaines de vie d'un choc cardiogénique. L'autopsie de l'un des deux enfants a permis d'observer la présence d'une fibroélastose cardiaque. Les résultats de l'étude moléculaire ont permis d'identifier à l'état homozygote une mutation tronquante dans le gène PRKAG2.

A ce jour, les mutations PRKAG2, avec une transmission autosomique dominante, sont classiquement rapportées chez des patients avec un phénotype clinique dominé par un syndrome de Wolff-Parkinson-White (trouble du rythme cardiaque qui entraîne des battements cardiaques trop rapides) et une cardiomyopathie hypertrophique.

## 7/ PROJET DU DR GILLES MILLAT

### *SUITE*

Sachant qu'aucun modèle animal porteur d'un gène PRKAG2 invalidé (modèle Knock-Out ou KO) n'a encore été rapporté dans la littérature et que **le modèle poisson-zèbre représente un excellent modèle pour l'exploration du développement et du fonctionnement cardiaque**, le projet du Dr Gilles MILLAT avait pour objectif de :

- 1- Générer, avec l'aide de la plateforme AMAGEN (Animaux Modèles Aquatiques et GENétique), un poisson-zèbre avec une mutation semblable à celle identifiée dans la famille d'intérêt
- 2- Caractériser le modèle généré sur le plan cardiaque (physiologie, morphologie, développement, etc.)

Suite à la fermeture de la plateforme AMAGEN, la genèse du poisson-zèbre mutant a été reprise par un laboratoire de l'Institut de Génomique Fonctionnelle de Montpellier et est toujours en cours. La fin de l'année 2020 devrait permettre de voir apparaître ce modèle qu'il faudra ensuite caractériser.

**Grâce au soutien de la Fondation Maladies Rares et du Kiwanis, les résultats attendus doivent permettre de valider PRKAG2 comme étant un gène morbide dans la fibroélastose endomyocardique et donc mieux appréhender les corrélations entre le génotype et le phénotype.**

## 8/ PROJET DU DR GAËTAN LESCA

### LYON



#### RECHERCHE DE GÈNES IMPLIQUÉS DANS LE SYNDROME DE WEST

*L'objectif de ce projet est d'identifier les gènes impliqués chez des patients atteints d'un syndrome de West dont l'évolution est favorable et sans séquelles. Cette identification permettra d'établir un pronostic neuro-développemental chez des enfants récemment diagnostiqués.*

**Budget : 36 900 € - Soutien de 19 600 € par la Fondation Kiwanis**

**Réalisation du projet 2017-2020**

**Le syndrome de West** est une forme rare et sévère d'épilepsie du nourrisson et de l'enfant avec une prévalence de 1,5 à 2 pour 10 000. Il se déclare généralement entre 4 et 8 mois. IL se caractérise par des contractions musculaires involontaires, une activité cérébrale anormale et une régression du développement psychomoteur. Les causes du syndrome de West sont hétérogènes : acquises et génétiques.

De nombreuses formes d'encéphalopathies épileptiques débutant dans l'enfance, comme le syndrome de West, surviennent le plus souvent de façon isolée, sans antécédent familial. Si l'existence d'antécédents familiaux fait évoquer une origine génétique, son absence ne permet pas pour autant de rejeter cette hypothèse. Différents gènes ont en effet déjà été identifiés dans le syndrome de West. Et la plupart des gènes impliqués sont aussi des gènes responsables de déficiences intellectuelles.

**90 à 95% des nourrissons présentent des séquelles motrices, sensorielles ou mentales à 5 ans.**

**Le projet du Dr Gaëtan LESCA est original car il concerne le tout petit groupe de patients atteints du syndrome de West évoluant favorablement** sans séquelles afin d'identifier les gènes impliqués chez ces patients à l'évolution favorable. L'objectif est de déterminer si certains syndromes de West d'évolution bénigne peuvent être liés à une cause génétique et si les causes sont différentes des syndromes de West classiques afin d'identifier des facteurs pronostiques.

L'ADN de 15 enfants atteints du Syndrome de West d'évolution bénigne et celui de leurs parents asymptomatiques ont été étudiés dans le cadre d'un séquençage d'exome en trio (enfant et parents). A noter que ces ADN avaient déjà été étudiés et excluaient les gènes déjà connus pour causer le syndrome de West avec séquelles. D'où la perspective de découverte de nouveaux gènes. Les données scientifiques obtenues ont été confiées aux bio-informaticiens pour une première analyse.

Les résultats suggèrent **que le syndrome de West d'évolution favorable comporte des déterminants génétiques différents du syndrome de West avec séquelles.**

## 8/ PROJET DU DR GAËTAN LESCA

### *SUITE*

Une nouvelle analyse bio-informatique est en cours sur sept ADN additionnels d'enfants et de leurs parents pour étudier les facteurs de susceptibilité du syndrome de West bénin.

**Grâce au soutien de la Fondation Maladies Rares et du Kiwanis, cette identification permettra d'établir un pronostic neuro-développemental chez des enfants récemment diagnostiqués.**

## 9/ PROJET DU DR JOHANN BÖHM

### STRASBOURG



#### RECHERCHE DE MOLÉCULES ACTIVES SUR UN MODÈLE CELLULAIRE DE MYOPATHIE À AGRÉGATS TUBULAIRES PAR CRIBLAGE À HAUT DÉBIT.

*L'objectif de ce projet est d'étudier et d'identifier, en partenariat avec une plateforme technologique spécialisée dans le criblage, des molécules ayant des propriétés thérapeutiques permettant d'améliorer la qualité de vie des patients atteints de myopathie à agrégats tubulaires.*

**Budget : 25 000 € - Soutien de 16 695,36 € par la Fondation Kiwanis**  
**Projet en cours de finalisation.**

**La myopathie à agrégats tubulaires (TAM)** se caractérise généralement par une faiblesse musculaire progressive, des myalgies, des crampes et une fatigue musculaire induite par l'exercice. Elle peut se manifester au cours de l'enfance, de l'adolescence ou à l'âge adulte. D'origine génétique, elle résulte de la mutation de gènes impliqués dans la régulation du calcium intracellulaire, régulation essentielle à la physiologie musculaire. La perturbation de l'équilibre calcique dans la TAM serait responsable de l'apparition d'agrégats dans les cellules musculaires et de la faiblesse musculaire. Il n'existe aujourd'hui aucun traitement pour la myopathie à agrégats tubulaires.

**Le projet du Dr Johann BÖHM, sélectionné et financé par la Fondation Maladies Rares, a pour objectif d'étudier et d'identifier, en partenariat avec une plateforme technologique spécialisée dans le criblage, des molécules ayant des propriétés thérapeutiques permettant d'améliorer la qualité de vie des patients atteints de myopathie à agrégats tubulaires.**

Le modèle cellulaire mimant la TAM, développé par l'équipe sélectionnée dans le cadre de ce projet, permet de tester des molécules pharmacologiques déjà disponibles sur le marché afin de trouver de nouvelles thérapies. 1200 molécules ont ainsi été testées pour leur capacité à restaurer l'équilibre calcique cellulaire.

**Les résultats bruts sont en cours de confirmation au sein de la plateforme de chimie biologique de Strasbourg et des premières pistes thérapeutiques devraient se dégager d'ici la fin d'année 2020.**

## 10/ PROJET DU DR ANNE DEBANT

### MONTPELLIER



#### DÉVELOPPEMENT D'UN MODÈLE EXPÉRIMENTAL DE RETARD MENTAL DÛ AUX MUTATIONS DANS LE GÈNE TRIO

*Le but du projet financé est de comprendre comment les mutations dans le gène TRIO affectent sa fonction et provoquent un retard mental. L'équipe a pour objectif de développer un modèle murin qui mime le retard mental dû aux mutations dans le gène TRIO, pour mieux comprendre la physiopathologie de la maladie et conduire à long terme à l'identification de cibles thérapeutiques.*

**Budget : 51 175 € - Soutien de 20 125 € par la Fondation Kiwanis**

**Réalisation du projet en 2019-2021.**

**La déficience intellectuelle (DI)** est caractérisée par une hétérogénéité génétique et clinique extrême : plusieurs centaines de gènes responsables ont déjà été identifiés, chacun causant une forme particulière de déficience intellectuelle rare. Des études de séquençage ont récemment identifié plusieurs nouvelles mutations dans le gène Trio chez les patients atteints de troubles du spectre autistique et de déficience intellectuelle.

En effet, l'intégrité de l'activité synaptique est essentielle pour le bon fonctionnement cérébral. Des altérations de la fonction synaptique sont impliquées dans les maladies comme l'autisme et le retard mental. Des données récentes ont révélé de nouvelles mutations qui pourraient altérer la fonction synaptique et participer ainsi au développement de la maladie.

L'équipe du Dr Anne DEBANT à Montpellier travaille sur le gène Trio qui joue un rôle fondamental dans le développement neuronal. Des mutations dans ce gène ont été identifiées chez des patients souffrant d'autisme et de retard mental. Ce projet associe 3 équipes avec des expertises complémentaires:

- Laboratoire du Dr DEBANT, CRBMM, Montpellier (expertise dans la différenciation neuronale);
- Laboratoire du Dr PERROY, IGF, Montpellier (expertise en physiologie des synapses et en études comportementales chez la souris) ;
- Laboratoire du Pr CHELLY, IGBMC, Strasbourg (expertise dans les mécanismes génétiques).

**Ce projet vise à déterminer comment les perturbations de l'activité de Trio provoqueraient une déficience intellectuelle. Ce nouveau modèle murin sera très utile pour mieux comprendre l'étiologie de ces troubles et avoir un impact manifeste sur le conseil génétique aux patients et aux familles.**

Le projet est réalisé en collaboration avec la Clinique de la Souris à Strasbourg. Le projet a pris du retard car le modèle a été difficile à établir. La mutation semble délétère et le fonds génétique a dû être modifié pour stabiliser la lignée. Le phénotypage a commencé en 2020 mais a été interrompu par la pandémie Covid-19. En septembre 2020, la cohorte est en train d'être établie pour pouvoir continuer le phénotypage.

## 11/ PROJET DU DR NICOLAS CHASSAING

### TOULOUSE



#### ANALYSE DE SÉQUENCES RÉGULATRICES DE GÈNES IMPLIQUÉS DANS LES ANOPHTALMIES-MICROPHTALMIES

*Le but de ce projet est de réaliser un séquençage complet du génome chez six patients atteints d'une forme sporadique d'anophtalmies-microphtalmies, avec un diagnostic négatif et dont les parents sont asymptomatiques. Le projet a pour but d'identifier de nouvelles mutations dans des régions régulatrices du génome. Le rôle de ces mutations sera ensuite précisé par des études fonctionnelles permettant d'améliorer les connaissances sur les mécanismes moléculaires impliqués durant l'embryogenèse oculaire.*

**Budget : 19 800 € - Soutien de 10 000 € par la Fondation Kiwanis**

**Réalisation du projet en 2019**

**Les anophtalmies-microphtalmies (AM)** sont des malformations oculaires sévères dont les causes d'origine génétique sont prépondérantes. Les travaux de l'équipe du Dr Nicolas CHASSAING ont permis d'identifier un gène majeur d'anomalies du développement oculaire, PTCH1, et ont participé à l'identification d'autres gènes d'AM de formes isolées ou syndromiques. Ces découvertes sont importantes pour une prise en charge adaptée des patients et de leurs familles et permettent d'introduire de nouvelles hypothèses physiopathologiques pour l'ensemble des malformations oculaires congénitales.

Le but de ce projet est de réaliser un séquençage complet du génome chez six patients atteints d'une forme sporadique d'AM, avec un diagnostic négatif et dont les parents sont asymptomatiques, afin d'identifier de nouvelles mutations dans des régions régulatrices du génome. Le rôle de ces mutations sera ensuite précisé par des études fonctionnelles permettant d'améliorer les connaissances sur les mécanismes moléculaires impliqués durant l'embryogenèse oculaire.

Ce projet associe deux autres équipes avec des expertises complémentaires :

- Laboratoire du Pr CALVAS, CHU de Toulouse (expertise en génétique médicale),
- Institut Imagine à Paris (expertise en analyse de données génomiques).

**Les résultats de ce projet seront très utiles pour mieux comprendre l'étiologie génétique de ces malformations sévères des yeux et améliorer la prise en charge des patients ainsi que le conseil génétique apporté aux familles.**

Ce projet a pris du retard. Pour des raisons administratives, l'équipe n'a pu récupérer les données de séquençage que très récemment. Suite à des changements dans l'équipe projet, ce dernier a également pris du retard.

L'équipe est en train de finaliser un article scientifique sur la description d'un nouveau gène de microphtalmie syndromique, finalisant un autre projet financé précédemment par la Fondation Maladies Rares.

## 12/ PROJET DU DR MICHELE STUDER

### NICE



#### MISE EN ÉVIDENCE DES VOIES GÉNÉTIQUES CONDUISANT À LA PARALYSIE FACIALE CONGÉNITALE HÉRÉDITAIRE ET À LA PERTE AUDITIVE ASSOCIÉE.

*Le projet a pour objectif d'utiliser le séquençage profond de l'ARN (acide nucléique essentiel dans le transport du message génétique et la synthèse des protéines) pour identifier les causes moléculaires à l'œuvre dans la paralysie faciale congénitale.*

**Budget : 27 280 € - Soutien de 15 000 € par la Fondation Kiwanis**

**Réalisation du projet en 2020.**

**La paralysie faciale congénitale** est une affection rare appartenant à la famille des troubles congénitaux de désinnervation crânienne. Elle est classée comme acquise ou en développement, unilatérale ou bilatérale, complète ou incomplète.

La paralysie faciale congénitale héréditaire est perceptible par un dysfonctionnement isolé du nerf facial et caractérisée par la paralysie ou la faiblesse des muscles faciaux. D'autres caractéristiques peuvent inclure une perte auditive, un strabisme, des difficultés d'alimentation et certaines caractéristiques dysmorphiques reconnaissables limitées à la région oro-faciale. Tous les patients présentent une faiblesse faciale bilatérale et des caractéristiques de dysmorphie cranio-faciale qui entraînent des difficultés d'alimentation et des retards de la parole.

HOXB1 est le premier gène identifié dans la paralysie faciale congénitale héréditaire, un trouble de désinnervation crânienne. Les patients présentent une paralysie faciale associée à une perte auditive. Les études de l'équipe du Dr Studer chez la souris montrent que HOXB1 est essentiel au développement des dérivés neuronaux du rhombomère 4 (r4). La perte de HOXB1 reproduit bien les anomalies observées chez les patients, ce qui en fait un modèle animal idéal pour déchiffrer les mécanismes à l'origine de cette maladie complexe.

L'équipe a pour objectif d'utiliser le séquençage profond de l'ARN (acide nucléique essentiel dans le transport du message génétique et la synthèse des protéines) pour identifier les voies et les réseaux moléculaires nécessaires à la spécification des sous-populations r4 et altérées chez les souris et les patients mutants. Une autre technologie, le séquençage des ARN sur cellules uniques permettra d'élucider les voies moléculaires des populations cellulaires individuelles au sein de r4.

**L'étude des voies dérégulées dans les différents types de cellules permettra de clarifier les mécanismes de l'identité cellulaire et les interactions des gènes dans la physiologie du cerveau postérieur et la maladie.**

Le séquençage a été effectué et l'équipe analyse actuellement (septembre 2020) les résultats.

## 13/ PROJET DU DR MIREILLE COSSEE

### MONTPELLIER



ÉVALUATION D'UNE STRATÉGIE DE SÉQUENÇAGE DU GÉNOME ENTIER ET DE L'ARN POUR IDENTIFIER LES BASES MOLÉCULAIRES DES MYOPATHIES ET DES DYSTROPHIES MUSCULAIRES NON RÉSOLUES.

*L'objectif du projet est de recourir à une double approche de séquençage par génome entier et séquençage de l'ARN sur des biopsies musculaires de patients pour améliorer le diagnostic des myopathies et dystrophies musculaires.*

**Budget : 20 300 € - Soutien de 10 000 € par la Fondation Kiwanis**

**Réalisation du projet en 2020-21.**

**Les myopathies et les dystrophies musculaires** sont un ensemble de maladies phénotypiquement et génétiquement hétérogènes, avec plus de 100 gènes identifiés à ce jour.

Les technologies de séquençage de nouvelle génération ont constitué une révolution dans le domaine de la caractérisation moléculaire de ces maladies hétérogènes, car elles ont permis le séquençage, en une seule fois, de tous les gènes actuellement connus. Le séquençage de l'exome entier a fortement amélioré notre capacité à identifier les variants causant de nombreuses maladies mendéliennes dans les gènes nouveaux et connus, ce qui a permis d'identifier avec succès les variants en cause dans 25 à 50 % des cas. Malgré ces progrès, la cause génétique n'est pas identifiée chez plus de la moitié des patients atteints de myopathie ou de dystrophie musculaire.

Des études récentes ont montré que le séquençage du génome total est plus efficace que le séquençage de l'exome car il permet de dépasser l'étape limitante de la capture des séquences. De plus, le génome entier permet le séquençage des régions introniques profondes et régulatrices impliquées dans l'expression des gènes et l'épissage de l'ARN.

L'un des écueils du séquençage du génome entier est le grand nombre de variants de signification inconnue identifiés dans des régions non codantes du génome. Une façon d'interpréter leur impact sur la transcription et l'épissage est d'analyser le transcriptome des tissus affectés par le séquençage de l'ARN. Cette approche est également appropriée pour les variants synonymes qui peuvent affecter le niveau de transcription et/ou l'épissage et pour lesquels les outils de prédiction *in silico* sont limités. Récemment, une double approche de séquençage du génome entier et de l'ARN sur la biopsie musculaire de patients non diagnostiqués a permis d'obtenir un taux de diagnostic supplémentaire de 35%.

**L'équipe du Dr COSSEE souhaite mettre en œuvre cette stratégie et dispose des échantillons et des ressources informatiques nécessaires pour atteindre cet objectif.** Deux familles et un cas sporadique ont été sélectionnés pour cette double approche de séquençage.

En raison de la pandémie de Covid-19, le projet vient de débuter (septembre 2020).