Les mutations “ incidentes ” dans le diagnostic moléculaire de la prédisposition héréditaire aux cancers : nouvel enjeu du séquençage de nouvelle génération

Pierre Macquère

▶ **To cite this version:**

Pierre Macquère. Les mutations “ incidentes ” dans le diagnostic moléculaire de la prédisposition héréditaire aux cancers : nouvel enjeu du séquençage de nouvelle génération. Médecine humaine et pathologie. 2017. dumas-01674947

HAL Id: dumas-01674947

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01674947

Submitted on 3 Jan 2018

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

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

Université de Bordeaux
U.F.R. DES SCIENCES MEDICALES

Année 2017 N°3216

Thèse pour l'obtention du
DIPLÔME d'ÉTAT de DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement

Par M. **Pierre MACQUÈRE**

Né le 12 juin 1984 à Rennes

Le 1er décembre 2017 à Bordeaux

Les mutations « incidentes » dans le diagnostic moléculaire de la prédisposition héréditaire aux cancers. Nouvel enjeu du séquençage de nouvelle génération

Directeur de thèse :
Professeur Nicolas SEVENET

Jury :

Pr François-Xavier MAHON, PU-PH, INSERM U1218, Institut Bergonié	Président
Dr Julie TINAT, oncogénéticienne, CHU de Bordeaux	Membre
Pr Jean-Philippe MERLIO, PU-PH, INSERM U1053, CHU et Université de Bordeaux	Membre
Pr François MOREAU-GAUDRY, PU-PH, INSERM U1035, CHU et Université de Bordeaux	Membre
Pr Nicolas SEVENET, PU-PH, INSERM U1218, Institut Bergonié	Directeur

REMERCIEMENTS

Mes remerciements vont en premier lieu au Professeur Nicolas Sevenet qui me fait l'honneur de diriger mon travail de thèse. Votre accueil chaleureux au sein du laboratoire d'Oncogénétique de l'Institut Bergonié a été grandement apprécié, tout comme la qualité de votre pédagogie et votre disponibilité pour répondre à mes interrogations au cours de mon mémoire. La rigueur de votre enseignement et de votre démarche clinico-biologique seront une source d'inspiration dans mon métier d'oncogénéticien. Je vous exprime ici toute ma reconnaissance.

Je tiens à remercier le Professeur François-Xavier Mahon, Directeur de l'Institut Bergonié qui me fait l'insigne honneur de présider mon jury de thèse, je lui en suis reconnaissant.

Je remercie tout particulièrement le Docteur Julie Tinat qui a accepté d'être rapporteur de ma thèse. Soyez remerciée d'avoir accepté de juger mon travail.

Merci également aux Professeurs Jean-Philippe Merlio et François Moreau-Gaudry qui me font également l'honneur de juger mon travail en qualité de membre du jury.

Je remercie très chaleureusement toute l'équipe du service d'Oncogénétique de l'Institut Bergonié. Merci Monsieur Longy pour votre accueil dans ce service, pour votre gentillesse et votre disponibilité, pour vos enseignements, le partage de vos réflexions en oncogénétique et votre relecture de mon manuscrit de thèse notamment. Merci aux biologistes Nicolas, Virginie et Emmanuelle, merci aux deux ingénieuses ingénieures Françoise et Natalie, merci à Jennifer notre bio-informaticienne, merci aux conseillères en génétique Églantine et Maud, merci aux assistantes médicales Florence, Elisabeth et Fadela. Et bien évidemment merci à l'ensemble des techniciens toujours disponibles, avec le sourire et redoutablement efficaces : Bernadette, Delphine, Gaëlle, Loren, Jérémie et merci à notre cadre de santé Karine. Tous ensemble, vous formez un service à l'atmosphère rare, à la fois de travail, de sérénité et de gentillesse. C'était un plaisir et un honneur d'être interne dans votre service. Soyez tous remerciés.

Papa, je te dédie ma thèse. Avec maman, tu as m'as montré la voie à suivre : celle de l'amour d'un père et de l'amour de ton métier de médecin. Ton exemple semble si difficile à reproduire, je mesure le privilège d'être ton fils et l'humilité devant ce que je dois accomplir

pour suivre tes pas. Merci de m'avoir fait découvrir la biologie médicale dès mon stage de 3ème, je me souviens encore parfaitement du cas de *Plasmodium falciparum* au laboratoire du Centre Hospitalier du Pratel, un événement chez nous à Auray ! Ne sois pas inquiet pour moi papa, je vais devenir biologiste. J'espère que tu serais fier de moi aujourd'hui. Ton absence est douloureuse au quotidien et particulièrement en ce moment si singulier de ma vie que j'attendais depuis mon entrée en médecine et que je voulais partager avec toi... Merci de veiller sur nous de là-haut…

Maman, merci pour ton amour et ton soutien inconditionnel. Avec papa, tu nous as donné le goût de l'effort. Repasser brillamment l'internat à 50 ans après 15 ans d'interruption d'exercice de la médecine pour nous élever Claire, Solène et moi, quelle force et quel exemple de courage tu nous as donné ! Ta tendresse et tes mots toujours bienveillants sont source d'un profond réconfort. Merci, il y a 17 ans, de m'avoir offert et fait dédicacer « à Pierre mon confrère » ce livre « Et l'Homme dans tout ça » d'Axel Kahn, qui prend une saveur particulière pour moi aujourd'hui. Je ne concevais pas de présenter ma thèse sans toi, merci de m'entourer en cet instant si spécial. Et dès demain, tant de projets de vie nous attendent, je serai à tes côtés.

Claire, Rémi, Paul et Elisabeth, merci pour votre amour, votre soutien et pour la bulle d'oxygène non médicale de la famille ! La famille, c'est sacré, vous me manquez si loin de moi…

Solène, Pierre-Julien, Pierre-Alexis et le petit Pierre-X, merci également pour votre amour, votre soutien et pour tous ces moments privilégiés partagés en famille à Bordeaux où j'ai la chance d'avoir vu grandir semaine après semaine mon petit neveu. Solène, bientôt ce sera à ton tour, j'attends déjà ce moment qui sera une fête.

Cynthia, nous en avons traversé des aventures ensemble... Tant de larmes de joies et de tristesses ces quatre dernières années. Merci d'être toujours présente et de croire en moi. Merci d'être ce phare qui m'éclaire même dans la nuit, moi le petit marin Breton. Merci aussi pour tes avis toujours pertinents et ton cœur sur la main. Tu m'es véritablement précieuse.

Merci également à mes amis en or, si compréhensifs depuis plus de dix ans, qui n'imaginent pas que je puisse perdre mon statut d'étudiant ! Rassurez-vous, je le serai encore l'année prochaine, je suis inscrit à un DIU d'oncogénétique pour approfondir cette belle discipline. Florian, je suis sûr qu'on va tout « casser » avec notre projet. Arnaud, nous

retournerons à New York. Niels, je serai enfin disponible pour des sessions de karting, prépare-toi ! Antoine et Alexandra, je crois qu'on va vivre une expérience vraiment increDEALble très prochainement. Charles, nous rirons ensemble à nouveau demain, c'est promis ! Adrien, mon Poussin, merci pour tous ces moments de partage durant notre internat ! Je n'ai pas encore eu le temps de me mettre au golf mais je n'ai pas vraiment mauvaise conscience car j'imagine que tu ne fais pas davantage de voile que moi de golf ! Guiral, nous allons littéralement tirer une croix sur notre projet et la release tombe le dernier jour de mon internat, ça ne peut pas être une coïncidence ! Elise, crois en tes projets et tes rêves, je te soutiendrai de tout mon cœur.

Mamie, Alain, Mady et avant Simone et Marcel, merci du haut de votre expérience et de votre sagesse de me montrer la voie, avec amour.

Je tiens également à remercier le Père Patrick Langue pour mes années de travail et de fraternité passées au 12 rue d'Assas pendant mon externat. J'y ai travaillé avec application et ai rencontré des confrères devenus des amis. Soyez en remercié mon Père.

Mes remerciements ne seraient pas complets sans citer le Professeur Max Gottesmann qui m'a offert le privilège de travailler pendant 7 mois dans son laboratoire au sein du prestigieux Columbia University Medical Center à New York. Vous m'avez offert une des périodes les plus incroyables de ma vie, je vous en suis pleinement reconnaissant. Merci à toi, Herr Martin, pour cette amitié née autour d'une paillasse à Manhattan et merci à vous, Web and Sarge pour votre gentillesse, pour m'avoir accueilli et fait aimer New York !

Merci à l'ensemble des biologistes rencontrés au cours de mes différents stages et qui, par compagnonnage, m'ont transmis une part de leur savoir et de leur attrait pour la biologie médicale.

Merci à vous, mes cointernes adorés, qui ont permis d'allier l'intérêt pédagogique au plaisir de venir en stage tous les matins. Je pense bien évidemment à Adrien, Murielle, Simon, Marine, Célia, Barnabé, Hugo, Nitesh, Frantz et la petite Julie.

Merci enfin à tous les membres de bonne volonté des laboratoires qui transmettent leur savoir pratique et m'ont bien souvent aidé ! Je vous en suis reconnaissant. Un merci appuyé à vous Thomas, Élodie, Mélanie, Larry, Charlotte, Valérie, Claudio, Ludovic, Hervé, Gaëlle, Fabian et le trio infernal Jean-Claude, Kamal et Mimi, entre autres. Vous avez apporté de la compétence et de la joie au cours de mes différents stages et je vous en remercie vivement.

Enfin, un merci particulièrement prononcé à l'ensemble des équipes de Haut-Lévêque où j'ai eu le plaisir de faire mes gardes pendant plus de 2 ans.

ABRÉVIATIONS

ADN : Acide DésoxyRiboNucléique
BRCA1 et ***BRCA2*** : Breast Cancer susceptibility gene 1 et 2.
CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer
HBOC : Hereditary Breast and Ovarian Cancer (Syndrome Seins-Ovaires héréditaire)
HNPCC : Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer (Cancer colorectal héréditaire sans polypose)
IB : Institut Bergonié
HAS : Haute Autorité de Santé
IC : Intervalle de confiance
INCa : Institut National du Cancer
MI : Mutation incidente
MMR : MisMatch Repair
NCBI : National Center for Biotechnology Information
NGS : Nouvelle Génération de Séquençage (New Generation of Sequencing)
NHEJ : Non Homologous End-Joining (Jonction d'extrémités non homologues)
NM : Natural mRNA. Correspond à la séquence de référence de l'ARNm dont le numéro figure après cet acronyme.
OR : Odds ratio
PARP : Poly(ADP-ribose) Polymérase
PCR : Polymerase Chain Reaction
RR : Risque Relatif
SNP : Single Nucleotide Polymorphism (Polymorphisme d'un seul nucleotide)
WT : Wild-type (sauvage)

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ **11**
INTRODUCTION **13**
I – GÉNÉRALITÉS **15**
I.1 - ONCOGÉNÉTIQUE 15
I.2 - TUMORIGÉNÈSE MOLÉCULAIRE 18
I.2.1 Cycle cellulaire 18
I.2.2 Oncogènes 20
I.2.3 Gènes suppresseurs de tumeurs 21
I.2.4 Gènes réparateurs de l'ADN 22
I.3 - CANCER DU SEIN ET DE L'OVAIRE 23
I.3.1 Epidémiologie 23
I.3.2 Facteurs de risques 23
I.3.3 Formes héréditaires du cancer du sein et de l'ovaire : le syndrome Seins-Ovaires 29
I.4 - SYNDROME DE LYNCH 47
I.4.1 Epidémiologie 47
I.4.2 Clinique 47
I.4.3 Prédisposition héréditaire 48
I.5 - SYNDROME DE GORLIN 52
I.5.1 Epidémiologie 52
I.5.2 Clinique 52
I.5.3 Prédisposition héréditaire 55
I.6 - SYNDROME DE COWDEN 59
I.6.1 Epidémiologie 59
I.6.2 Clinique 59
I.6.3 Prédisposition héréditaire 62
II – L'ÉTUDE **65**
II.1 - OBJECTIF 65
II.2 - MATÉRIEL ET MÉTHODES 65
II.2.1 Population étudiée 65

II.2.2 Évaluation du phénotype personnel et familial : modélisation du risque du cancer du sein et de l'ovaire 66
II.2.3 Recherche des anomalies génétiques 71
II.2.4 Séquençage 71
II.2.5 Analyse des réarrangements de grande taille 74
II.2.6 Panel de gènes utilisés 75
II.2.7 Classification des variants 78
II.2.8 Analyses statistiques 79
II.3 - RÉSULTATS 80
II.3.1 Population étudiée 80
II.3.2 Mutations détectées 81
II.3.3 Détection des mutations syndromiques par indication 82
II.3.4 Détection des mutations incidentes 82
II.4 - DISCUSSION 99
II.4.1 Syndrome HBOC 99
II.4.2 Syndrome de Lynch 105
II.4.3 Syndrome de Gorlin 105
II.4.4 Syndrome de Cowden 108
II.4.5 Limites de l'étude 109
CONCLUSION 111
MOTS-CLÉS 113
BIBLIOGRAPHIE 115
LISTE DES TABLEAUX 127
LISTE DES FIGURES 129
ANNEXES 131

RÉSUMÉ

INTRODUCTION Dans les agrégations familiales de cancers du sein et de l'ovaire, une mutation des gènes majeurs de prédisposition héréditaire *BRCA* est retrouvée dans environ 15 % des cas. La technique NGS en panel de gènes a conduit à étudier dans une même indication un plus grand nombre de gènes de prédisposition aux tumeurs dont certains non impliqués a priori dans l'indication recherchée. Au décours du diagnostic moléculaire, plusieurs variants incidents peuvent être caractérisés. Le but de cette étude est de déterminer si la détection de ces variants est corrélée avec l'indication du criblage d'une part et le phénotype familial, évalué par le score de Manchester, d'autre part.

MATÉRIELS ET MÉTHODES Étude rétrospective de 2013 à 2015 sur 1819 patients consécutivement criblés à L'Institut Bergonié pour suspicion de cancer héréditaire du sein et/ou de l'ovaire, syndrome de Cowden, syndrome de Gorlin et syndrome de Lynch. Les patients criblés pour une indication servaient de contrôle les uns aux autres. Le panel de gènes criblés comprend 25 gènes capturés (Sureselect XT Agilent) et séquencés (MiSeq (Illumina™) : *APC, ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, MLH1, MRE11A, MSH2/EPCAM, MSH6, MUTYH, PALB2, PIK3CA, PMS2, PTCH1, PTCH2, PTEN, RAD50, RAD51C, STK11, SUFU* et *TP53*. Toute mutation délétère était confirmée par séquençage Sanger. Le phénotype familial a pu être décrit chez 917 patients criblés à l'Institut Bergonié pour suspicion de syndrome héréditaire sein-ovaire au moyen du score de Manchester.

RÉSULTATS Au total, dans le syndrome héréditaire sein-ovaire, des mutations délétères de *BRCA1/2* ont été caractérisées dans 14,4 % des cas, soit 187 mutations et une mutation incidente dans 6,25 %, soit 81 mutations. La fréquence des mutations délétères de *PALB2* et d'*ATM* est significativement plus importante dans le groupe étudié que dans le groupe témoin, respectivement de 1,2 vs 0,0 % (p=0,01) et de 1,9 vs 0,4 % (p=0,02). L'odds ratio pour *ATM* est de 4,92 ($IC_{95\%}$ = [1,16 ; 20,89]). Les mutations de *PALB2* et d'*ATM* ne sont pas strictement exclusives des mutations *BRCA1/2* puisque 4 patients mutés *BRCA* présentent une mutation de d'*ATM* et 1 patient muté *BRCA* de *PALB2*. Concernant les phénotypes familiaux, un score de Manchester élevé est corrélé à une détection augmentée du taux de

mutations de *BRCA* mais pas de *PALB2* ni d'*ATM*. Une association significative entre les mutations incidentes d'*ATM* et une histoire familiale de cancers du pancréas a pu être mise en évidence. En ce qui concerne les syndromes de Cowden, de Gorlin et de Lynch, il n'a pas été mis en évidence de mutations d'incidences spécifiques avec le panel de gènes utilisé.

CONCLUSION Ces résultats sont cohérents avec les données publiées. Du fait de la fréquence observée de mutations incidentes délétères de *PALB2*, de sa pénétrance et de son odds ratio élevés, *PALB2* doit être considéré comme un gène de susceptibilité aux cancers héréditaires du sein et de l'ovaire et il est justifié de l'analyser désormais en pratique clinique. *ATM*, dont les mutations incidentes ne sont pas exclusives des mutations de *BRCA,* apparaît comme statistiquement associé aux cancers du sein mais son odds ratio et sa pénétrance inférieures à ceux observés pour *PALB2* ne permettent pas de le considérer comme un gène de susceptibilité aux cancers du sein conditionnant une prise en charge médicale spécifique. D'autres études sur une plus large population restent à mener afin de détecter des facteurs prédictifs des mutations dans ces gènes. Elles pourraient également permettre, avec une puissance accrue, de mettre en évidence une association statistiquement significative pour d'autres gènes, comme *CHEK2* ainsi que pour obtenir d'autres odds ratios afin d'évaluer les risques tumoraux de ces mutations, pour, in fine, envisager de rendre les mutations incidentes de ces gènes dans les résultats d'analyses de recherches premières.

INTRODUCTION

Le cancer est un problème majeur de santé publique qui touche la planète entière. L'Agence Internationale pour la Recherche sur le Cancer a ainsi dénombré en 2012 plus de 14 millions de nouveaux cas pour plus de 8,2 millions de décès et 32,6 millions de personnes vivant avec un cancer dans le monde. L'impact de cette maladie sur la santé physique et mentale des patients et des aidants ainsi que sur les coûts de prévention, de dépistage, de diagnostic, de traitement et de suivi est considérable. Le cancer est une maladie toujours génétique mais rarement héréditaire. Depuis très longtemps, l'implication de facteurs constitutionnels a été suspectée chez certains patients. En effet, dès la fin du XIX^{e} siècle, Paul Broca rapporte le cas d'une famille comportant de nombreux cas de cancers dans son Traité des tumeurs. Aujourd'hui, on estime que parmi l'ensemble des cancers, environ 5 % sont liés à des prédispositions génétiques, présentes dès la naissance et transmissibles aux générations suivantes. Du fait à la fois des risques tumoraux liés à la prédisposition mais aussi des stratégies thérapeutiques et de suivis spécifiques qui peuvent être mises en place dans certaines situations, il convient d'être particulièrement vigilant à bien orienter vers les services d'oncogénétique tous les patients susceptibles de présenter une prédisposition héréditaire. Parmi les cancers à trait héréditaire, le contingent le plus important est représenté par les cancers du sein et de l'ovaire, suivi des pathologies digestives.

Le développement des technologies de laboratoires et en particulier du séquençage dit « de Nouvelle Génération » a permis d'accompagner l'essor de l'oncogénétique en augmentant les capacités d'analyse et en réduisant les délais de rendu des résultats. Mais, en augmentant aussi le nombre de gènes et d'exons étudiés, le NGS pose la question de l'impact des mutations découvertes fortuitement. Ces mutations, appelées « mutations incidentes », peuvent poser un problème tant diagnostic et thérapeutique aujourd'hui que possiblement éthique à l'avenir. Il convient désormais de donner une signification à ces mutations en analysant de grandes séries de patients. Ce travail de thèse, réalisé au sein du Centre de Lutte Contre le Cancer d'Aquitaine – Institut Bergonié à Bordeaux, s'inscrit dans cette optique. L'Institut Bergonié est passé en 2012 de la méthode se séquençage EMMA (Enhanced Mismatch Mutation Analysis) au séquençage dit de nouvelle génération. Grâce à cette technologie, en plus des gènes diagnostics explorés au sein de l'Institut, il a été possible d'intégrer d'autres gènes dans un plus vaste panel de criblage. Ces autres gènes,

connus ou supposés être impliqués dans d'autres syndromes tumoraux que ceux criblés à l'Institut Bergonié, ont été ajoutés en se référant à l'étude de Mary-Claire King qui proposa un tel panel en 2010 : le BROCA set (1). Depuis, quelle que soit l'indication du criblage, le patient bénéficie non seulement d'une étude des gènes diagnostics mais également de ces autres gènes que la technologie NGS offre au laboratoire. Il en découle alors la mise en évidence d'un certain nombre de mutations incidentes, a priori sans rapport avec la pathologie étudiée mais qu'il convient d'analyser. Du fait de leur nombre limité en valeur absolue par gène, seule une étude portant sur un grand nombre de patients peut apporter une significativité statistique permettant de tirer certaines conclusions. Dans ce travail, il s'agit d'une étude rétrospective portant sur la période allant de mars 2013 à décembre 2015 au cours de laquelle des examens de séquençage génétique ont été prescrits à des patients lors de consultations d'oncogénétique. L'Institut Bergonié prend en charge les bilans de criblage moléculaire dans quatre indications principales : les cancers du sein et de l'ovaire, le syndrome de Lynch, de Gorlin et de Cowden. Les mutations incidentes détectées dans ces quatre indications ont été analysées et caractérisées. L'objectif de cette étude était de chercher à savoir si les mutations incidentes retrouvées étaient spécifiques de l'indication du séquençage et, dans ce cas, si elles pouvaient être corrélées au phénotype tumoral familial. Cela pourrait permettre de mieux appréhender le cancer du patient dans une approche plus personnelle, tant diagnostique aujourd'hui que thérapeutique à l'avenir.

I – GENERALITES

I.1 - ONCOGÉNÉTIQUE

L'oncogénétique est une discipline clinico-biologique récente dont l'objectif est l'évaluation et la prise en charge du risque familial de cancers. Alors que son action était tournée vers le dépistage et la prévention, l'oncogénétique devient de plus en plus impliquée dans la personnalisation du traitement anticancéreux avec l'avènement de thérapies ciblées et dans l'ajustement des indications des traitements conventionnels.

Afin de lutter contre le cancer et d'améliorer la prise en charge des patients atteints, la France a lancé en 2003 un premier plan de lutte mobilisant tous les acteurs autour de la prévention, du dépistage, des soins, de la recherche et de l'accompagnement du patient et de ses proches. Ainsi est né le « Plan Cancer 2003-2007 », qui sera renouvelé deux fois. Le « Plan Cancer 2009-2013 » donnait la part belle à la lutte contre les inégalités face à la maladie, à l'amélioration et à la coordination et des soins ainsi qu'à la recherche. Le 3e Plan Cancer « 2014-2019 » a pour ambition de donner à chaque Français les mêmes chances de guérir et de mettre plus rapidement encore les innovations au service des malades. Il comprend 17 objectifs répartis autour de quatre grandes priorités de Santé : guérir plus de personnes malades, préserver la continuité et la qualité de vie, investir dans la prévention et la recherche et optimiser le pilotage et les organisations. Cette thèse s'inscrit dans le 6ème objectif intitulé « Conforter l'avance de la France dans la médecine personnalisée » et plus particulièrement dans l'action 6.1 : « Faire évoluer le dispositif d'oncogénétique et améliorer son accès ».

Le diagnostic des prédispositions aux cancers est réalisé dans le cadre du dispositif national d'oncogénétique, financé par la Direction Générale de l'Offre de soins et piloté par l'Institut National du Cancer. En France, ce diagnostic repose sur 139 sites de consultation répartis entre 94 villes sur l'ensemble du territoire métropolitain et ultramarin.(2) 25 laboratoires réalisent les tests génétiques prescrits lors de ces consultations. Il s'agit d'un système en évolution permanente du fait l'augmentation continue de l'activité. Par exemple, simplement entre 2014 et 2015, le nombre de consultations d'oncogénétiques est passé de 56 897 à 63 168, soit une augmentation d'environ 12 % sur une seule année. Ce nombre correspond à l'ensemble des consultations réalisées, c'est-à-dire regroupant les

consultations pour un cas index, un apparenté, d'éventuelles consultations durant le déroulement du test génétique ainsi que les consultations de rendu des résultats. Ce nombre a même quasiment doublé depuis 2009 (33 868 versus 63 168). Le rôle de ces consultations est de recueillir les informations médicales, de reconstituer l'histoire personnelle et familiale, de construire l'arbre généalogique de la famille, d'estimer la probabilité de prédisposition et, au regard de tous ces éléments, de prescrire ou non un test génétique. Dans la majorité des cas (71 %), les consultations sont dédiées au syndrome seins-ovaires. Le second contingent est celui des pathologies digestives, représentant 18 % des consultations. Côté laboratoires, la tendance est par ricochet à la hausse avec plus de 19% d'augmentation de cas index testés (24 706 en 2015 versus 20 845 en 2014). Outre le nombre de consultations en constante augmentation, la généralisation du Séquençage de Nouvelle Génération à visée diagnostique par tous les laboratoires a substantiellement accru la capacité d'analyse.

Les règles de bonnes pratiques en génétique constitutionnelle à des fins médicales, élaborées par la HAS (Haute Autorité de Santé) et l'Agence de Biomédecine, exigent un consentement écrit du patient préalablement à tout examen de génétique constitutionnelle. Celui-ci doit être libre, éclairé, spécial et révocable à tout moment. Désormais, dans les faits, d'autres items sont ajoutés à ce formulaire. En particulier l'autorisation à visée de recherche mais aussi l'acceptation ou non d'être tenu informé de la mise en évidence des mutations incidentes : « je souhaite être tenu informé de la mise en évidence d'une « mutation incidente » sans rapport avec ma pathologie : oui / non ». (Consentement en Annexe 1)

Jusqu'à récemment, le séquençage de type Sanger permettait aux laboratoires de rechercher une mutation dans un nombre très restreint d'exons car la réalisation était coûteuse financièrement et en temps technique. Le NGS, aujourd'hui, permet une recherche sur un panel de plusieurs gènes, un exome voire même un génome entier. Les gènes majeurs de la pathologie incriminée sont alors étudiés mais aussi d'autres gènes connus ou supposés être des gènes de prédispositions aux cancers. En une seule analyse, les données obtenues sont considérablement accrues par rapport à la méthode Sanger et permettent désormais de couvrir des zones jusqu'alors inexplorées. Il en découle donc, statistiquement, des découvertes de mutations dans ces zones.

Le NGS constitue donc une avancée technologique considérable, dont il convient de maîtriser les informations mutationnelles obtenues au niveau constitutionnel. Il permet au

clinicien une approche exhaustive de la recherche d'anomalies moléculaires pour toute forme familiale de cancer, quel que soit le nombre de gènes impliqués. La description de mutations délétères dans des gènes autres que *BRCA1* et *BRCA2* pour les formes familiales de cancer du sein et de l'ovaire nécessite leur intégration dans des bases de données nationales et internationales collectant les résultats de ces analyses. Elle requiert également la mise en place de groupes nationaux et internationaux pluridisciplinaires à même de conduire des études épidémiologiques permettant d'appréhender les risques tumoraux liés à la présence d'une mutation touchant les nouveaux gènes de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire. Une démarche concertée pourra alors être définie et des recommandations de prise en charge rédigées.

I.2 - TUMORIGÉNÈSE MOLÉCULAIRE

Notre organisme est composé d'environ cinq mille milliards de cellules réparties dans plus de 200 types cellulaires qui composent nos différents tissus. La prolifération cellulaire doit donc être parfaitement régulée tout au long de notre vie afin d'assurer le remplacement continu de l'ensemble des cellules de l'organisme et à des fréquences variables selon les tissus. Cette homéostasie du cycle cellulaire est assurée par différents mécanismes antagonistes activateurs et inhibiteurs. Lors d'un processus tumoral, il y a un déséquilibre de cette balance dans le sens de la prolifération cellulaire et la cellule cancéreuse acquière alors un ensemble de caractéristiques la rendant indépendante de son environnement. Ces caractéristiques sont résumées dans la Figure 1, publiée en 2011. (3)

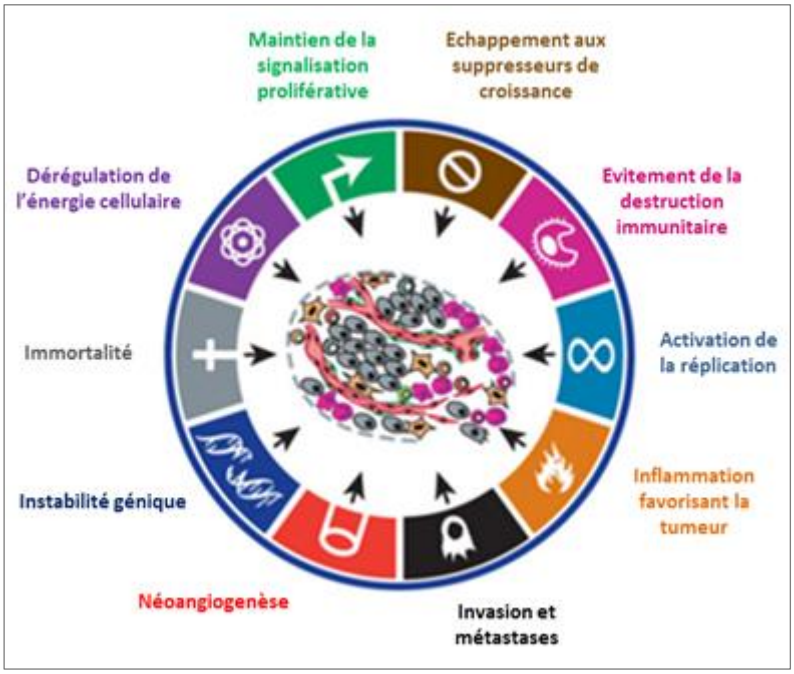


Figure 1 : Caractéristiques des cellules tumorales. D'après (3)

I.2.1 Cycle cellulaire

Le cycle cellulaire est un phénomène universel permettant la division et la réplication cellulaire, permettant ainsi la croissance de l'individu. Un cycle cellulaire est un ensemble d'étapes réalisées avec une chronologie précise et immuable. Le cycle se compose classiquement de deux étapes : la mitose et l'interphase. La mitose est la division cellulaire d'une cellule en deux cellules filles identiques. L'interphase est la phase de croissance

cellulaire et peut se décomposer en 3 phases : G1, S et G2. Comme indiqué sur la Figure 2, les quatre phases successives sont G1, S, G2 et M. La phase S (pour Synthèse) est la phase de réplication de l'ADN. Elle est précédée par la phase de préparation à la phase S : G1 (Gap 1). Après réplication, la cellule se prépare alors (Phase G2) à la mitose (phase M). Il existe également une phase de quiescence (Phase G zéro), généralement après la phase mitotique, lorsque la cellule n'est pas engagée dans un cycle cellulaire. Elle pourra alors quitter cet état par la suite pour retourner dans le cycle cellulaire en phase G1.

Le passage d'une phase à la suivante ne peut s'effectuer que si l'étape en cours de déroule sans encombre. Il existe en effet en fin de phase des points de vérifications (« checkpoints ») qui sont des sortes de « contrôles de qualité » interne à la cellule. Ils autorisent le passage à la phase suivante si le processus s'est déroulé correctement mais peuvent également bloquer le cycle cellulaire en cas d'anomalie détectée. C'est pourquoi la compréhension du cycle cellulaire est importante dans la genèse des cancers, définie comme prolifération de cellules immortelles.

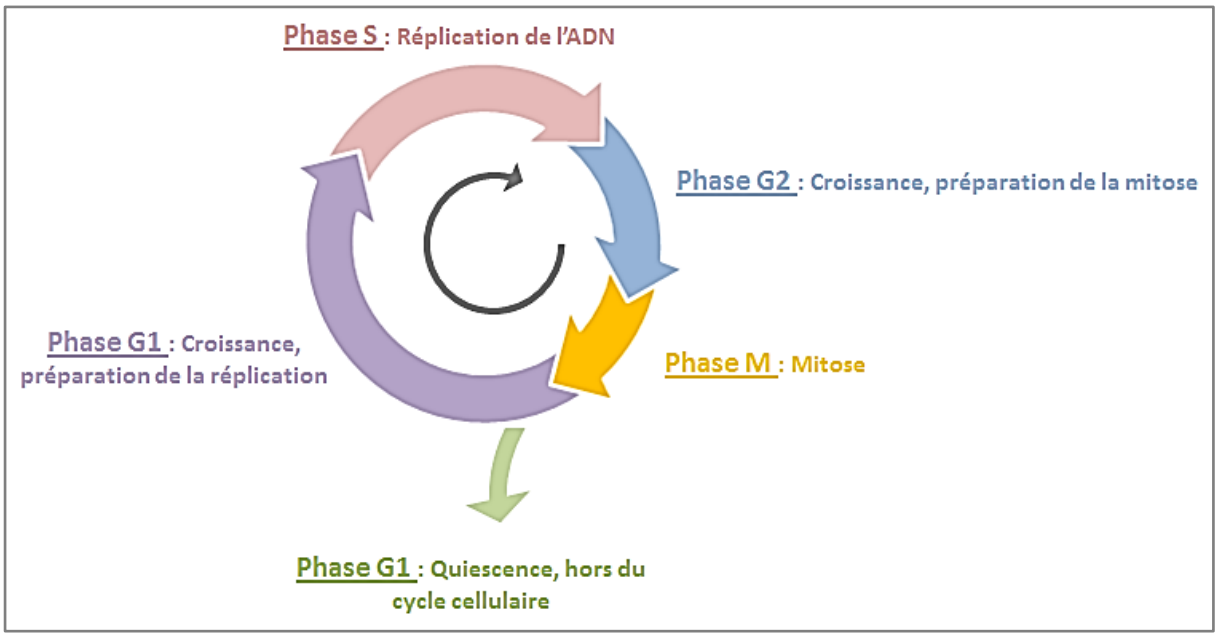


Figure 2 : Cycle cellulaire. D'après (4)

Il existe trois grandes catégories de gènes associés aux pathologies cancéreuses : les oncogènes, les gènes suppresseurs de tumeurs et les gènes de réparation de l'ADN.

I.2.2 Oncogènes

Un oncogène est un gène cellulaire capable de conférer à une cellule eucaryote normale un phénotype cancéreux. Les oncogènes sont répartis en six classes selon la fonction de la protéine qu'ils codent : facteurs de croissance, récepteurs transmembranaires de facteurs de croissance, protéines G, tyrosines kinases membranaires, protéines kinases cytosoliques et protéines à activité nucléaire. Le premier oncogène a été décrit en 1976 chez le poulet. Il s'agissait d'une mutation du gène *Src*. La séquence incriminée, inoculée par un virus et appelée v-onc, dont la présence n'était pas requise pour la réplication virale mais qui était à elle seule responsable de la capacité du virus RSV (pour Virus du Sarcome de Roux) à induire des tumeurs, était en réalité un gène cellulaire acquis durant la réplication du virus dans une cellule de l'hôte et réinjectée dans les nouvelles cellules qu'ils infectent, sous son contrôle. (5) Cette découverte valut d'ailleurs à ses auteurs le Prix Nobel de Médecine en 1989. L'analyse de ces rétrovirus a permis d'isoler de nombreux v-onc et, in fine, leurs équivalents humains.

Un oncogène est donc un gène dont l'expression favorise la transformation cancéreuse. Plusieurs mécanismes peuvent être à l'origine d'un tel phénomène. L'intégration virale en est un. Dans l'exemple d'HTLV I ou II, le virus s'insère au hasard dans le génome humain et possède et active ses propres séquences activatrices. Les mutations ponctuelles peuvent également activer le processus tumoral en créant une modification fonctionnelle de l'oncoprotéine en touchant notamment le site impliqué dans la régulation. C'est le cas de mutations faux sens du gène *HRas* qui, sous sa forme sauvage, stimule la multiplication cellulaire uniquement lorsqu'il reçoit le signal alors que sous sa forme mutée, la multiplication est indépendante de tout signal. Par ailleurs, des délétions peuvent parfois entrainer une activation anormale si elles touchent une région régulatrice. L'amplification génique aboutit à un nombre anormalement élevé de copies du gène et donc à une augmentation de son expression à l'origine d'une activation continue de la voie de signalisation impliquée. C'est le cas en particulier de l'amplification du gène *ERBB2*, fréquente dans les cancers du sein. Enfin, les réarrangements structuraux chromosomiques peuvent induire la formation de gènes hybrides.

Dans le cas d'un oncogène, l'atteinte d'un seul allèle est suffisante pour engendrer l'activation anormale.

I.2.3 Gènes suppresseurs de tumeurs

Les gènes suppresseurs de tumeurs agissent à l'état physiologique soit en inhibant les mécanismes qui favorisent l'oncogenèse, soit en activant des mécanismes qui empêchent l'oncogenèse. Ce sont donc des régulateurs négatifs du cycle cellulaire et de facto de la prolifération cellulaire qui peuvent également induire l'apoptose. Dans une cellule cancéreuse, les gènes suppresseurs de tumeur perdent leur fonction, que ce soit par délétion d'une région chromosomique par exemple ou bien par mutation ponctuelle altérant sa fonction. Leur action cellulaire est récessive, c'est-à-dire que l'altération des 2 allèles est nécessaire à l'obtention d'une perte d'activité. L'identification du premier gène de tumeur, *RB1*, a eu lieu en 1987. Il s'agit d'un gène impliqué dans le rétinoblastome, tumeur rare de l'œil chez l'enfant. Dans ce cas, l'inactivation des 2 allèles engendrait la transformation tumorale des neuroblastes de la rétine du jeune enfant. Cette découverte a ouvert de nouveaux horizons à la génétique des cancers. Par la suite, d'autres gènes suppresseurs de tumeurs ont été mis en évidence, tantôt avec un spectre d'inactivation dans un très large ensemble de cancers tels tel *TP53*, tantôt très cancers-spécifiques à l'instar des gènes *BRCA1* et *BRCA2*.

Le concept de « gène suppresseur de tumeur » a été établi pour la première fois par Knudson en 1971 (6) à partir de calculs statistiques de données sur le rétinoblastome, tumeur dont la particularité est d'être d'origine embryonnaire (Figure 3). Il reprit l'idée de Burch qui en 1965 supposa que la première mutation pourrait survenir avant la conception. Knudson propose l'hypothèse que les sujets développeront un rétinoblastome dans 2 situations : ou bien s'il hérite d'une mutation du gène *RB1* et qu'ils subissent une seconde mutation après la conception (possiblement induite par l'environnement) ou alors si deux mutations surviennent après la conception. C'est la théorie du « double hit », formalisée par Comings en 1973 qui rapproche les 2 événements mutationels de Knudson à l'inactivation des 2 allèles d'un même gène. Si un seul des deux gènes *Rb1* fonctionne normalement, le cancer est réprimé. Knudson nomme alors ces gènes « anti-oncogènes », connus scientifiquement sous le nom de « gènes suppresseurs de tumeurs ». Depuis, de nombreux autres gènes suppresseurs de tumeurs ont été identifiés comme étant des gènes de prédisposition : *APC* dans la polypose adénomateuse familiale, *BRCA1* et *BRCA2* dans les cancers du sein et de l'ovaire, *TP3* dans le syndrome de Li-Fraumeni ...

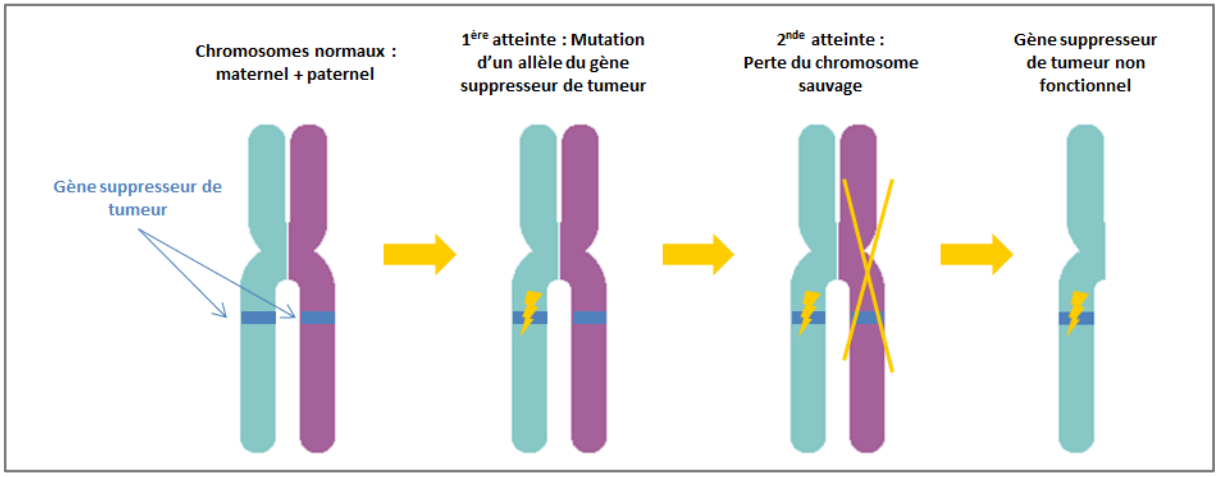


Figure 3 : Hypothèse de la double atteinte de Knudson

I.2.4 Gènes réparateurs de l'ADN

Les gènes réparateurs de l'ADN seront abordés et détaillés dans les prochaines pages.

I.3 - CANCER DU SEIN ET DE L'OVAIRE

I.3.1 Epidémiologie

I.3.1.1 Epidémiologie du cancer du sein

Au niveau mondial, le cancer du sein est le deuxième cancer incident le plus fréquent après celui du poumon et de loin le premier chez la femme. Le cancer du sein chez l'homme est bien plus rare et représente moins d'1 % de tous les cancers du sein. D'après les chiffres du Centre International de Recherche sur le Cancer, agence créée par l'Organisation Mondiale de la Santé, l'incidence mondiale était de 1,67 millions de nouveaux cas en 2012. Du fait de sa prévalence élevée, le cancer du sein est le cinquième cancer à l'origine du plus de décès dans le monde mais surtout le premier chez la femme. Malgré tout, le cancer du sein est un cancer dont le pronostic global est bon avec une survie nette standardisée à 5 ans de 87 %.(7) Au niveau français, ces proportions demeurent exactes avec environ 54 000 nouveaux cas de cancers du sein diagnostiqués et 11 900 décès en 2015. (8)

I.3.1.2 Epidémiologie du cancer de l'ovaire

A l'échelle mondiale, le cancer de l'ovaire n'est que le septième cancer le plus fréquent avec environ 239 000 cas diagnostiqués en 2012 mais le plus létal des cancers gynécologiques avec 152 000 décès, principalement dû au fait de diagnostics tardifs. (9) En France, 4617 nouveaux cas ont été diagnostiqués en 2011.

I.3.2 Facteurs de risques

I.3.2.1 Facteurs de risques du cancer du sein

Le cancer du sein est une pathologie multifactorielle. Cela signifie que plusieurs facteurs ont une influence sur le risque de sa survenue. On parle de « facteurs de risque » puisqu'ils augmentent le risque relatif de développer ce cancer sans toutefois qu'ils soient forcément nécessaires et suffisants. En effet, une personne possédant un ou plusieurs facteurs de risque peut ne jamais développer de cancer et, inversement, il est possible qu'une personne n'ayant aucun facteur de risque soit atteinte de ce cancer.

On distingue les risques endogènes, c'est-à-dire constitutifs des individus des risques exogènes, liés à l'environnement et au mode de vie.

Facteurs exogènes :

- Mode de vie

Le Fond Mondial de Recherche contre le Cancer a estimé qu'il serait possible de prévenir jusqu'à 40 % des cancers post-ménopausiques en adoptant un style de vie plus sain.(10) Ce chiffre est plus élevé que dans d'autres études mais toutes tendent à démontrer cette tendance. (11) (12)

Une récente revue de la littérature portant sur 73 études a mis en évidence qu'une activité physique modérée à intense réduit le risque de cancer du sien d'une moyenne de 25 %. (13) La consommation d'alcool, même modérée, augmente le risque de cancer du sein. En effet, il a été montré qu'une faible ingestion d'alcool (équivalant à 3-6 verres de vin par semaine) était associé à une augmentation modeste mais significative du risque de cancer (RR = 1,15 %, $IC_{95\%}$ = [1,06 ;1,24]) (14). De plus, que ce soit dans le cadre de cancers du sein pré ou post ménopausiques, les résultats de méta-analyses montrent une augmentation significative du risque corrélée à l'augmentation de la prise alcoolique. (9)

Quant à l'impact de l'exposition tabagique, les données disponibles sont actuellement controversées. Il n'existe pas à l'heure actuelle de preuve intangible de l'augmentation du risque relatif de cancer du sein induit par le tabac même si celui-ci est à proscrire dans la mesure du possible car facteur de risque majeur de plusieurs autres cancers.

Par ailleurs, sans que les données épidémiologiques ne soient toutes significatives, la faible consommation de fruits et de légumes ainsi que la consommation excessive d'acides gras saturés augmenteraient le risque de développer un cancer du sein. (15)

- Radiations ionisantes

Les radiations ionisantes, par leur capacité à provoquer des lésions au sein de l'ADN, sont un facteur de risque de cancer du sein. Une méta-analyse de plus de 25 grandes études a confirmé l'existence d'une relation dose-effet des radiations ionisantes avec un effet cumulatif des doses reçues. (16) Le risque est par ailleurs d'autant plus élevé que l'irradiation a lieu à un jeune âge, en particulier avant 40 ans. (17) En particulier, il a été noté de manière intéressante une recrudescence des cancers du sein chez des femmes ayant été exposées aux radiations de bombes atomiques pendant la seconde guerre mondiale alors qu'elles étaient âgées de 10 à 19 ans. (18) Une augmentation du risque est également

mentionnée chez les patientes ayant dû subir des contrôles radiologiques répétées dans ou depuis l'enfance ainsi qu'après une radiothérapie dans le cadre de la maladie de Hodgkin. (19) De fait, la question de l'âge de début du dépistage du cancer du sein s'est retrouvée posée. Il convenait d'être aussi sensible que possible sans pour autant provoquer une majoration du risque de développement de cancer du sein, ce qui serait paradoxal. Il a résulté des études que le bénéfice se trouvait être nettement plus important que le risque pour un âge de début de dépistage compris entre 40 et 50 ans. (20)

Facteurs endogènes :

- Âge

A l'instar de beaucoup d'autres cancers, le risque de développer un cancer du sein augmente fortement avec l'âge même s'il peut atteindre des femmes à des âges très différents. Il s'agit du principal facteur de risques. (21) Au Royaume-Uni entre 2012 et 2014, environ la moitié des cas de cancer du sein diagnostiqués l'étaient chez des personnes de 65 ans ou plus, chez les hommes comme chez les femmes. (22) En France, l'âge médian au diagnostic est de 63 ans. (23) Pour les femmes, le taux d'incidence augmente vers 30-34 ans, se stabilise jusqu'à la cinquantaine, puis augmente jusqu'à l'âge de 65 à 69 ans. Le taux d'incidence diminue légèrement pour les femmes âgées de 70 à 74 ans, puis augmente régulièrement vers un plateau dans les groupes d'âge de 85 ans et plus.

- Mastopathies bénignes

On distingue 2 classes histologiques : les lésions prolifératives ou non prolifératives, avec ou sans atypie. Les mastopathies non prolifératives ne présentent pas de risque accru, à l'inverse des lésions prolifératives, qui plus est avec présence d'atypies. (24)

- La densité mammaire

La densité mammaire, évaluée par mammographie, est le reflet de la quantité relative des différents tissus : le tissu glandulaire, le tissu conjonctif et la graisse. Les seins dits « denses » contiennent plus de tissus glandulaires et conjonctifs et moins de graisse. Les études mettent en évidence un risque 4 à 6 fois plus important de développer un cancer du sein chez les femmes aux seins denses. (15)

- L'imprégnation hormonale

Le cancer du sein est un cancer hormono-dépendant. De nombreuses études l'ont mis en avant. L'exposition hormonale peut être double : endogène et exogène avec un rôle particulier joué par les œstrogènes qui, même si leur mécanisme d'action n'est pas encore net, favoriseraient le risque de développer un cancer du sein en stimulant la prolifération cellulaire, en inhibant l'apoptose et en altérant l'ADN par l'entremise de ses métabolites. (25)

Plusieurs sources d'exposition hormonale endogène sont associées à une majoration du risque de cancer du sein. Du fait d'une imprégnation hormonale plus importante, un âge de survenue des premières règles avant l'âge de 12 ans est considéré comme un facteur de risque de développer un cancer du sein. (26) La ménopause tardive, après 50 ans, prolongeant ici également l'imprégnation hormonale, est également associée à une majoration du risque. (27) La nulliparité présente également un risque majoré de cancer du sein. Une étude a ainsi démontré que les femmes ayant eu un enfant avant 30 ans présentent un risque décru de 25 % (28). De plus, l'effet protecteur augmente avec la multiparité. L'obésité, particulièrement chez les femmes ménopausées, augmente par ailleurs le risque de cancer du sein. La raison en serait l'augmentation des concentrations sériques en œstradiol libre du fait de la production d'hormones stéroïdiennes et l'aromatisation des androgènes due à l'excès de tissu adipeux.(17) Au contraire, plusieurs études ont démontré le caractère protecteur de l'allaitement maternel. (27)

Les deux principales sources d'exposition aux hormones exogènes sont la contraception orale et le traitement hormonal substitutif de la ménopause. En 2005, le CIRC a classé les contraceptifs hormonaux combinés comme cancérogènes de groupe 1 pour l'homme, c'est-à-dire avec le niveau de preuve le plus élevé. Une nouvelle expertise a confirmé ce fait en 2012. (29) Le risque de développer un cancer du sein est accru chez les jeunes femmes et celles prenant la pilule depuis plus de 10 ans. Ce risque se normalise après 10 années d'interruption. La prise d'un traitement hormonal substitutif, qui permet de pallier le déclin des hormones ovariennes circulantes, est associé à une majoration du risque (27) (30) ; risque augmentant avec la durée d'utilisation. Preuve supplémentaire de l'implication hormonale, le risque est accru lors d'une prise d'une association œstroprogestative versus un traitement œstrogénique seul. (31). Le mécanisme d'action serait simplement dû au fait que le Traitement hormonal substitutif provoque un retard des

effets de la ménopause or une ménopause tardive, nous venons de le voir, est un facteur de risque du cancer du sein.

Enfin, l'apport thérapeutique des suppressions hormonales, soit par ovariectomie, soit de manière médicamenteuse (Tamoxifène, inhibiteurs d'aromatases…) finissent d'affirmer le caractère hormono-dépendant de ce cancer avec un rôle majeur des œstrogènes.

- Antécédents personnels et familiaux de cancer du sein

Les antécédents familiaux de cancer du sein représentent un facteur de risque majeur de développer un cancer du sein. L'augmentation du risque relatif est de 1,9 pour toute forme de parenté et augmente en fonction de la proximité et du nombre d'apparentés atteints. (32)

Les femmes déjà atteintes d'un cancer du sein sont plus à risque d'en développer un second, jusqu'à 2 fois. Le risque semble particulièrement plus important chez des femmes ayant eu un premier diagnostic avant 40 ans. (33)

L'augmentation de ce risque et l'accumulation de cas dans la famille laissent présager une prédisposition familiale. Mais comme l'indique sa prévalence, le cancer du sein est une maladie fréquente. Il n'est donc pas rare d'avoir des apparentées atteintes. Cette agrégation familiale de cancers du sein ne signifie pas nécessairement qu'il s'agit d'une forme héréditaire pour autant. En plus des similitudes génétiques transmises, les apparentés partagent classiquement le même mode de vie qui, comme nous venons de le voir, peut être un facteur de risque selon les habitudes comportementales et alimentaires.

- Prédisposition héréditaire

Il a été démontré qu'environ 5 à 10 % des cancers du sein sont héréditaires. La composante héréditaire sera abordée plus loin.

I.3.2.2 Facteurs de risques du cancer de l'ovaire

Âge

Tout comme pour le cancer du sein et une large majorité de cancers, l'âge constitue un facteur de risque majeur de développer un cancer de l'ovaire. L'âge moyen au diagnostic est en effet de 65 ans.

L'imprégnation hormonale

Les femmes ayant eu une puberté précoce, une ménopause tardive, nullipares ou mères tardives ont plus de risques de développer un cancer ovarien. En revanche, les femmes avec plusieurs enfants, ayant allaité ou ayant utilisé une contraception orale ont un risque atténué. (34) Quant au traitement hormonal substitutif de la ménopause, deux études récentes ont démontré son implication dans l'élévation légère du risque. (35) (36)

Toxiques

Le CIRC a classé le tabagisme actif comme facteur de risque du cancer de l'ovaire de type mucineux en 2009. L'exposition professionnelle à l'amiante constitue un autre facteur de risques. Une étude a ainsi démontré une augmentation de 77 % des cancers de l'ovaire chez des femmes exposées à l'amiante. (37)

Antécédents familiaux de cancer de l'ovaire

Il a été mis en évidence un risque majoré en cas d'antécédents familiaux de cancers de l'ovaire. Dans bien des cas, il n'est pas possible de savoir si une récurrence familiale est attribuable au hasard, au mode de vie partagé par les membres de la famille, à une anomalie génétique transmise ou bien à une association de ces différents facteurs.

Prédisposition héréditaire

En ce qui concerne les cancers de l'ovaire, Il a été démontré qu'environ 15 à 20 % des cancers de l'ovaire sont héréditaires.(2) On retrouve des cancers de l'ovaire associés à différents syndromes : le syndrome Seins-Ovaire et le syndrome HNPCC notamment. La composante héréditaire sera abordée plus loin.

Autres facteurs suspectés

Une grande taille à l'âge adulte semble corrélée à un risque majoré de cancer de l'ovaire. Cela serait en réalité dû aux circonstances favorisant cette grande taille (en particulier les facteurs hormonaux) et non la taille en soit. (38)

I.3.3 Formes héréditaires du cancer du sein et de l'ovaire : le syndrome Seins-Ovaires

Il arrive que l'on retrouve dans une famille plusieurs individus atteints du même cancer ou du même spectre. Dans ce cas, il est possible qu'il s'agisse d'un cancer héréditaire dû à une altération génétique qui se transmet d'une génération à la suivante.

Il existe en effet un certain nombre de cas où les cancers du sein ou de l'ovaire ne sont pas de nature sporadique : on entre alors dans le cadre du syndrome de cancers du sein et de l'ovaire héréditaires, HBOC en anglais (pour Hereditary Breast and Ovarian Cancer). Ce syndrome héréditaire est une prédisposition génétique à transmission autosomique dominante causé par une altération d'un gène, plus fréquemment *BRCA1* ou *BRCA2,* intervenant dans des mécanismes de réparation de l'ADN. Dans la population générale, il est estimé qu'un individu sur 500 environ porte une mutation dans *BRCA1* ou *BRCA2* (39). (40) En ce qui concerne les femmes ayant un cancer du sein, la synthèse Oncogénétique 2015 estime entre 2 et 5% le cas de cancer d'origine génétique. En ce qui concerne les cancers de l'ovaire, environ 15 à 20% des femmes atteintes sont porteuses d'une atteinte constitutionnelle de *BRCA1* ou *BRCA2.*

Quand faut-il y penser ? Du fait de l'incidence élevée du cancer du sein dans la population générale, il convient de distinguer les agrégations familiales fortuites des formes familiales héréditaires. C'est là le rôle des services d'oncogénétique et plus particulièrement lors de la consultation d'oncogénétique par un médecin ou un conseiller en génétique. Plusieurs éléments permettent d'orienter vers une origine héréditaire :

- 3 cancers du sein liés au 1er degré par l'intermédiaire d'une femme ou au 2nd degré par l'intermédiaire d'un homme
- 2 cancers du sein dont un avant 40 ans ou dont 1 cancer du sein masculin
- 1 cancer du sein avant 36 ans (21 % de femmes mutées)

- 1 cancer du sein de type médullaire (18 % de mutation *BRCA1*)
- 1 cancer du sein + 1 cancer de l'ovaire liés au 1er ou au 2nd degré
- Atteinte primitive multiple (cancers du sein et de l'ovaire chez une même personne)
- Cancer de l'ovaire isolé de haut grade quel que soit l'âge. (41)
- Cancer du sein isolé triple négatif avant 51 ans (>10 % de mutation *BRCA* (42))

I.3.3.1 Gènes impliqués :

Les gènes identifiés comme étant impliqués dans l'augmentation du risque de cancer du sein sont classés en trois groupes selon leur pénétrance et leur fréquence dans la population générale (Figure 4) : Mutation rare à forte pénétrance risque élevé (RR>5), mutations rares à pénétrance modérée : risque modéré (RR = 2-5) et variants fréquents à pénétrance faible : risque faible (RR<2)

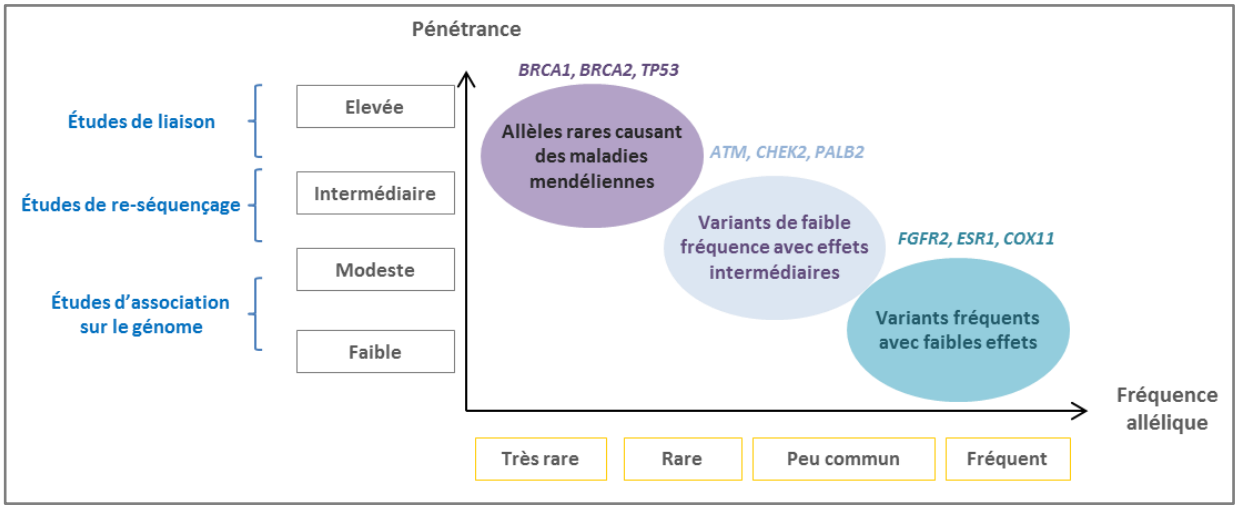


Figure 4 : Relation entre la pénétrance et fréquence allélique dans le cadre du syndrome HBOC. D'après (43)

1) Gènes de prédisposition à pénétrance élevée

BRCA1 (*Breast Cancer susceptibility gene 1*) et *BRCA2* (*Breast Cancer susceptibility gene 2*) sont les deux gènes majeurs à l'origine d'un risque très élevé de cancer du sein et de l'ovaire. Ces deux gènes codent pour des protéines de réparation de l'ADN. En 1990, *BRCA1* a été localisé (44) puis découvert en 1994 (45) suivi de *BRCA2* en 1995(46) par étude de liaison génétique et clonage positionnel.

BRCA1 **(NM_007294.3)**

C'est un grand gène situé sur le bras long du chromosome 17, en position 17q21.31, long de 85 189 paires de bases, contenant 22 exons (Figure 5) codant une protéine de 1863 acides aminés dont seules les extrémités N et C terminales sont fortement conservées entre les espèces.(47) BRCA1 est une protéine ubiquitaire dont la localisation est principalement nucléaire.

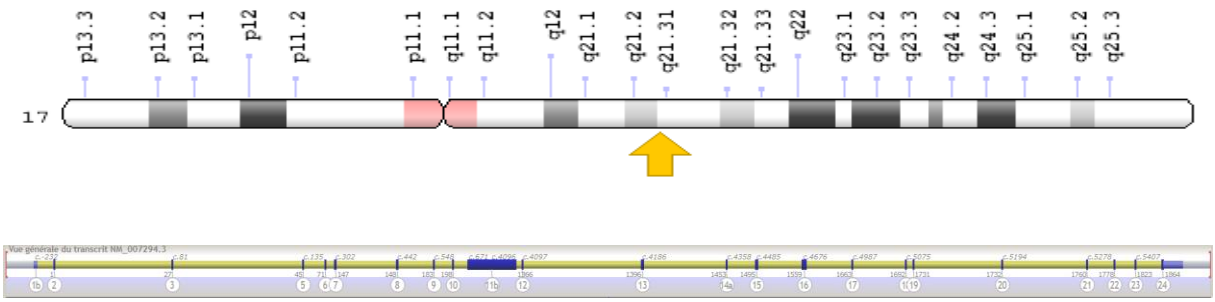


Figure 5 : Localisation et représentation du gène *BRCA1*

Cette protéine est ainsi constituée (Figure 7) :

- En position N-terminal se trouve un domaine RING (Really Interesting New Gene) caractérisé par la présence de 8 résidus cystéines et histidines responsables de la liaison de 2 atomes de zinc, d'où le nom du domaine « en doigt de zinc ». Ce motif fait partie d'un domaine plus étendu contenant des hélices alpha antiparallèles indispensables aux interactions protéiques. Le domaine RING est impliqué dans le processus d'ubiquitination. Des ligases (E1, E2 et E3) permettent d'adresser un substrat vers le protéasome qui se charge alors de la dégradation protéique. C'est ici que se fixe BARD1, ce qui est indispensable à l'activité ubiquitine ligase de BRCA1 (qui a une activité ligase E3). En l'absence de BARD1, BRCA est rapidement dégradé.(48) Enfin, ce domaine en doigt de zinc lie également la protéine BAP1 (BRCA-associated Protein 1), enzyme impliquée dans la prédisposition au cancer et qui possède une activité d'ubiquitine-hydrolase.
- Un domaine central de liaison à l'ADN
- Une partie C-Terminale constituée de deux domaines BRCT (BRCA 1 C-Terminus) en tandem. Cette région semble impliquée dans les interactions protéine-protéine que BRCA1 entretient avec d'autres protéines comme BRCA2, RHA (RNA Helicase A), CtIP (CtBP-Interacting protein) et HDAC (Histone Déacétylase) 1 et 2. (49)

***BRCA2* (NM_000059.3)**

Grand gène également, il est quant à lui positionné sur le bras long du chromosome 13, en position 13q13.1. Il est long de plus de 88 kb, contient 27 exons et code 3418 acides aminés. (Figure 6)

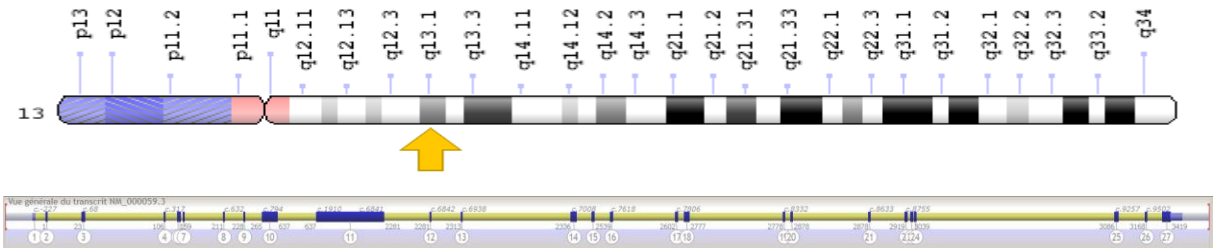


Figure 6 : Localisation et représentation du gène *BRCA2*

BRCA2 ne possède aucune homologie de structure avec *BRCA1* mais ils ont en commun une longueur importante avec un grand nombre d'exons et en particulier un exon géant, l'exon n°11 qui représente à lui seul 60 % de la séquence codante de *BRCA1* presque 48 % de *BRCA2*.

En ce qui concerne *BRCA2*, il existe dans la partie centrale -codée par l'exon 11- 8 domaines BRC (*BRCA2*-repeats) répétés. (Figure 7) L'extrémité N-terminale contient un domaine de transactivation et l'extrémité C-terminale un signal de localisation nucléaire. C'est au niveau de BRC que se fixe la recombinase RAD51 (DNA Repair protein Rad51 homolog 1), protéine majeure du processus de recombinaison homologue. En cas de lésion de l'ADN, le complexe BRCA2-RAD51 est dirigé vers ces lésions et la fonction de RAD51 est activée. Par ailleurs, *PALB2* contrôle la localisation de BRCA2 et maintient sa stabilité au sein de la chromatine.

Rôles de *BRCA1* et de *BRCA2*

BRCA1 et *BRCA2* sont des gènes suppresseurs de tumeurs. Les mutations germinales sont autosomales, la mutation d'un seul allèle accroît la susceptibilité mais les tumeurs n'apparaissent que lorsque le second allèle est atteint par une altération somatique. Ces deux gènes sont impliqués dans divers processus de maintien de la stabilité du génome :

- Régulation de la transcription : BRCA1 peut interagir avec l'ARN polymérase II par l'intermédiaire de l'ARN hélicase A. Elle peut en moduler l'action par le biais de la kinase CAK qui peut modifier son état de phosphorylation (50) et ainsi prévenir,

en cas d'altération de la séquence, la transcription d'un brin endommagé avant de procéder à la restauration de la séquence originelle. Le rôle direct de BRCA2 dans la transcription est pour le moment moins certain.

- Détection et réparation des lésions de l'ADN : Une cassure double-brin de l'ADN peut être réparée selon plusieurs mécanismes : le NHEJ (Non Homologous End Joining), le NEHJ alternatif, la recombinaison homologue ou le SSA (Single-strand annealing). En fonction de la phase du cycle cellulaire et du type de cassure, la cellule choisit son mécanisme. Les NEHJ et NEHJ alternatifs sont actifs durant tout le cycle cellulaire alors que la RH ou le SSA seulement à la fin de la phase S et lors de la phase G2. BRCA2 semble essentiellement impliquée dans la réparation par recombinaison homologue et la voie NEHJ semble intacte chez les cellules déficientes en BRCA2. Au cours du processus de réparation cellulaire, BRCA1 intervient surtout dans un rôle de médiateur entre les protéines de détection des lésions et celles de réparation.

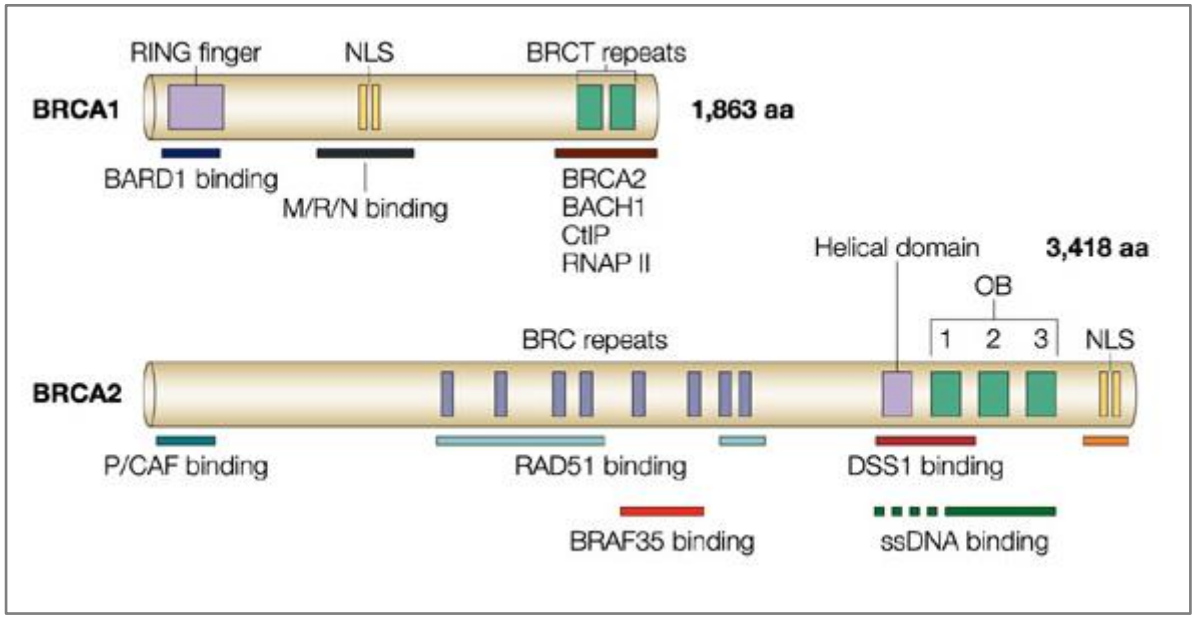


Figure 7 : Constitution des protéines BRCA1 et BRCA2. D'après (51)

Cette implication dans les voies de réparation de l'ADN sous-tend l'utilisation des inhibiteurs de PARP (Poly(ADP-ribose) Polymérase) dans le traitement des cancers de l'ovaire, dont la première molécule a reçu l'AMM récemment. Lorsqu'une cellule hétérozygote pour *BRCA* perd son unique allèle fonctionnel au cours d'un accident évolutif,

l'activité de réparation par recombinaison homologue s'arrête donc au profit des voies alternes qui, ne se fondant pas sur le brin matrice intact pour réparer mais accolent les extrémités des brins, provoquent davantage d'erreurs dans le code génétique. L'inhibition médicamenteuse de la réparation des cassures simple brin par un inhibiteur de PARP conduit lors de la phase S à l'accumulation de cassures doubles brin liées aux cassures simple brins non réparées. Les réparations non fidèles alors réalisées rendent la cellule porteuse non viable. Ce mécanisme est appelé « synthetic lethality» et a pour intérêt de cibler les cellules BRCA déficientes.

Augmentation du risque

Il a été estimé en 2003 (Antoniou et al, 2003) que l'augmentation des risques de cancers en fonction des mutations des gènes *BRCA1* et *BRCA2* pouvait atteindre des niveaux très élevés. Il s'avère que le risque cumulé de développer un cancer du sein avant 70 ans est de 40 à 85 % contre 10 % dans la population générale et celui de développer un cancer de l'ovaire avant 70 ans est de 10 à 63 % contre 1 % dans la population générale.
Les risques cumulés de cancers du sein et de l'ovaire chez les femmes prédisposées *BRCA1/2* sont présentés dans le Tableau 1.

	BRCA1	*BRCA2*
Risque cancer du sein	65 %	45 %
Risque cancer de l'ovaire	45 %	11 %
Risque de cancer du sein avant 45 ans	25 %	7 %
Risque de cancer de l'ovaire avant 45 ans	10 %	1 %
Risque annuel de cancer du sein controlatéral	3,8 à 6,4 %	2,1 à 4,2 %
Risque de cancer de l'ovaire associé	24 %	8 %

Tableau 1 : Risques cumulés de cancer du sein et de l'ovaire chez les femmes mutées *BRCA1/2*. D'après (52)

En outre, les mutations de *BRCA1* et/ou *BRCA2* sont associées à un risque de développer d'autres types de cancers comme le cancer de la prostate (RR = 4,65), plus particulièrement avant 65 ans (RR = 7,33) et le cancer du pancréas (RR = 3,51).

Types d'altérations

A ce jour, des milliers de mutations uniques ont été détectées dans l'ensemble de ces deux gènes de prédisposition, sans effet hotspot. Il existe en revanche un effet fondateur dans la population juive Ashkénaze ainsi qu'en Islande, à l'origine de mutations récurrentes (185delAG et 5382insC dans *BRCA1* et 6174delT dans *BRCA2* pour les juifs ashkénazes et c.999del5 dans *BRCA2* chez les Islandais). Cet effet fondateur a de fait considérablement augmenté le taux d'incidence des mutations dans ces populations. Alors que ce taux est estimé à une personne sur 400 à 600 à être porteur d'une mutation dans *BRCA1* ou *BRCA2*, ce chiffre atteint 1 sur 50 dans la population juive ashkénaze.(53) En dehors de ces cas particuliers, les mutations se répartissent sur l'ensemble des exons de *BRCA1* et *BRCA2*. La base de données française UMD recense en août 2017 10 678 variants de *BRCA1* dont 2495 uniques et 13450 variants de *BRCA2* dont 3454 variants uniques. Dans un grand nombre de cas, il s'agit d'une mutation familiale parfois non encore référencée dans les bases de données ni dans la littérature, chaque famille ayant en quelque sorte sa mutation privée. Les mutations délétères sont de type « perte de fonction » inactivant un gène suppresseur de tumeurs. Il s'agit donc de mutations non-sens, de mutations d'épissage et de délétions ou d'insertions avec décalage du cadre de lecture entraînant la synthèse d'un codon stop prématuré et donc d'une protéine non fonctionnelle. En plus de ces mutations délétères, il a été relevé un très grand nombre de mutations faux-sens. Quelques rares cas de mutations faux-sens délétères sont connus, touchant notamment les résidus cystéine du domaine RING de BRCA1, abolissant ainsi la fonction protéique de BRCA1. Si les autres sont considérées comme bénignes eu égard à la clinique, aux données de la littérature et des bases de données, il arrive que des variants soient considérés comme variants de signification inconnue à la lumière de nos connaissances actuelles. Avec la collecte continue des données, les études fonctionnelles et les études statistiques, il est raisonnable de penser que les données s'affineront progressivement. A une plus large échelle, des réarrangements de grande taille peuvent également être responsable de la prédisposition cancéreuse.

La Synthèse d'Oncogénétique de l'INCa 2014 renseigne sur la ventilation des anomalies détectées par gène selon leur type : mutation ponctuelle ou réarrangement de grande taille. En ce qui concerne les gènes du panel utilisé à l'Institut Bergonié, la répartition est indiquée dans le Tableau 2 :

	Mutations ponctuelles			Réarrangement de grande taille (RGT)		
Gènes	Nombre total	MP identifiées	%	Nombre total	RGT identifiés	%
Prédispositions à transmission autosomique dominante						
BRCA1	8 794	462	5,3	8349	42	0,5
BRCA2	8 820	375	4,3	7528	6	0,1
MLH1	904	63	7,0	930	10	1,1
MSH2	841	71	8,4	917	25	2,7
MSH6	675	54	8,0	495	1	0,2
PMS2	141	16	11,3	195	3	1,5
EPCAM				812	10	1,2
CDH1	199	4	2,0	139	0	0
CHEK2	6	0	0,0			
PALB2	21	0	0,0			
PTCH1	113	47	41,6	75	7	9,3
PTEN	154	14	9,1	146	1	0,7
STK11	61	12	19,7	46	5	10,9
SUFU	6	3	50,0	4	0	0
TP53	317	35	11,0	289	0	0
Prédispositions à transmission autosomique récessive (bi-alléliques)						
MUTYH	464	40	8,6	208	0	0
ATM	22	11	50	19	0	0
MRE11A	8	0	0			
RAD50	4	0	0			
RAD51C	60	0	0			

Tableau 2 : Répartition au niveau national des altérations génétiques retrouvées sur les gènes du panel de gènes testés à l'Institut Bergonié

Corrélation génotype/phénotype

Les tumeurs *BRCA1* ont des caractéristiques distinctes des tumeurs du sein sporadiques. Le type histologique majoritaire ne diffère certes pas de celui des cancers du sein sporadiques puisqu'il s'agit majoritairement de carcinomes canalaires infiltrant (74-79 %) mais il existe des variantes singulières. En effet, on peut noter que le sous-type médullaire est sur-représenté chez les patients mutés *BRCA1* (6-60 % versus 1-5 %). Le grade histo-pronostique selon le score de Scarff-Bloom-Richardson permet de classer la tumeur en 3 grades en fonction de trois critères : l'architecture, les atypies cyto-nucléaires et le nombre de mitoses. Les trois critères sont cotés de 1 à 3. Dans le cas d'un cancer du sein de type *BRCA1*, le grade III est majoritaire (10-66 %) alors qu'il l'est également mais dans une moindre mesure dans les cancers du sein sporadiques (15-55 %). En effet, chacun des items est majoritairement coté à 3 et dans de plus grandes proportions que pour les cancers

sporadiques. Au niveau immuno-histochimique, elles sont le plus souvent de type « triple négatif » ou « basal like », c'est-à-dire qu'elles sont négatives pour le récepteur aux œstrogènes, pour le récepteur aux progestérones et qu'il n'y a pas de surexpression de l'oncogène *HER2*.(54) En revanche, elles sont souvent positives aux cytokératines CK5 et CK14 ainsi qu'au récepteur à l'EGFR. Enfin, le taux de mutation de *TP53* est augmenté, tout comme l'aneuploïdie.

Quant à *BRCA2*, le phénotype de ces tumeurs est de type luminal. Le profil immuno-histochimique diffère sur certains points : les récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone sont exprimés à des niveaux comparables avec les formes sporadiques, c'est-à-dire qu'ils sont davantage exprimés que dans les tumeurs mutées *BRCA1*. Quant à *HER2*, seul un faible pourcentage de tumeurs mutées *BRCA2* présentent une surexpression, à l'instar de *BRCA1*.

En ce qui concerne les cancers de l'ovaire avec une mutation délétère de *BRCA1* ou *BRCA2, ils* sont davantage susceptibles d'être de type adénocarcinome séreux de haut grade que les cancers sporadiques, à âge équivalent, et moins susceptibles d'être de type bordeline ou mucineux. (55)

À ce jour, si les gènes *BRCA1* et *BRCA2* sont considérés comme les deux gènes majeurs à l'origine du risque très élevé de cancer du sein et/ou de l'ovaire, d'autres gènes ont été identifiés en lien avec ce syndrome.

***TP53* (NM_000546.5)**

TP53 est localisé sur le chromosome 17 en position 17p13.1. Il est long de plus de 29 kb et contient 11 exons (Figure 8) codant pour la protéine p53 (ou TP53 pour Tumor Protein 53) constituée de 393 acides aminés.

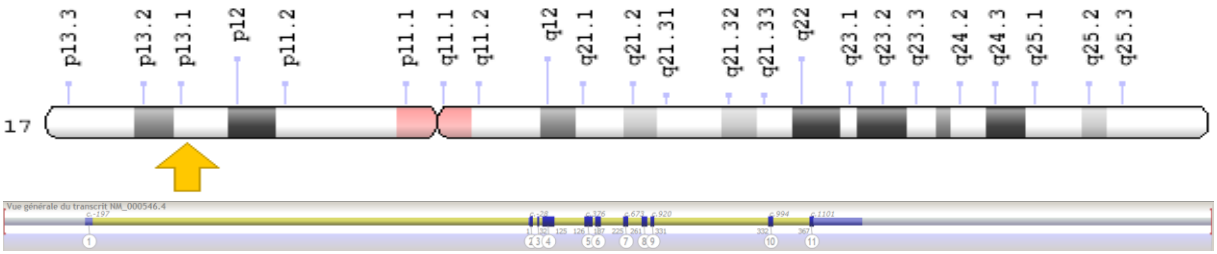


Figure 8 : Représentation du gène *TP53*

La protéine p53 est un facteur de transcription régulant des fonctions cellulaires aussi importantes que la mitose et l'apoptose en se fixant de manière spécifique sur les régions

régulatrices des gènes dont elle contrôle l'expression. La régulation transcriptionnelle demeure encore complexe puisqu'environ 160 protéines influenceraient la stabilité ou l'activité p53. Lorsqu'une anomalie du matériel génétique survient dans une cellule, le type sauvage de p53 stoppe momentanément le cycle cellulaire afin de permettre la réparation. Si les lésions sont trop nombreuses alors p53 enclenche le processus d'apoptose de la cellule. Si par contre *TP53* est muté, la protéine p53 est possiblement inactive et perd ses propriétés anti-oncogéniques, ce qui s'observe dans un très grand nombre de tumeurs malignes.

Les altérations constitutionnelles du gène *TP53* sont à l'origine du syndrome de Li-Fraumeni. Il s'agit d'une affection rare de transmission autosomique dominante, prédisposant à divers cancers d'apparition précoce comme le cancer du sein et différentes atteintes volontiers pédiatriques comme les sarcomes osseux et des tissus mous, le corticosurrénalome malin, des tumeurs cérébrales et des hémopathies malignes.(56) Ce syndrome est également caractérisé par une hypersensibilité aux radiations ionisantes avec risque de cancer radio-induit secondaire. Le risque de développer un cancer pour un sujet porteur d'une mutation délétère du gène *TP53* est de 15 % à 15 ans, 80 % pour les femmes à 50 ans et 40 % pour les hommes au même âge(57) et l'âge médian de survenue du cancer du sein est de 33 ans.(58) Des mutations somatiques de *TP53* sont par ailleurs retrouvées dans plus de 50 % des cancers.

***PTEN* (NM_000314.4)**

Il sera abordé plus en détail dans la partie « Maladie de Cowden »

***STK11* (NM_000455.4)**

STK11 (*Serine/Threonine kinase 11*) est un gène localisé sur le chromosome 19 en position 19p13.3, long de 26,6 kb, constitué de 10 exons (Figure 9) codant une protéine de 434 acides aminés : STK11

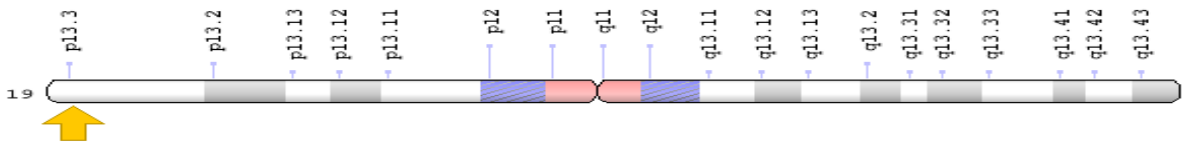


Figure 9 : Localisation et représentation du gène *STK11*

Les mutations constitutionnelles de *STK11* sont associées au syndrome de Peutz-Jeghers, syndrome autosomal dominant caractérisé par une polypose hamartomateuse de l'ensemble du tube digestif, des pigmentations anormales cutanées et muqueuses. La prévalence est estimée entre 1/25 000 et 1/300 000 naissances aux Etats-Unis.(59) *STK11* est un gène suppresseur de tumeur, il code pour une sérine/thréonine kinase qui régule la polarité cellulaire, inhibant la prolifération cellulaire et interagissant avec la voie de signalisation mTOR. (60)

Le risque majeur de ce syndrome est représenté par les invaginations intestinales sur polypes du grêle mais il existe également un risque important de développer certains cancers, en particulier gastrique et colo-rectal mais également pancréatique, mammaire et ovarien. Le risque cumulé de cancer du sein a été estimé entre 32 et 54 %.(61)

CDH1 (NM_004360.3)

CDH1 (Cadherin-1) est un gène localisé sur le chromosome 16 en position 16q22.1, long de plus de 102 kb, comportant 16 exons (Figure 10) et codant pour une protéine de 882 acides aminés : la cadhérine 1.

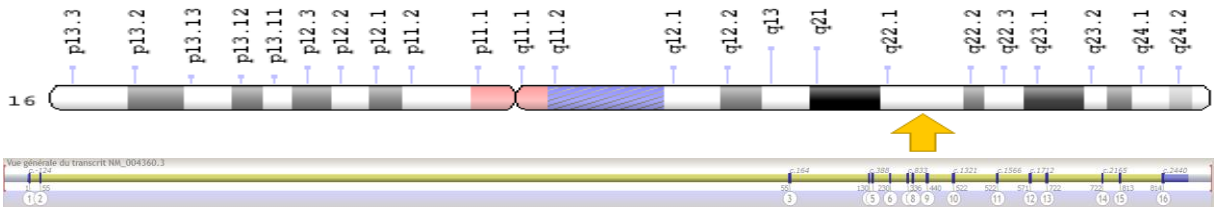


Figure 10 : Localisation et représentation du gène *CDH1*

La cadhérine 1 (ou E-Cadhérine) est une protéine transmembranaire assurant le maintien de la polarité cellulaire et l'adhésion de cellules les unes aux autres au sein du tissu épithélial.(62) Les anomalies de cette protéine induisent de fait une diminution de la force d'adhésion cellulaire dans un tissus, induisant l'augmentation de la motilité cellulaire, permettant aux cellules cancéreuses de franchir la membrane basale pour envahir les tissus adjacents dans un premier temps puis distants.(63) *CDH1* est à l'origine d'un syndrome cancéreux familial transmis de façon autosomique dominante appelé cancer gastrique diffus

héréditaire. L'absence de la cadhérine E empêche l'adhésion intercellulaire et explique l'aspect diffus, à cellules isolées, de ces cancers de l'estomac. Les personnes concernées sont également à risque de développer un cancer du sein de type lobulaire, caractérisé par un aspect diffus de cellules isolées.(64)

2) Gènes de prédisposition à pénétrance modérée

Les gènes à forte pénétrance étudiés ci-avant ne permettant pas d'expliquer l'intégralité des cas de cancers héréditaires, cela signifie logiquement qu'il existe d'autres causes. Les recherches se sont alors intéressées aux gènes codant pour les partenaires de BRCA1 et BRCA2, pièces maîtresses de l'héréditaire cancéreuse mammaire impliquées dans les voies de réparation de l'ADN.(65)

ATM (NM_000051.3)

ATM (*Ataxia-Telengiectasia Mutated*) est un gène localisé sur le chromosome 11 en position 11q22.3, long de plus de 150 kb, comportant 63 exons (Figure 11) codant pour une protéine de 3056 acides aminés : ATM.

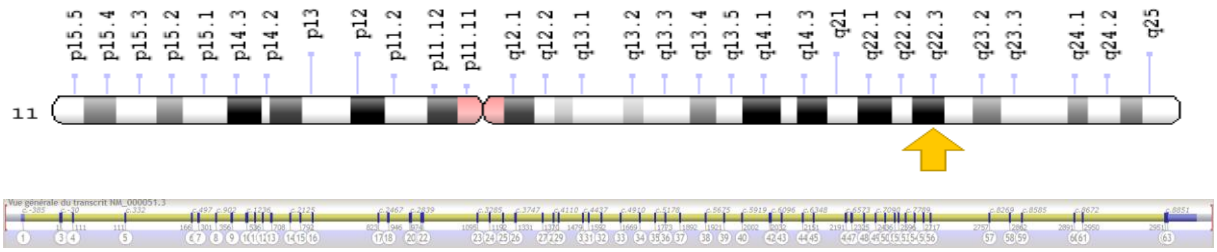


Figure 11 : Localisation et représentation du gène *ATM*

ATM est une protéine kinase appartenant à la famille des PIKKs (PI3 Kinase-Like Protéine Kinase) intervenant dans la réparation de l'ADN via deux mécanismes distincts : la recombinaison homologue et la jonction non homologue des brins.(66) Lorsqu'une cassure double brin intervient, le complexe MRN (Mre11/Rad50/Nbs1) se lie à la lésion et recrute ATM qui à son tour phosphoryle ces substrats : l'histone H2A, ouvrant la chromatine permettant ensuite au complexe MRN de recruter les différents acteurs de la réparation des cassures double-brin, BRCA1, entraînant la réparation de l'ADN, p53, entraînant l'activation des gènes de réparation de l'ADN, l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose, CHEK1 et CHEK2, activant les points de contrôle cellulaires et c-Abl activant le processus de recombinaison

homologue.(67) ATM joue également un rôle dans le système immunitaire puisqu'elle répare les lésions double-brin survenant dans les recombinaisons V(D)J.

Les mutations constitutionnelles homozygotes ou hétérozygotes composites du gène *ATM* sont à l'origine du syndrome d'Ataxie-Télangiectasie, maladie autosomique rare se révélant pendant l'enfance et dont la prévalence est estimée à 1/100 000 enfants.(68) Ce syndrome se caractérise par des atteintes neurologiques à type de syndrome neurodégénératif avec ataxie cérébelleuse, télangiectasies et déficits immunitaires à l'origine d'infections respiratoires à répétition ainsi qu'un risque augmenté de cancers.

Les sujets porteurs d'une mutation d'*ATM* à l'état hétérozygote ont un risque modérément accru de développer un cancer du sein (RR 2 à 4). Du fait de la prévalence relativement élevée de la mutation hétérozygote estimée à 0,5-1 % de la population, les mutations d'*ATM* sont donc associées à un nombre non négligeable de cancers du sein.

***CHEK2* (NM_007194.3)**

CHEK2 (*Checkpoint Kinase 2*) est un gène localisé sur le chromosome 22 en position 22q12.1, long de 58 kb, composé de 15 exons (Figure 12) codant pour une protéine de 543 acides aminés : CHEK2

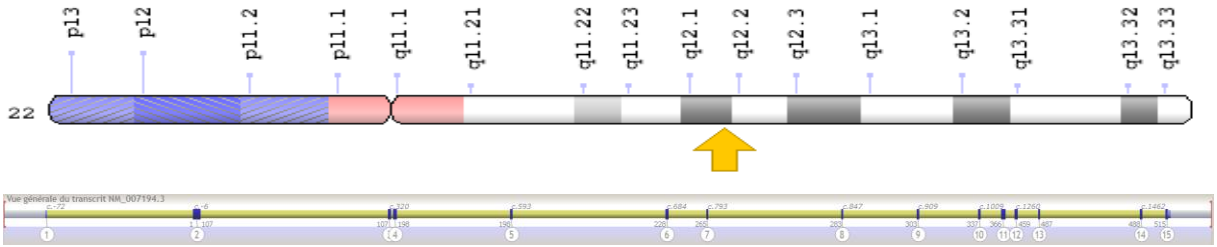


Figure 12 : Localisation et représentation du gène *CHEK2*

CHEK2 est une sérine thréonine kinase qui agit en réponse à des lésions de l'ADN au sein de complexes protéiques qui œuvrent pour la réparation de l'ADN, l'arrêt du cycle cellulaire ou l'apoptose. CHEK2 agit comme suppresseur de tumeur en régulant le cycle cellulaire. Comme vu précédemment, ATM phosphoryle et active CHEK2 qui active les CDK par l'intermédiaire de CDC25. En conséquence, l'inhibition de CHEK2 prévient l'entrée de la cellule en mitose. Par ailleurs, CHEK2 interagit avec plusieurs protéines, notamment p53 dont la stabilisation par CHEK2 justement induit l'arrêt du cycle cellulaire en phase G1. En

cas de lésion double brin, si la lésion peut être réparée, CHEK2 phosphoryle BRCA1 qui est alors activée et peut réparer la lésion.(69)

En 1999, des mutations germinales de *CHEK2* ont été découvertes chez des familles atteintes du syndrome de Li-Fraumeni mais la fréquence des mutations de *CHEK2* dans la population générale était trop importante pour être la cause de ce syndrome qui est rare. Néanmoins, *CHEK2* jouant un rôle critique dans la voie de réparation de l'ADN, ses mutations pourraient être en cause dans de nombreux types de cancers. C'est le cas du cancer du sein et particulièrement de la mutation c.1100delC dans l'exon 10 qui produit une protéine tronquée non fonctionnelle. Cette mutation est retrouvée dans 1,9 % des cas de cancer du sein comparé à 0,7 % dans la population témoin (p-value=10^{-7}) avec un odds ratio à 2,34 ($IC_{95\%}$ = 1,72-3,20).(70) Une méta-analyse récente considérant les mutations tronquantes du gène *CHEK2* dans des cas à risque élevé de prédisposition au cancer du sein a rapporté un odds ratio à 3,3 ($IC_{95\%}$ = 2,6-4,1).(71)

PALB2 (NM_024675.3)

PALB2 (*Partner and localizer of BRCA2*) est un gène localisé sur le chromosome 16 en position 16p12.2, long de plus de 42 kb, composé de 13 exons (Figure 13) codant pour une protéine de 1386 acides aminés : PALB2.

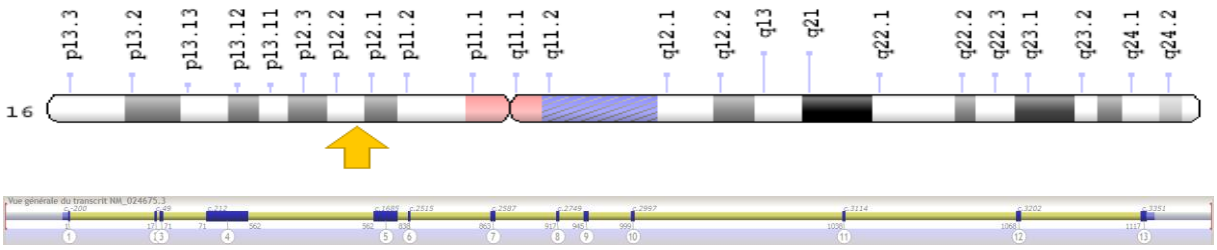


Figure 13 : Localisation et représentation du gène *PALB2*

PALB2, initialement découverte comme protéine partenaire essentielle au fonctionnement de BRCA2 (72), est désormais connue pour être un médiateur à part entière dans la recombinaison homologue.(73) PALB2 permet la stabilisation nucléaire de BRCA2 et son accumulation et interagit avec la recombinase RAD51.(74)

De récentes études placent *PALB2* comme étant le 3ème gène de susceptibilité du cancer du sein après *BRCA1* et *BRCA2*.(75) Cette étude montre en effet que les mutations menant à des protéines tronquées augmentent le risque de cancer du sein 8 à 9 fois chez les

femmes de moins de 40 ans. Le risque de cancer du sein rejoint celui des mutations *BRCA2* avec un risque cumulé de 33 % à 70 ans en l'absence d'antécédent familial de cancer du sein ($IC_{95\%}$ = 25-44) et de 58 % ($IC_{95\%}$ = 50-66) lorsque l'histoire familiale est démonstrative avec au moins deux cas de cancers du sein rapportés chez des apparentés avant 50 ans.

***BRIP1* (NM_032043.2)**

BRIP1 (*BRCA-Interacting Protein 1*) est un gène localisé sur le chromosome 17 en position 17q23.2 long de plus de 188kb, comportant 20 exons (Figure 14) et codant pour une protéine de 1249 acides aminés : BRIP1.

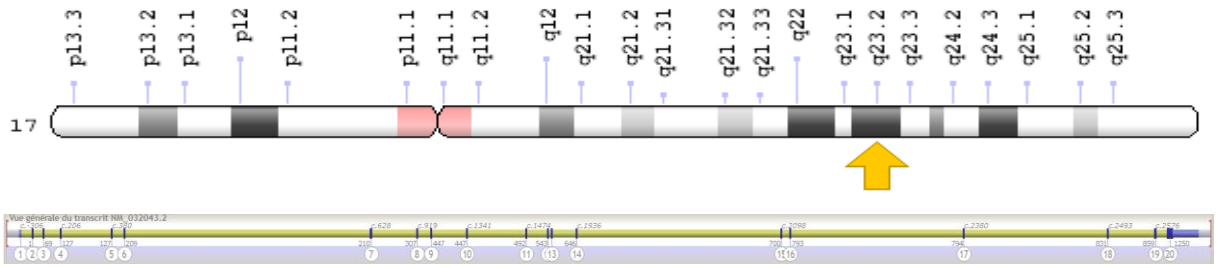


Figure 14 : Localisation et représentation du gène *BRIP1*

BRIP1 est une hélicase impliquée dans les mécanismes de réparation de l'ADN et le contrôle du cycle cellulaire.(76)

Il s'avère que les mutations constitutionnelles mono-alléliques de *BRIP1* sont associées au cancer du sein avec un risque relatif à 2,0 ($IC_{95\%}$ = [1,2;3,2]) (77) et au cancer de l'ovaire avec un risque relatif à 3,4 ($IC_{95\%}$ = [2,1;5,5]).(78)

Les gènes du complexe MRN

Le complexe MRN a été abordé précédemment. Il s'agit d'un complexe de 3 protéines (RAD50, MRE11A et NBS1) qui joue un rôle important dans l'initiation de la réparation d'une liaison d'ADN par recombinaison homologue ou NHEJ. Il est recruté au niveau d'une lésion de l'ADN et recrute à son tour ATM. Ce complexe intervient également dans le contrôle du cycle cellulaire.

La contribution de ces gènes dans la prédisposition héréditaire au cancer du sein n'est pas encore très claire et nécessite d'autres investigations. Le panel utilisé comprend les gènes *RAD50*, *MRE11A* et *RAD51C* dont la protéine interagit avec le complexe MRN.

RAD50 (NM_005732.3)

RAD50 est un gène localisé en position chromosomique 5q31.1, long d'environ 92 kb, comprenant 25 exons (Figure 15) codant pour une protéine de 1312 acides aminés : RAD50.

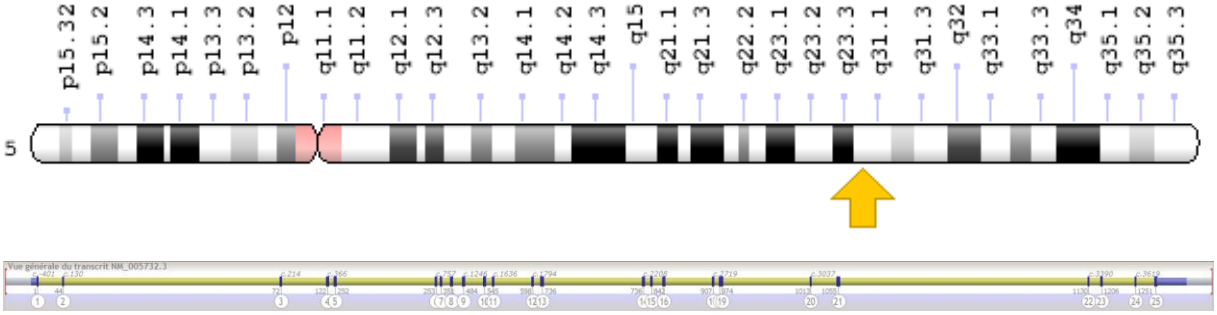


Figure 15 : Localisation et représentation du gène *RAD50*

RAD50 est une protéine à activité ATPase et adenylate kinase Rad50 qui, associé à Mre11, faciliterait l'interaction entre les molécules d'ADN pendant la réparation.(79) L'ATP est en effet un cofacteur essentiel pour la fixation du complexe MRN à l'ADN et la séparation du co-complexe MRN-ADN est dépendante de l'hydrolyse de l'ATP.(80)

MRE11A (NM_005590.3)

MRE11A est un gène localisé en position chromosomique 11q21 long d'environ 81 kb, comprenant 20 exons (Figure 17), codant pour une protéine de 708 acides aminés : MRE11A.

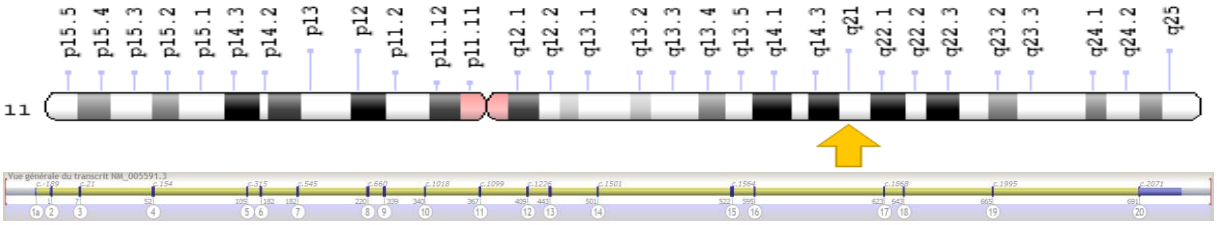


Figure 16 : Localisation et représentation du gène *MRE11A*

Cette protéine joue un rôle dans la recombinaison homologue et non homologue ainsi que dans la stabilité et le maintien de la longueur des télomères. MRE11A possède un domaine de liaison à de l'ADN simple ou double-brin dans sa région C-terminale et possède une activité nucléasique impliquée notamment dans le processus de recombinaison homologue. (82)

RAD51 (NM_058216.1)

RAD51C est un gène localisé en position chromosomique 11q22, long d'environ 46 kb, composé de 9 exons (Figure 16) codant pour une protéine de 376 acides aminés : RAD51C.

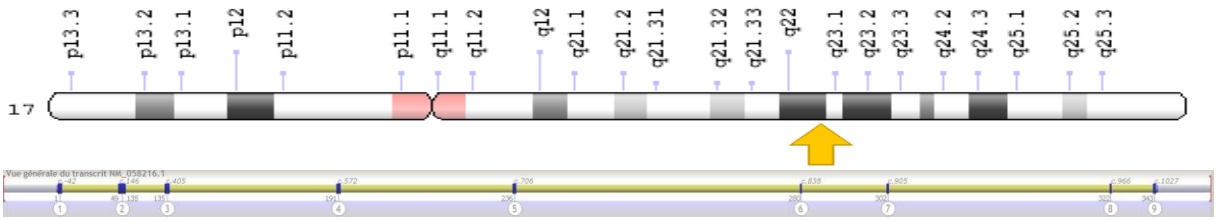


Figure 17 : Localisation et représentation du gène *RAD51C*

RAD51C est impliqué dans le processus de recombinaison homologue où elle intervient après l'activité exonucléasique 3'-5 du complexe MRN. Cette action induit la formation de fragments d'ADN simple brin sur lesquels se lie la protéine RAD52 qui peut interagir avec la protéine RAD51 (codée par le gène *RAD51*, paralogue du gène *RAD51C*) associée à un brin matrice par l'intermédiaire d'un complexe protéique comprenant RAD51C.(81)

3) Gènes de prédisposition à pénétrance faible

Le risque tumoral résiduel pourrait correspondre à un modèle polygénique combinant les effets multiplicatifs de plusieurs variants génétiques qui sont fréquents en population mais conférent des risques modérés de cancer. Les gènes impliqués, de faible pénétrance, sont dits de prédisposition mineure.

Les variants découverts ont pu l'être grâce à des études d'association. De nombreux SNPs, à fréquence allélique élevée sont significativement associés à la survenue de cancers du sein.

En résumé, seulement 5 % de l'ensemble des cancers du sein sont d'origine constitutionnelle et dans cette catégorie, *BRCA1* et *BRCA2* représentent environ 25 % des cas et plus de la moitié des familles présentent une susceptibilité génétique non encore connue à ce jour. (Figure 18)

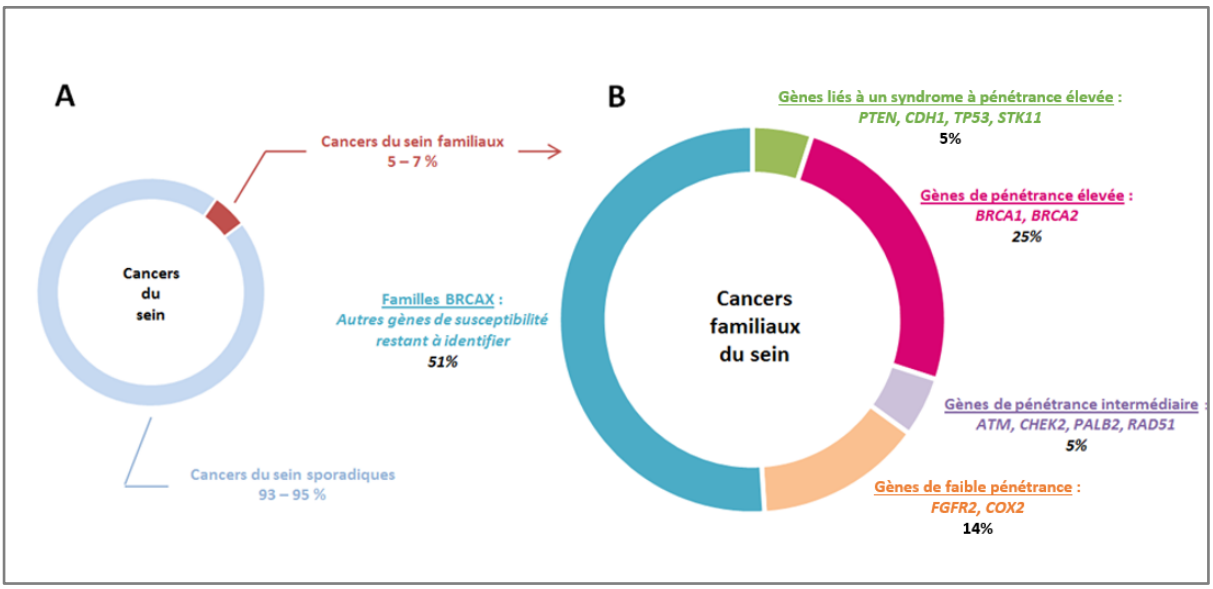


Figure 18 : Distribution des cancers du sein selon leur origine héréditaire ou sporadique (A) et selon la classe du gène impliquée (B). D'après (83)

I.4 - SYNDROME DE LYNCH

Le syndrome de Lynch ou Cancer colorectal héréditaire sans polypose (HNPCC) est une maladie génétique à transmission autosomique dominante avec pénétrance incomplète et expressivité variable, liée à une mutation au sein d'un des gènes du système MMR (MisMatch Repair).

I.4.1 Epidémiologie

Le syndrome HNPCC est la forme la plus fréquente de cancer colorectal héréditaire. Il s'agit malgré tout d'un syndrome rare : il ne représente en effet que 3 % de tous les cancers colorectaux. Chez les patients atteints de ce syndrome, l'étude ERISCAM (Estimation des RISques de Cancer chez les porteurs de mutation des gènes *MLH1, MSH2* et *MSH6*) a estimé le risque cumulé de développer un cancer du spectre HNPCC à 70 ans est estimé à : 45 % ($IC_{95\%}$=[32;59]) chez l'homme et 54 % ($IC_{95\%}$=[41;70]) chez la femme. Le risque de cancer colorectal à 70 ans est de 38 % ($IC_{95\%}$=[25;59]) chez l'homme et 31 % ($IC_{95\%}$=[19;50]) chez la femme. Chez cette dernière, le risque de cancer de l'endomètre à 70 ans est de 33 % ($IC_{95\%}$=[16;57]) et le risque de cancer de l'ovaire à 70 ans de 9 % ($IC_{95\%}$=[4;31]). Les risques sont différents en fonction du gène muté, avec des risques plus faibles pour *MSH6* en comparaison de *MLH1* et *MSH2*. Les risques cumulés de développer un cancer du spectre HNPCC à 70 ans sont pour *MLH1* et *MSH2*, respectivement de 59 % ($IC_{95\%}$=[44;79]) et 57 % ($IC_{95\%}$=[38;78]), contre 25 % ($IC_{95\%}$=[17;41]) pour *MSH6*. (123)

I.4.2 Clinique

Le syndrome HNPCC est caractérisé par le risque de développer un cancer dans un large spectre tumoral, appelé « spectre HNPCC » : le risque est élevé pour le cancer colorectal et celui de l'endomètre, plus modéré pour le cancer de l'intestin grêle, des voies urinaires excrétrices, des voies biliaires, de l'estomac et de l'ovaire.

Ce syndrome est suspecté devant la présence des critères d'Amsterdam (124) (125) :

- Au moins 3 sujets atteints de cancers du spectre du syndrome de Lynch histologiquement prouvés
- Les sujets atteints doivent être unis deux à deux par un lien de parenté au 1er degré sur deux générations
- Un des cancers doit avoir été diagnostiqué avant l'âge de 50 ans

- Une Polypose adénomateuse familiale doit être exclue

I.4.3 Prédisposition héréditaire

Le syndrome de Lynch est dû à la présence d'une mutation constitutionnelle d'un gène du système MMR. Quatre gènes sont particulièrement incriminés : *MSH2* (MutS Homolog Human 2), *MLH1* (MutL Homolog Human 1), *MSH6* (MutS Human Homolog 6) et *PMS2* (PostMeiotic Segregation Increased 2), codant pour des protéines du système MMR et chargées de veiller à l'intégrité du génome et de les corriger. (126)

La fidélité de la réplication de l'ADN est responsable en grande partie de la stabilité du génome. Mais le faible taux de mutation du processus réplicatif, estimé entre 10^{-9} et 10^{-10} (127) n'est pas exclusivement dû à la haute fidélité de la polymérase mais également à l'existence de mécanismes de réparation, agissant de manière séquentielle. (Figure 19) Tout d'abord, la fidélité intrinsèque de l'ADN polymérase permet la sélection de la base complémentaire au brin matrice. Leurs erreurs commises peuvent être corrigées par l'activité exonucléasique de la polymérase, ayant une fonction d'édition de son propre travail, appelée « proofreading ». Une dernière étape permet de diminuer encore le taux final d'erreur : il s'agit du système post-réplicatif de réparation des mésappariements aussi appelé système MMR. Les protéines MMR sont des protéines ubiquitaires, exprimées dans la majorité des tissus normaux et tumoraux. Le processus post-réplicatif correctif est constitué de 4 étapes ainsi shématisables:

1/ l'hétéro-dimère MutS-alpha, constitué des protéines MSH2 et MSH6 reconnaît le mésappariement

2/ Et recrute le second hétéro-dimère MutL-alpha constitué de MLH1 et PMS2

3/ PMS2 grâce à son activité endonucléasique crée une incision dans le brin complémentaire, permettant alors à EXO 1, une 5' exonucléase, d'exciser le brin contenant l'erreur.

4/ Enfin, la réparation se termine avec l'ADN polymérase qui re-synthétise le fragment excisé.

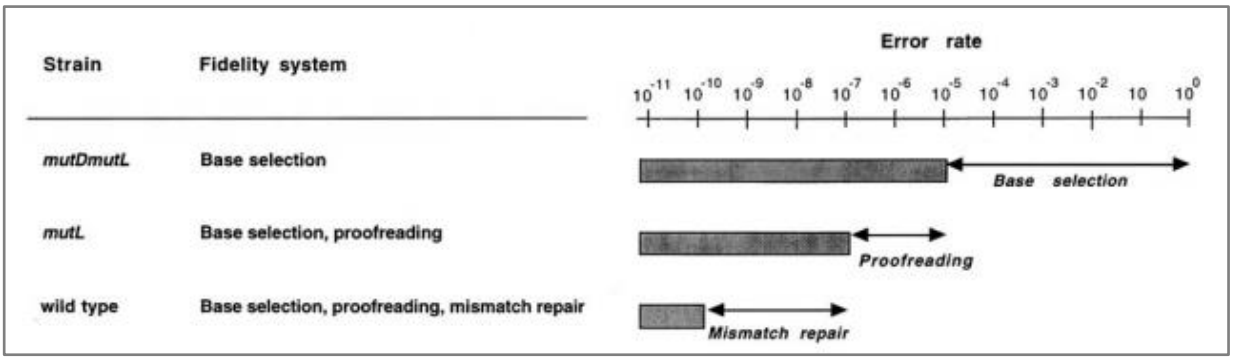


Figure 19 : Les différents systèmes de fidélité et leurs taux d'erreurs. D'après (18)

Les principaux gènes incriminés

Les positions chromosomiques correspondant aux gènes *MSH2* et *MLH1* ont été mises en évidence en 1993, respectivement en position 2p15-16 et 3p21 grâce à des études de liaisons familiales. Ces gènes ont pu être identifiés grâce à leur homologie avec les gènes bactériens *MutS* et *MutL* alors connus pour être impliqués dans les mécanismes de réparation des mésappariements de l'ADN.(128) (129). En 1997, un autre homologue de *MutS*, *MSH6*, a été identifié dans des familles atteintes où des sujets étaient atteints du syndrome de Lynch.(130)

MSH2 (NM_000251.2)

Gène situé en position chromosomique 2p21-p16.3 d'environ 24 kb, comportant 16 exons (Figure 20) codant pour une protéine de 934 acides aminés : MSH2.

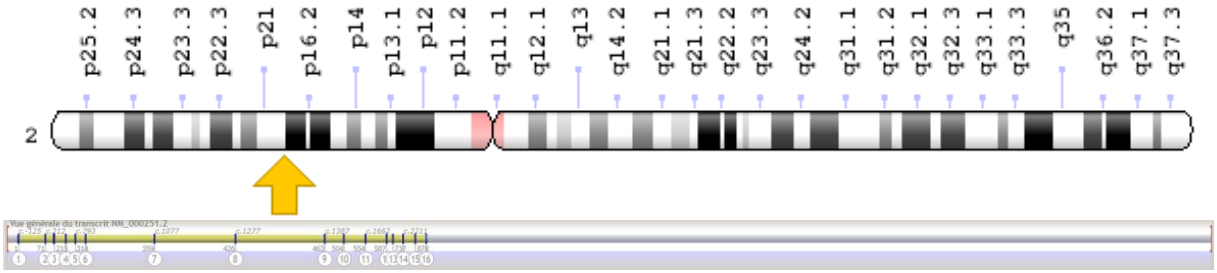


Figure 20 : Localisation et représentation du gène *MSH2*

La base de données InSiGhT (The International Society of Gastrointestinal Hereditary Tumours) référence (août 2017) 317 mutations de *MSH2* ce qui représente 35 % des 904 mutations référencées ayant été retrouvées chez des patients avec un syndrome de Lynch.

MLH1 (NM_000249.3)

Gène situé en position chromosomique 3p21 de 61 KB, comportant 19 exons (Figure 21) codant une protéine de 756 acides aminés : MLH1.

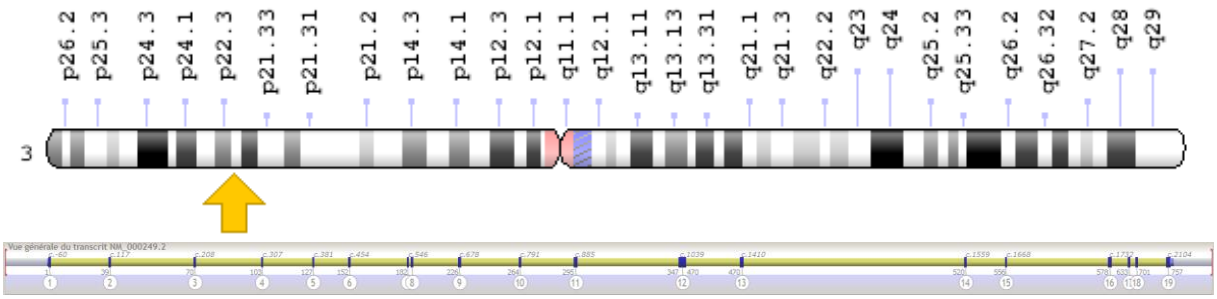


Figure 21 : Localisation et représentation du gène *MLH1*

La base de données InSiGhT (The International Society of Gastrointestinal Hereditary Tumours) référence (août 2017) 496 mutations de *MLH1* ce qui représente 55 % des 904 mutations référencées ayant été retrouvées chez des patients avec un syndrome de Lynch.

MSH6 (NM_000179.2)

Gène situé en position 2p16.3 de 27872 paires de bases, comportant 10 exons (Figure 22) et codant pour une protéine de 1360 acides aminés : MSH6.

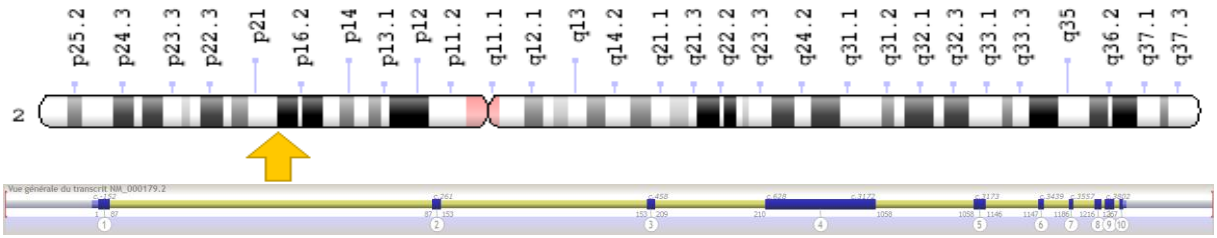


Figure 22 *:* Localisation et *représentation du gène MSH6*

La base de données InSiGhT référence (août 2017) 82 mutations de *MSH6* ce qui représente 9 % des 904 mutations référencées ayant été retrouvées chez des patients avec un syndrome de Lynch.

PMS2 (NM_000535.5)

Gène situé en position chromosomique 7p22.1 de 42 kb, constitué de 15 exons (Figure 23) codant pour une protéine de 862 acides aminés : PMS2.

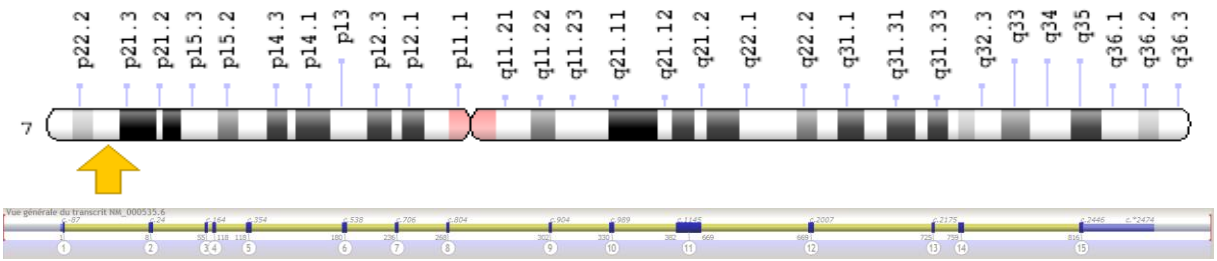


Figure 23 : Localisation et représentation du gène *PMS2*

La base de données InSiGhT référence (août 2017) 8 mutations de *PMS2* ce qui représente moins de 1 % des 904 mutations référencées ayant été retrouvées chez des patients avec un syndrome de Lynch.

A noter que les seuls exons pour lesquels les mutations de *PMS2* sont rendues à l'Institut Bergonié sont les exons 6, 7, 8 et 10 du fait de la présence de nombreux pseudogènes touchant les exons 1 à 5, le 9ème et les 5 derniers. (131) (132)

EPCAM (NM_002354.2)

Gène situé en position chromosomique 2p21 de 21881 paires de bases, constitué de 15 exons (Figure 24) codants pour une protéine de 314 acides aminés : EPCAM.

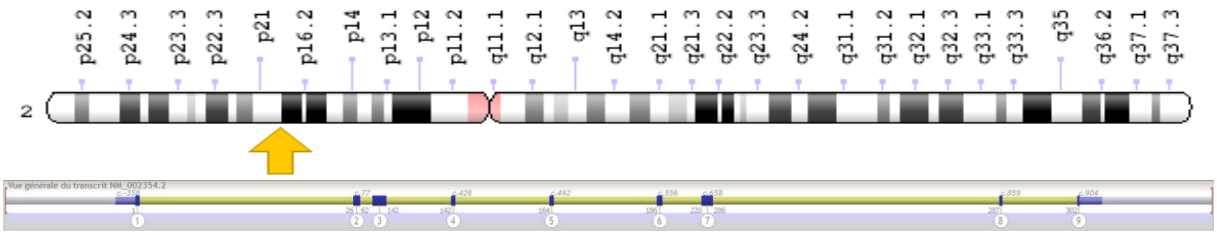


Figure 24 : Localisation et représentation du gène *EPCAM*

L'implication du gène *EPCAM* dans le syndrome de Lynch vient en réalité de sa localisation à proximité du gène *MSH2*. L'effet délétère survient dans le cadre de délétions de la terminaison 3' du gène *EPCAM*. En effet, dans ce cas de figure la délétion emporte la séquence de terminaison de la transcription, induisant alors un transcrit de fusion EPCAM-MSH2 ayant pour conséquence de rendre silencieux MSH2 par hyperméthylation de son promoteur. (133)

I.5 - SYNDROME DE GORLIN

Egalement nommé Naevomatose basocellulaire, NBCCS ou syndrome de Gorlin-Goltz

I.5.1 Epidémiologie

Le syndrome de Gorlin est un syndrome rare dont la prévalence est estimée entre 1 sur 57 000 et 1 sur 256 000 avec un ratio hommes/femmes de 1:1.(103)

I.5.2 Clinique

Le syndrome de Gorlin se manifeste par un ensemble d'anomalies du développement et une prédisposition à certains cancers qui fait toute la gravité de la maladie. La symptomatologie clinique apparaît de manière progressive, pouvant engendrer un diagnostic tardif.

I.5.2.1 Atteinte odontologique

Des kystes odontogéniques, en particulier des maxillaires, sont fréquemment retrouvés chez les sujets atteints avec une fréquence d'environ 80 %.

I.5.2.2 Atteinte dermatologique

Les naevi basocellulaires, retrouvés dans plus de 90 % des cas de syndrome de Gorlin, constituent l'un des principaux signes de la maladie. Ils ont un potentiel évolutif de dégénérescence maligne avec apparition précoce de carcinomes basocellulaires, fréquemment entre la 1ère et la 2ème décennie (104) Il s'agit le plus souvent de lésions nodulaires ou superficielles. Leur nombre est variable, de quelques éléments à plusieurs milliers, principalement localisés sur le visage, le thorax et le dos. (Figure 25A)

L'hyperkératose palmo-plantaire est un autre signe majeur. On parle encore de pits ou de puits de kératine palmo-plantaire. Ils surviennent également à un âge précoce et sont présent chez environ 65 à 87 % des cas. (105) (Figure 25B)

Les autres manifestations cutanées sont des kystes épidermoïdes, des lipomes, des molluscums.

I.5.2.3 Atteinte squelettique

On peut également retrouver des anomalies costales, présentes chez environ 40 % des sujets, à type de côtes bifides, d'agénésie ou de synostose.(106)

Une dysmorphie faciale avec macrocéphalie, fente labio-palatine et anomalie oculaire sévère est souvent retrouvée chez les patients atteints du syndrome de Gorlin. Une macrocéphalie est présente chez 1 patient sur 2.

On peut également noter des anomalies vertébrales, des polydactylies, une déformation dite de Sprengel ou élévation congénitale de la scapula.

I.5.2.4 Atteinte neurologique

Parmi les patients présentant un syndrome de Gorlin, 5 à 10 % développent un médulloblastome. Il convient de penser à un syndrome de Gorlin particulièrement chez les enfants avant l'âge de 5 ans (107) surviennent plus précocement que dans la population générale, majoritairement dans les 2 premières années alors que le pic dans la population générale se situe vers 7-8 ans (108)

Un déficit intellectuel ainsi que des difficultés d'apprentissage ont été rapportés chez environ 5 % des patients.

I.5.2.5 Autres atteintes

Les sujets atteints du syndrome de Gorlin peuvent également présenter des troubles oculaires, génito-urinaires et cardiovasculaires.

Il existe fréquemment une calcification de la faux du cerveau, chez 65 à 85 % des patients selon les auteurs (109) (110) et parfois de la tente du cervelet. (Figure 25C)

A)

B)

C)

Figure 25 : Manifestations cutanées et osseuses du syndrome de Gorlin. A) Carcinomes baso-cellulaires multiples de la face (Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology) B) Pits palmoplantaire (José Juan Pereyra-Rodríguez et Al, 2010) C) Calcification de la faux du cerveau (Kimonis et al, 2004)

I.5.2.6 Diagnostic clinique

La multiplicité des signes cliniques a conduit à l'élaboration de critères diagnostiques (Tableau 3). La présence de deux signes majeurs et un mineur ou un majeur et trois mineurs est nécessaire pour établir le diagnostic.

Critères majeurs	Critères mineurs
Carcinomes baso cellulaires multiples (>2) ou 1 diagnostiqué avant 20 ans - Kératokystes odontogéniques confirmés histologiquement - ≥ 3 pits palmo-plantaires - Calcification ectopique (lamellaire ou de la faux du cerveau) - Côtes bifides, fusionnées ou nettement écartées - Histoire familiale de naevomatose baso-cellulaire	- Macrocéphalie ajustée à la taille (≥97^{e} percentile) - Pont de la selle turcique, anomalie des vertèbres, anomalie des mains et des pieds - Fente labiale ou palatine, polydactylie - Fibrome cardiaque ou ovarien - Médulloblastome - Autres anomalies squelettiques : Sprengel, atteinte du pectus ou syndactylie marquées - Atteinte oculaire : cataracte, colobome, microphtalmie - Mutation de PTCH

Tableau 3 : Critères majeurs et mineurs du syndrome de Gorlin. D'après (111)

I.5.3 Prédisposition héréditaire

Le syndrome de Gorlin est une génodermatose rare transmise sur le mode autosomique dominant, à pénétrance complète et à expressivité variable. Le gène incriminé est *PTCH1* (*Patched* ou *PTC*).

***PTCH1* (NM_000264.3)**

Sa localisation a initialement été trouvée grâce à une étude familiale de liaison génétique en 1992 : il se situe sur le chromosome 9, en position 9q22.3-q31. L'utilisation des marqueurs du chromosome 9q a mis en évidence une perte d'hétérozygotie de cette région dans les carcinomes basocellulaires, orientant donc vers un gène suppresseur de tumeur.(112) *PTCH1* a ensuite été a été identifié en 1996. (113) (114). Il s'agit d'un gène de

presque 78kb constitué de 24 exons codant pour une protéine de 1447 acides aminés. (Figure 26)

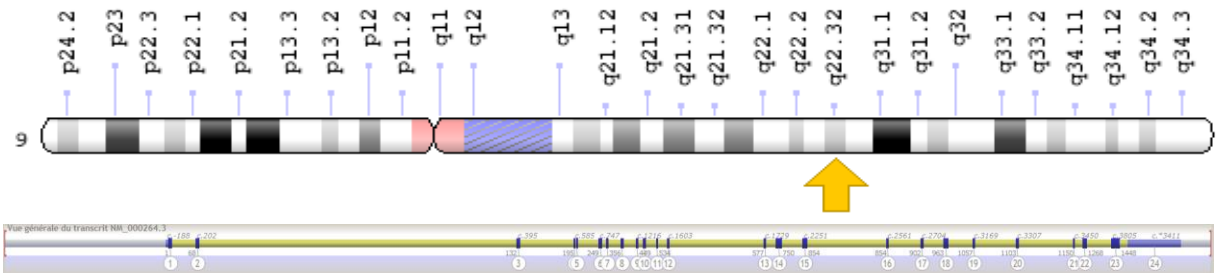


Figure 26 : Localisation et représentation du gène *PTCH1*

Le gène *PTCH1* est homologue du gène *Patched* chez la drosophile, responsable de la segmentation en intervenant dans la voie de signalisation Patched/Sonic Hedgehog qui est impliquée dans le contrôle du développement embryonnaire et la prolifération cellulaire.

Cette voie de signalisation (Figure 27) fait intervenir plusieurs acteurs. Outre PTCH1, il y a notamment Hedghog et Smo. Hedgehog est une protéine codée par le gène *Shh* et qui se lie à PTCH1. Smoothened, codée par le gène *Smoothend* est un récepteur couplé aux protéines G. Activateur, Smo agit comme un proto-oncogène. En l'absence de Hedgehog, PTCH1 agit comme un régulateur négatif, un inhibiteur de Smo, qui est donc inactif. La liaison de Hedgehog à PTCH1 permet la transduction du signal vers le noyau par activation de Smo dont la cible finale est le facteur de transcription Gli qui forme un complexe de 3 protéines : Costal2, Fused et le facteur suppresseur de fused (SUFU). Lorsque Smo est activé, le complexe se dissocie et Gli est un activateur transcriptionnel des gènes cibles que sont *Wg*, *dpp* et *Ptch1*.

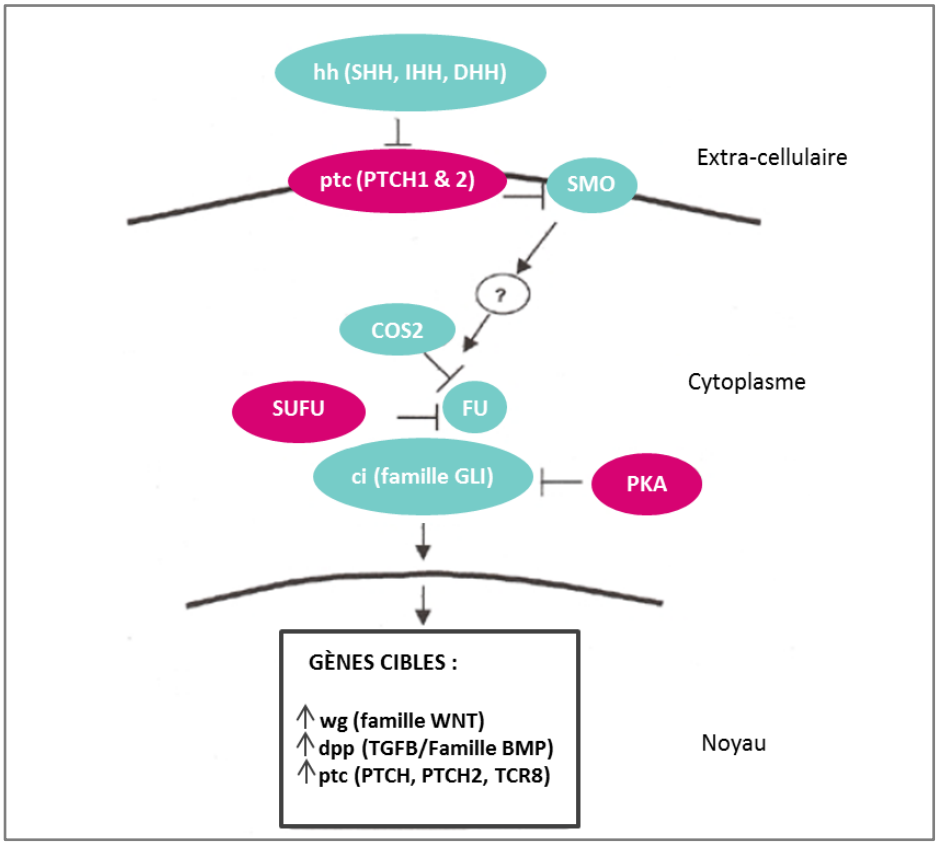


Figure 27 : Voie de signalisation impliquant *PTCH1*. D'après (115)

Bien que tous les types de mutations soient retrouvés, la majorité des mutations concernant le gène *PTCH1* sont des mutations de type frameshift aboutissant à la formation d'un codon stop prématuré et de fait à la production d'une protéine tronquée non fonctionnelle. Ces mutations lèvent donc l'inhibition de Patched sur Smoothened, entraînant alors l'activation permanente de la voie Sonic Hedgehog. Il n'a pas par ailleurs pas été noté de zone de points chauds, les mutations se répartissant sur l'ensemble des 23 exons codant. (116) (117)

Il n'existe pas de corrélation entre la mutation portée par *PTCH1* et la présentation phénotypique. Les tableaux cliniques peuvent en effet différer chez 2 patients porteurs de la même mutation, laissant présager l'existence d'autres facteurs, génétiques ou environnementaux.(118) Il existe en effet une hétérogénéité génétique avec des exemples de familles portant des mutations dans le gène *SUFU*. Il existe néanmoins dans une certaine mesure une relation entre le phénotype et le génotype. (119) En effet, les patients porteurs d'une mutation dans *PTCH1* sont susceptibles d'être diagnostiqués plus précocement que les non porteurs, ceux ayant une mutation faux-sens de *PTCH1* sont diagnostiqués plus

tardivement et développent moins de carcinomes basocellulaires que ceux ayant une mutation tronquante de *PTCH1*.

SUFU (Suppressor of Fused Homolog) (NM_016169.3)

SUFU est un gène localisé en position chromosomique 10q24.32. Il est long de plus de 133kb comprend 12 exons et code une protéine de 484 acides aminés. (Figure 28)

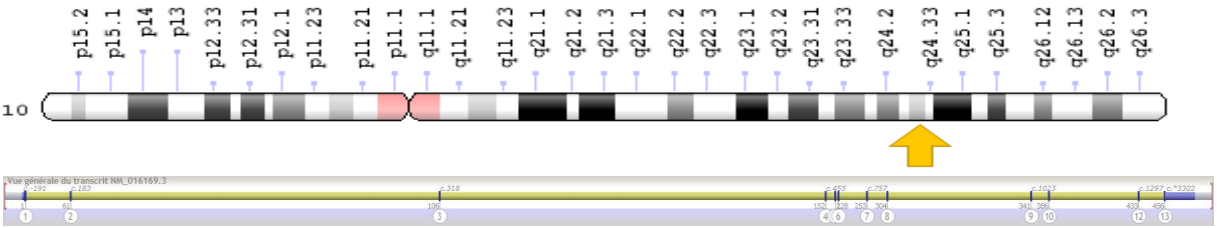


Figure 28 : Localisation et représentation du gène *SUFU*

SUFU est un gène suppresseur de tumeurs régulateur négatif de la voie Sonic/Hedgehog qui prédispose aux médulloblastomes. (120) Des cas de patients présentant les critères diagnostiques permettant de poser le diagnostic de syndrome de Gorlin et dépourvues de mutation dans *PTCH1* ont révélé l'existence d'une mutation du gène *SUFU*. (121). Ce cas de figure est rare mais est cohérent avec la physiologie de la voie de signalisation Sonic Hedgehog décrite précédemment. Une étude réalisée en 2006 sur des souris a montré que l'ablation de *SUFU* chez la souris provoque la mort embryonnaire alors qu'une souris *SUFU*+/- développe un phénotype cutané à type de carcinomes basocellulaires et de kystes odontogéniques, caractéristiques du syndrome de Gorlin. (122)

Il existe également une relation génotype-phénotype concernant *SUFU* : les patients avec un variant pathogène de *SUFU* sont davantage susceptibles de développer un médulloblastome, un méningiome ou un fibrome ovarien mais moins susceptible de développer un kyste odontogénique que les patients ayant une mutation pathogène de *PTCH1*.

I.6 - SYNDROME DE COWDEN

I.6.1 Epidémiologie

Du fait d'un polymorphisme clinique très important et de l'absence de spécificité de la majorité des signes cliniques, le diagnostic du syndrome de Cowden peut s'avérer délicat. La prévalence réelle est donc inconnue et vraisemblablement sous-évaluée. Elle a été estimée à 1 sur 200 000.(84) Les manifestations cliniques apparaissent surtout pendant la deuxième décennie et ce syndrome présente un risque accru de développer plusieurs tumeurs malignes.

I.6.2 Clinique

La maladie de Cowden fait partie des syndromes hamartomateux. L'aspect phénotypique peut être très varié. Bien que les lésions hamartomateuses puissent se situer dans n'importe quel organe, elles sont majoritairement présentes au niveau cutané et gastro-intestinal.

I.6.2.1 Atteinte cutanéo-muqueuse

La peau est atteinte dans 90 à 100 % des cas. Les manifestations sont diverses :

- Trichilemmome : hamartomes bénins de la gaine folliculaire externe du follicule pileux. Ils sont souvent retrouvés au niveau des plis nasogéniens, axillaires, génitaux et cruraux.
- Papules cutanées : localisées sur le visage, en particulier en région péri-bucco-nasale. Lorsqu'elles sont en nombre élevé, elles donnent un aspect pavimenteux. (Figure 29A)
- Papillomatose buccale : traduit une hyperplasie papillomateuse de la muqueuse malpighienne. Peut toucher les joues, la langue, le bord muqueux des lèvres ou elle donne un aspect pavimenteux. L'aspect de la muqueuse gingivale sous forme d'un piqueté blanchâtre est caractéristique. (Figure 29 B et C)
- Kératose acrale : lésions palmo-plantaires à type de puits cornés associés à des lésions verruqueuses des faces d'extension des extrémités des membres.

I.6.2.2 Atteinte gastro-intestinale

En plus de la papillomatose évoquée ci-avant, le tractus gastro-intestinal est la cible de lésions sous forme d'acanthose glycogénique et de polypes de l'œsophage, de l'estomac, de l'intestin grêle et du côlon. Malgré ces anomalies, le risque de cancer colorectal ne semble que modérément augmenté.

I.6.2.3 Atteinte thyroïdienne

La thyroïde est fréquemment atteinte dans la maladie de Cowden. Il s'agit le plus souvent d'un goitre multinodulaire, pouvant associer des lésions adénomateuses, dystrophiques et kystiques. Le risque de l'atteinte thyroïdienne est le développement de lésions malignes. Il s'agit alors de carcinomes folliculaires ou papillaires. Il n'y a en revanche pas d'augmentation du risque de carcinome médullaire de la thyroïde.

I.6.2.4 Atteinte mammaire

Plus de la moitié des patients présentent une anomalie de la glande mammaire de type fibro-kystiques ou fibro-adénomateuses. L'atteinte mammaire est particulièrement à surveiller car entre un quart et la moitié des femmes atteintes du syndrome de Cowden vont développer un cancer du sein. L'âge médian au diagnostic est compris entre 38 et 46 ans. (85) Il s'agit dans la majorité des cas d'adénocarcinomes canalaires infiltrants.

I.6.2.5 Atteinte endométriale

Le principal risque de cette atteinte est une dégénérescence maligne. Le risque étant, dans le cadre du syndrome de Cowden, de 5 à 10 % versus 2,6 % dans la population générale. (86)

I.6.2.6 Atteinte neurologique

Chez les sujets atteints du syndrome de Cowden, il est possible de noter un retard mental, rare et souvent modéré. La maladie de Lhermitte-Duclos, quant à elle, peut s'intégrer dans syndrome de Cowden. (87) Il s'agit d'une atteinte du système nerveux central à type de gangliocytome dysplasique cérébelleux au niveau de la fosse postérieure.

I.6.2.7 Autres atteintes

Des anomalies squelettiques sont fréquemment décrites. Ainsi, une macrocéphalie est retrouvée chez la quasi-totalité des patients. Des anomalies génito-urinaires peuvent

également survenir, surtout de type léiomyomes et kystes ovariens. Des lésions vasculaires ont aussi été décrites à titre d'hémangiomes cutanés et d'anomalies veineuses intracrâniennes. Les lipomes sous-cutanés sont fréquents

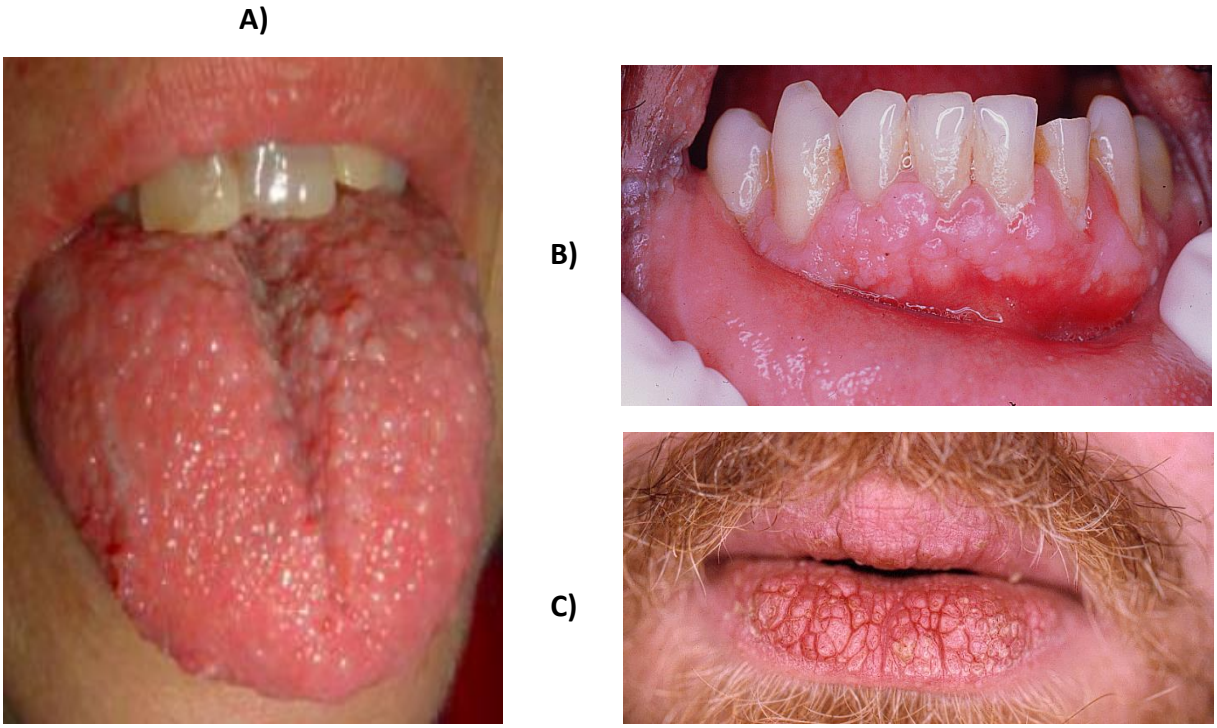


Figure 29 : Manifestation muqueuses de la maladie de Cowden A) Papules linguales multiples (Med. oral patol. oral cir.bucal sep. 2006) B) Papillomatose gingivale (Institut Bergonié) C) aspect pavimenteux des lèvres (Institut Bergonié).

I.6.2.7 Diagnostic clinique

Les critères cliniques ont fait l'objet de plusieurs conférences de consensus par le NCCN (National Comprehensive Cancer Network). La dernière révision date de 2016

Des critères ont été définis afin de cibler les tests en particuliers chez les personnes présentant un antécédent familial de mutation délétère de PTEN ainsi que des critères majeurs et/ou mineurs (Tableau 4).

La recherche de mutation doit ainsi être effectuée lorsque le patient présente au moins 2 critères majeurs dont la macrocéphalie, 3 critères majeurs sans la macrocéphalie, 1 critère majeur et plus de 3 critères mineurs ou bien au moins 4 critères mineurs.

Critères majeurs	Critères mineurs
Cancer du sein - Cancer de l'endomètre - Cancer folliculaire de la thyroïde - Hamartomes gastrointestinaux multiples - Macrocéphalie - Pigmentation maculaire du penis - Lesions cutanomuqueuses: trichilemme confirmé par une biopsie - Kératoses palmo-plantaires multiples - Papillomatose de la muqueuse orale multifocale ou extensive - Papules cutanées faciales multiples	Troubles du spectre autistique - Cancer du colon - Plus de 3 acanthoses glycogéniques de l'œsophage - Lipomes - Déficience intellectuelle (QI ≤ 75) - Cancer papillaire de la thyroïde ou variante folliculaire - Lésions structurelles de la thyroïde (adénome, nodule, goitre …) - Carcinome rénal - Hamartome gastrointestinal unique - Lipomatose testiculaire - Anomalies vasculaires

Tableau 4 : Critères diagnostiques du syndrome de Cowden

I.6.3 Prédisposition héréditaire

Le syndrome de Cowden, ou syndrome des hamartomes multiples est un syndrome de prédisposition héréditaire aux tumeurs initialement décrit en 1963 par Lloyd et Dennis chez une patiente, Rachel Cowden, qui présentait des hamartomes multiples, une dysmorphie squelettique, des adénomes thyroïdiens multiples, des lésions fibrokystiques des seins ainsi que des anomalies neurologiques. (88) L'anamnèse familiale de cette patiente mit alors en lumière la présence de lésions similaires chez 5 autres membres dans sa branche maternelle. C'est en 1996 qu'a été identifié le locus du syndrome de Cowden, par analyse de liaison, dans la région 10q23. (89) L'année suivante, trois autres équipes poursuivant des stratégies différentes séquencent le gène *PTEN (Phosphatase and TENsin homolog on chromosome TEN)* (90). Ce gène, également connu sous le nom *MMAC1 (Mutated in Multiple Advanced Cancers),* se retrouve impliqué dans plus de 80 % des familles présentant un syndrome de Cowden (91). *PTEN* code pour une phosphatase à double spécificité longue de 403 aminés, PTEN, présente dans la majorité des cellules de l'organismes à la fois dans le cytoplasme et le noyau.(92) Il est constitué de 9 exons (Figure

30), les 6 premiers codant le domaine N-terminal et les 3 derniers le domaine C-Terminal. (93)

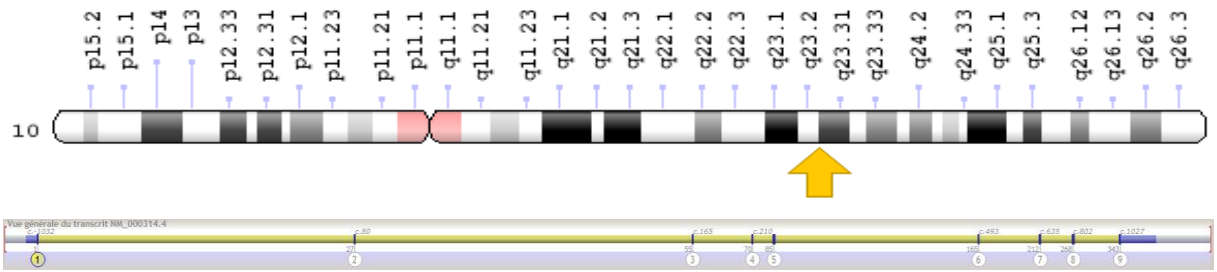


Figure 30 : Localisation et représentation du gène *PTEN*

Le gène *PTEN* est un gène suppresseur de tumeur. En effet, il déphosphoryle les phosphatidyl-inositol (3,4,5) triphosphates [PI(3,4,5)P3] qui est le produit de la phosphorylation du phosphatidyl-inositol (3,4) bi-phosphate (PIP2) par une protéine kinase, la PI3K, en réponse à l'activation de récepteurs membranaires de type Tyrosine Kinase. Son action cytoplasmique est antagoniste à celle de la Phosphatidyl-inositol 3'-kinase (*PI3K*). Grâce à cette action de déphosphorylation, PTEN induit une diminution de la concentration intracellulaire en PI(3,4,5)P3, substrat de la protéine kinase Akt et, de facto, un blocage de la voie de signalisation cellulaire d'Akt/mTOR. Etant donné que la fonction d'Akt est le contrôle de la survie cellulaire par prolifération cellulaire et inhibition de l'apoptose, PTEN exerce un contrôle négatif sur la survie cellulaire. (Figure 31) En inhibant PI3K, PTEN joue également un rôle dans 2 autres voies de signalisation médiées par rac et cdc42 portant sur la réorganisation des filaments d'actine et donc la mobilité cellulaire. Par ailleurs, PTEN joue un rôle dans le cycle cellulaire en bloquant le cycle cellulaire en phase G1 en diminuant le taux de cycline D1 et en augmentant celui de p27. (94)

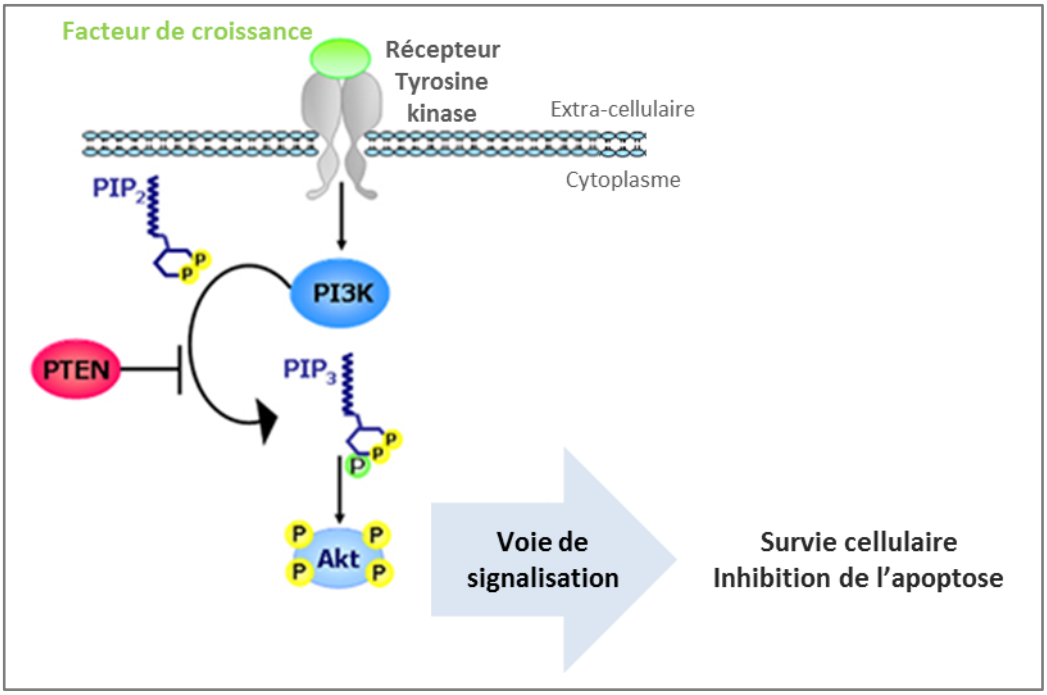


Figure 31 : Voie de signalisation impliquant *PTEN*. D'après (95)

Lorsque PTEN est inactivée, il en résulte alors une activation de la voie PI3K/Akt/mTOR qui se traduit par une augmentation de la prolifération cellulaire (96), une diminution de la mobilité cellulaire (97) et une diminution de l'apoptose (98), aboutissant dans des modèles murins à une symptomatologie proche de celle retrouvée chez l'homme avec des tumeurs thyroïdiennes, endométriales, hépatiques, prostatiques et gastro-intestinales. (99) (100). En sachant que des mutations somatiques de *PTEN* sont fréquemment retrouvées dans des cancers, il semblerait donc que le risque de cancer découle de de l'inactivation de PTEN en activant en conséquence la voie PI3K/Akt/mTOR. (101)

Comme évoqué précédemment, une mutation du gène *PTEN* est retrouvée chez environ 80 % des patients symptomatiques.(91) Elles se situent toutes dans les 8 premiers exons, principalement sur les exons 7, 8 et plus majoritairement encore sur l'exon 5. (91) Sachant qu'il existe une diversité phénotypique chez des patients porteurs de la même mutation, celle-ci ne peut à elle seule expliquer la symptomatologie. Cette dernière pourrait dépendre de co-atteintes, somatiques ou constitutionnelles au niveau d'oncogènes ou de gènes suppresseurs de tumeurs. (87) (102).

II – L'ÉTUDE

II.1 - OBJECTIF

L'objectif de cette étude était de rechercher si les mutations incidentes retrouvées chez l'ensemble des patients ayant bénéficié d'un séquençage de nouvelle génération grâce à un panel de gènes de prédisposition au cancer à l'Institut Bergonié étaient spécifiques des indications posées à l'origine de la prescription et si elles étaient corrélées avec le phénotype familial.

II.2 - MATERIEL ET METHODES

II.2.1 Population étudiée

Il s'agit d'une étude monocentrique réalisée au sein de l'Institut de lutte contre le cancer Bergonié à Bordeaux.

L'institut Bergonié reçoit des prélèvements de multiples établissements de santé français suite à la prescription dans ces centres de demandes de recherche de prédisposition héréditaire aux cancers. Ainsi, les prélèvements de cette étude proviennent de l'Institut Bergonié lui-même mais aussi de Limoges, du CHU de Bordeaux, de Niort, d'Angers, de Bourges, de Clermont-Ferrand, de Nîmes, de Pau et de Poitiers. Les prélèvements reçus s'inscrivent très majoritairement dans la recherche de quatre grandes indications : les recherches de prédisposition héréditaire dans le cas du syndrome seins-ovaire, du syndrome de Lynch, du syndrome de Cowden et du syndrome de Gorlin.

Les patients suspects de prédisposition génétique au cancer ayant bénéficié d'une consultation d'oncogénétique auprès de médecins généticiens et/ou de conseillers en génétique dans l'un des centres précités ont alors subi un prélèvement sanguin contenant l'ADN leucocytaire utilisé pour le séquençage.

Cette étude a été réalisée rétrospectivement en collectant les données de tous les patients ayants bénéficié d'un screening par NGS à l'Institut Bergonié entre mars 2013 et décembre 2015.

Conformément aux règles de bonnes pratiques en génétique constitutionnelle à des fins médicales élaborées par la HAS et l'Agence de Biomédecine, tous les patients inclus ont signé un consentement éclairé. (Annexe 1)

II.2.2 Évaluation du phénotype personnel et familial : modélisation du risque du cancer du sein et de l'ovaire.

Le cancer du sein étant le premier cancer chez la femme, il est intéressant d'estimer la probabilité d'en développer un afin d'adapter la prise en charge préventive à chaque patiente. Différents systèmes de calculs de probabilité de survenue d'un cancer ont été mis en place, tant dans la population générale que dans un contexte héréditaire. Le premier score de risque a été proposé par Gail en 1989.(134). Il reprend les différents facteurs de risques de cancer du sein pour proposer une probabilité d'en être atteint. L'Institut du Cancer Américain (NCI) s'est associé à ce projet et propose désormais le test BRCAT (*BRCA* Tool) directement accessible sur leur page internet www.cancer.gov/bricktool.

Cependant, comme nous l'avons vu précédemment, seule une faible proportion des personnes atteintes de cancer du sein ou de l'ovaire dans la population générale sont porteuses d'une mutation. Il n'est donc pas raisonnable de proposer une recherche à tout le monde. Mais l'identification d'une mutation chez le cas-index est importante car elle permet aux apparentés de connaître leur statut mutationnel et, de fait, de se voir proposer une attitude médicale adaptée, depuis la prise en charge du sur-risque en cas de mutation à la surveillance préconisée dans la population générale en l'absence de mutation délétère. L'évaluation de la probabilité que le patient soit porteur de la mutation est une étape cruciale de la consultation d'oncogénétique. Des modèles ont donc été développés afin d'établir les critères individuels ou familiaux ciblant le plus efficacement la population à haut risque. Il convient d'optimiser l'équilibre entre la proportion de personnes diagnostiquées porteuses d'une mutation parmi celles qui présent les critères (valeur prédictive positive) et la proportion de personnes mutées qu'ils permettront de dépister (sensibilité) tout en conservant une bonne probabilité qu'une personne non porteuse ne présente pas ces critères (spécificité).

Quatre modèles ont été développés récemment pour répondre à cette nécessité : BRCAPRO, BOADICEA, IBIS et le score de Manchester. BRCAPRO est un modèle statistique qui requiert l'utilisation d'un logiciel, créé en 1998 (135) et ayant bénéficié d'ajustements.

L'ensemble des critères pris en compte est répertorié dans le Tableau 5. Le modèle génétique appliqué à ce modèle est celui d'une transmission autosomique dominante de 2 gènes, *BRCA1* et *BRCA2*. Cela constitue donc une limite à ce modèle où ces 2 gènes sont par hypothèse censés être responsable de la totalité des mutations expliquant les antécédents familiaux de cancers du sein et de l'ovaire. Pour pallier cette limite, il est possible d'utiliser BOADICEA (Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Carrier Estimation Algorithm), développé en 2004 et mis à jour en 2013.(136) Il s'agit d'un logiciel calculant le risque de cancer du sein et de l'ovaire chez les femmes en fonction de leur histoire familiale. Il permet également de calculer la probabilité que la patiente soit porteuse d'une mutation délétère de *BRCA1* ou *BRCA2*. Son avantage par rapport au modèle précédent est qu'il tient en effet compte de *BRCA1* et *BRCA2* mais également d'une éventuelle composante polygénique pouvant rendre compte des spécificités non expliquées par ces modèles. Une de ses limites est qu'il ne prend pas en compte les facteurs de risques individuels, comme le propose IBIS. Il est malgré tout recommandé au Royaume-Uni par l'Institut National d'Excellence en Santé et Services sociaux (NICE) et a été incorporé dans les recommandations de plusieurs pays pour l'évaluation du risque des formes familiales de cancer. Le modèle IBIS (également appelé Tyrer-Cuzik) est un outil permettant d'estimer la probabilité pour un patient d'être porteur d'une mutation au sein de *BRCA1* ou *BRCA2*. L'ensemble de ces scores nécessite l'utilisation de logiciels et leur utilisation pratique en consultation est malaisée du fait de l'exhaustivité des informations demandées, ce qui est chronophage et nécessite une exhaustivité des informations connues et fournies par le patient. C'est pour cela qu'a été développé le score d'Eisinger en 2004 à la demande du Ministère de la Santé faisant suite à une mise à jour des recommandations INSERM-FNCLCC de 1998 et 1999. Il s'agit d'un score volontairement simple qui permet de poser l'indication d'une consultation d'oncogénétique en cas de score supérieur ou égal à 3. (Annexe 2-1)(137). En 2004 également, Evans développa le score de Manchester (ou MSS pour Manchester Scoring System) (138) qui a depuis encore évolué à plusieurs reprises. Le but est le même, à savoir estimer la probabilité d'identifier chez un patient une mutation de *BRCA1* ou *BRCA2* mais de manière bien plus simple. En 2004, le score tenait compte de 12 composantes avec des sous-scores pour chacune d'elles qui s'additionnent par branche paternelle ou maternelle. Les composantes sont, pour chaque branche, le nombre de cancers du sein et l'âge à son diagnostic, de l'ovaire, du pancréas et de la prostate retrouvés

chez le patient et ses apparentés, sans considération de l'éloignement. Ce score a été complété en 2009 puis en 2017 par l'ajout d'une pondération de la probabilité en fonction de certains facteurs de risques histologiques ainsi que du statut hormonal. En effet, il intègre depuis le type histologique dans son calcul de probabilité car, comme vu dans les généralités, la prévalence des mutations constitutionnelles de *BRCA1* est augmentée chez les patients présentant une tumeur de type triple négatif. Une des principales critiques pouvant être faite à l'encontre de ce système est qu'il risque de sous-estimer le risque chez les patients pour lequel l'historique familial n'est pas connu.

Tous ces tests ont fait l'objet de multiples comparaisons afin de déterminer le plus performant. Dès la première version du score de Manchester, celui-ci présentait le meilleur compromis entre sensibilité et spécificité à un seuil de 10 % de probabilité que le patient soit porteur d'une mutation de *BRCA1* ou *BRCA2*. Ce seuil est intéressant car il est largement admis comme seuil induisant la prescription d'une recherche de mutation. Depuis, les différentes mises à jour ont encore amélioré les performances de ce score. Une étude récente menée en Suisse francophone a comparé la précision de prédiction des mutations *BRCA1*/*BRCA2* entre plusieurs tests : BRCAPRO, BOADICEA, Myriad et Manchester. Il en est ressorti que ces différents modèles permettaient d'offrir des résultats assez similaires. Une récente approche française, en 2012, a proposé un nouveau système qui tient compte des personnes indemnes et des liens de parenté entre les membres de la famille. Ce système améliore la sensibilité tout en préservant la valeur prédictive positive et la spécificité mais, en complexifiant encore l'utilisation du score par rapport à la méthode BOADICEA par exemple (Annexe 2-2) avec une vaste grille à remplir (Annexe 2-3), cela diminue son adhésion auprès des utilisateurs… raison même de la création des scores d'Eisinger et de Manchester. Il en ressort donc que le score de Manchester est parfaitement adapté à l'estimation en pratique clinique de la probabilité pré-test de mutation de *BRCA1* et *BRCA2*.

	Gail	Clauss	BRCAPRO	BOADICEA	IBIS	IBIS mod	MSS 2009
Facteurs de risques individuels							
Âge de la patiente	oui	oui	oui	oui	oui	oui	oui
Âge aux premières règles	oui				oui	oui	
Âge à la ménopause					oui	oui	
Parité	oui				oui	oui	
Âge à la première naissance	oui				oui	oui	
Indice de masse corporelle					oui	oui	
Biopsie mammaire	oui				oui		
Antécédent d'hyperplasie atypique	oui					oui	
Antécédent de carcinome lobulaire in situ	oui				oui	oui	
Densité mammaire à la mammographie					oui	oui	
Taux circulants d'estrogènes et d'androgènes						oui	
Antécédent de fracture						oui	
Diminution de la taille						oui	
Rapport entre le tour de taille et le tour de hanche						oui	
Densité de l'os de hanche							
Facteurs de risques familiaux							
Cancer du sein, âge au diagnostic		oui	oui	oui	oui	oui	oui
Nombre d'apparentés atteints	oui	oui	oui	oui	oui	oui	oui
Premier degré atteints, âge		oui	oui	oui	oui	oui	oui
Deuxième degré atteints, âge		oui	oui	oui	oui	oui	oui
Troisième degré atteints, âge				oui	oui	oui	
Age des apparentés indemnes			oui	oui	oui	oui	
Cancer de l'ovaire, âge			oui	oui	oui	oui	oui
Cancer du sein chez l'homme, âge	oui		oui	oui			oui
Bilatéralité, âge			oui	oui	oui	oui	oui
Cancer du sein et ovaire			oui	oui	oui	oui	
Cancer de la prostate, âge				oui			oui
Cancer du pancréas, âge				oui			oui
Effet cohorte				oui			
Origine ashkénaze			oui	oui	oui	oui	
Présence d'une mutation BRCA				oui	oui	oui	

Tableau 5 : critères pris en considération pour l'élaboration des scores Gail, Clauss, BRCAPRO, BOADICEA, IBIS et MSS

Afin d'analyser phénotypiquement les patients de notre étude, nous avons donc opté pour le score de Manchester 2004, précisément décrit ci-dessous (Tableau 6) :

	BRCA1	***BRCA2***
Cancer du sein chez une femme avant 30 ans	6	5
Cancer du sein chez une femme entre 30 et 39 ans	4	4
Cancer du sein chez une femme entre 40 et 49 ans	3	3
Cancer du sein chez une femme entre 50 et 59 ans	2	2
Cancer du sein chez une femme après 59 ans	1	1
Cancer du sein chez un homme avant 60 ans	5	8
Cancer du sein chez un homme après 60 ans	5	5
Cancer de l'ovaire avant 60 ans	8	5
Cancer de l'ovaire après 60 ans	5	5
Cancer du pancréas	0	1
Cancer de la prostate avant 60 ans	0	2
Cancer de la prostate après 60 ans	0	1

Tableau 6 : Score de Manchester 2004 selon Evans (139). Les scores s'additionnent pour chaque cancer séparément dans les branches maternelle et paternelle. Le score de Manchester retenu est le score le plus élevé des 2 branches.

Ainsi, pour chaque gène retrouvé statistiquement plus fréquemment chez les patients présentant un syndrome seins-ovaires, ces patients HBOC de l'Institut Bergonié peuvent être classés dans chacune des 5 catégories du score de Manchester telles que proposées par Evans : inférieur ou égal à 14, de 15 à 19, de 20 à 24, de 25 à 29, de 30 à 34 et supérieur ou égal à 35. Cela permet de caractériser facilement les histoires cancéreuses familiales et de rechercher des corrélations génotype-phénotype.

Par ailleurs, différents phénotypes, correspondant à chacun des cancers participant à l'élaboration du score de Manchester, ont été individualisés afin de les comparer deux à deux : Patients avec antécédent familial de cancer du sein versus sans, patients avec antécédent familial de cancer ovarien versus sans, patients avec antécédent de cancer pancréatique versus sans et patients avec antécédent de cancer prostatique versus sans.

II.2.3 Recherche des anomalies génétiques

Dans le cadre de cette étude, les patients cas-index s'étant vu prescrire une recherche de prédisposition génétique au cancer ont bénéficié d'une recherche de deux types d'anomalies : des mutations ponctuelles (mutations, insertions, délétions) au moyen d'un séquençage selon la méthode dit de Séquençage Nouvelle Génération (NGS) et une recherche de réarrangements de grandes tailles.

II.2.4 Séquençage

L'Unité d'Oncogénétique du laboratoire d'Oncogénétique de Bergonié utilise en pratique quotidienne le séquençage dit de nouvelle génération (NGS). Cette dénomination fait référence au séquençage de type Sanger, considéré comme de première génération. Le séquençage Sanger et sa variante par électrophorèse capillaire sont la référence depuis une vingtaine d'années et ont permis des avancées majeures en génétique comme notamment le séquençage du génome humain en 2004. Mais il est aujourd'hui supplanté par le NGS qui permet la production de millions de séquences en une analyse, appelé « run » et à faible coût. Il peut séquencer l'ensemble des acides nucléiques et être utilisé dans le cadre de Whole Génome, Whole Exome, de panels ciblés mais aussi de RNAseq.

La technologie utilisée au sein de l'Unité est celle proposée par la société américaine Illumina, leader du marché avec 70 % des parts de marché des machines de séquençage en 2014.

II.2.4.1 Principes généraux

L'obtention d'un résultat par séquençage NGS nécessite un certain nombre d'étapes à réaliser dans un ordre bien défini. Ces étapes sont : la préparation de la librairie, l'amplification, le séquençage et l'analyse des données brutes. Nous évoquerons ici l'exemple du séquençage ciblé d'ADN au moyen d'un séquenceur Illumina, tel que réalisé à l'Institut.

II.2.4.2 Extraction de l'ADN

Pour chaque patient, l'ADN est extrait à partir d'une prise de sang veineuse. L'extraction est alors réalisée au moyen de l'automate AutoPure LS de Qiagen. En cas d'échec de l'extraction, une extraction manuelle est entreprise en utilisant les mêmes réactifs Autopure que l'automate.

II.2.4.3 Préparation des librairies

La stratégie employée par Illumina pour la réalisation de la librairie se nomme « Capture ».

Constitution de la banque de Capture.

La banque de capture a été « designée » par l'équipe de l'Unité d'Oncogénétique pour satisfaire au séquençage des 25 gènes (cf inra) étudiés dans le service, essentiellement dans la prédisposition héréditaire aux cancers du sein et de l'ovaire, aux cancers digestifs ainsi qu'aux syndromes de Cowden et de Gorlin.

Préparation de la librairie d'ADN des patients.

Après extraction, contrôle de la concentration par fluorimétrie (Qubit - Invitrogen) et de la qualité du matériel (TapeStation 2200 – Agilent), 200 ng d'ADN est fragmenté par sonication (Covaris) en segments d'environ 200 pb. Après réparation des extrémités et fixation d'une Adénine en 3' des fragments, une ligation d'adaptateurs aux extrémités est nécessaire, constitués d'index uniques à chaque patient et d'adaptateurs oligonucléotidiques de séquençage « paired-end ». Une étape d'enrichissement « pré-capture » par 10 cycles de PCR a ensuite lieu avec des primers spécifiques pour l'attachement sur la puce (cf. infra), suivi d'une purification sur billes AMPure et d'une quantification et d'un contrôle qualité des « librairies » sur TapeStation. La capture qui est ensuite réalisée au moyen du kit d'enrichissement SureSelect XT (Agilent), permet l'hybridation des fragments aux sondes oligonucléotidiques de capture. Après lavage, les séquences capturées sont à nouveau amplifiées puis purifiées et qualifiées sur BioAnalyzer 2100 (Agilent). Jusqu'ici, tous les échantillons étaient traités individuellement. Désormais, grâce aux index personnels insérés, il est possible de réaliser un multiplexage afin de pooler tous les échantillons.

II.2.4.4 Séquençage

Le séquenceur utilisé dans cette étude est le modèle MiSeq (Illumina). La technique utilisée est celle du séquençage par synthèse. Cette technologie utilise des puces qui sont tapissées avec deux types d'amorces complémentaires des adaptateurs précédemment intégrées dans notre librairie. L'ensemble se présente sous la forme d'une puce. Le pool d'échantillons préalablement préparé est donc déposé sur la puce et les fragments s'hybrident avec les séquences complémentaires fixées sur la puce. Une étape de polymérisation génère le brin complémentaire qui est deshybridé par la chaleur. L'extrémité

libre du brin fixé comporte l'autre adaptateur qui s'hybride avec l'autre amorce rattachée à la plaque. Cette amplification clonale est nommée PCR bridge en phase solide car il se forme des ponts d'amplification. A force de PCR, de deshybridations et d'hybridations en pont, des clusters identiques se forment. A la fin de cette réaction en série, les brins anti-sens sont éliminés. L'étape de séquençage en elle-même peut débuter : le premier cycle de séquençage commence en ajoutant 4 terminateurs réversibles marqués, les amorces et de l'ADN polymérase. Après excitation par un laser, la fluorescence émise par chaque cluster est mesurée et permet de connaître l'identité de la première base. La polymérisation se poursuit base à base, correspondant à chaque fois à un cycle de séquençage. Les bases sont ainsi lues les unes après les autres. La lecture est effectuée à chaque position sur toutes les séquences en parallèle. C'est pourquoi on qualifie aussi le NGS de « séquençage parallèle massif ». Un schéma des différentes étapes de cette technique est disponible en Annexe 3.

II.2.4.5 Post-traitement et analyse des données : analyse bio-informatique

L'utilisation de logiciels informatiques a été rendue indispensable devant l'importance des données générées par les séquenceurs de nouvelle génération.

L'analyse primaire consiste en la conversion en temps réel des images prises lors de chaque cycle du séquençage (Real Time Analysis) en une base A, T, G ou C avec attribution pour chaque base d'un score de qualité (Base calling). Il y a donc génération de séquences brutes sous le format de fichier .bcl.

L'analyse secondaire consiste en le démultiplexage et l'alignement des fragments sur le génome de référence. L'algorithme utilise le pipeline d'Illumina : MiSeq Reporter. Il comprend l'alignement sur le génome humain hg19, la détection des variants SNVs (Single Nucleotide Variants) (logiciel BWA) et des INDELs (Insertions – Délétions) (logiciel GATK). Les fichiers .bcl sont convertis en .fastq comprenant la séquence et le score qualité QPhred. Après alignement, le fichier est converti en .sam (Sequence Aligment on Map) qui devient un .bam après compression et indexation. Ces fichiers sont alors visualisables dans des logiciels de type « genome browser ». Le logiciel utilisé à l'Institut Bergonié est Alamut Software, édité par Interactive Biosoftware.

Un tri est alors effectué afin de supprimer les séquences ne satisfaisant pas les critères de qualité désirés : reads dupliqués, taille d'alignement trop courte, score Phred insuffisant… Un nouvel alignement est réalisé sans ces fragments. En fonction des critères

précisés, un fichier au format .vcf est créé, contenant la liste des variants détectés passant les filtres. La dernière étape consiste en l'annotation de ces variants afin de pouvoir être interprétés par l'équipe technique et médicale du laboratoire. L'annotation a été réalisée au moyen des données fournies par le Variant Effect Predictor (Ensembl).(140)

II.2.4.6 Confirmation des mutations incidentes

Toutes les mutations délétères des gènes diagnostics et les mutations incidentes ont été confirmées en séquençage Sanger. Des amorces spécifiques ont été designées lorsqu'il n'en existait pas dans la banque d'amorces de l'Institut. Pour ce faire, nous avons utilisé plusieurs logiciels. Alamut a permis de visualiser les séquences exoniques +/- 50 paires de bases. Ce logiciel permet également de visualiser les polymorphismes qu'il convient d'éviter au possible lors du choix des amorces, en particulier sur l'extrémité 3' de l'amorce, ce qui peut occasionner des amplifications mono-alléliques. Une fois la séquence d'intérêt sélectionnée, Primer3 (http://primer3.ut.ee/) a été utilisé pour rechercher les couples d'amorce avec les paramètres cible suivants : pourcentage de guanines et de cytosine : 40-60 %, taille des amorces : 18-22 pb, température de fusion : de 58 à 62°C. Les 2 amorces de chaque couple ont ensuite été blastées sur le génome humain hg19 au moyen de l'outil Primer Blast (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/) afin de s'assurer qu'elles ne s'hybrideraient pas ailleurs dans le génome. Enfin, une PCR in-silico (http://rohsdb.cmb.usc.edu/GBshape/cgi-bin/hgPcr) permettait de confirmer informatiquement le bon fonctionnement de la PCR. Les amorces ont alors été commandées chez Eurofins Genomics. A réception, leur mise au point est faite dans les conditions suivantes : Concentration de MgCl2 = 1,5 mM, température de fusion = 58, 60 et 62°C. Une électrophorèse sur gel d'agarose puis le séquençage ont permis de contrôler et de valider les amorces « designées ».

II.2.5 Analyse des réarrangements de grande taille

La méthode de recherche de réarrangement de grande taille utilisée à l'Institut Bergonié est une méthode qui détecte la variation du nombre de copies en utilisant le séquençage haut-débit, développée en 2009.(141) Brièvement, il s'agit d'un système

développé pour l'étude d'un génome. Le principe est de comparer un échantillon à un échantillon contrôle. Après séquençage et alignement, le génome est découpé en fenêtres de tailles fixes, ici 800 bases. Cela signifie qu'il y a un nombre variable de fenêtres selon les exons en fonction de la taille de ceux-ci. Pour chaque fenêtre, le nombre de reads couvrant la fenêtre en entier est comptabilisé et le nombre minimum de reads par fenêtre pour être pris en compte est de 300. Il ne reste alors plus qu'à comparer le nombre de reads lus dans l'échantillon du patient et dans le contrôle. En fonction du ratio, des seuils sont définis. Un ratio inférieur ou égal à 0,70 rend compte d'une délétion et un radio supérieur ou égal à 1,5 d'une duplication. Le résultat généré est rendu sous forme de graphe facile à interpréter.

Au décours du CNV-seq, en cas de difficulté d'interprétation ou de réarrangement de grande taille constaté, une confirmation est réalisée par technique QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Shorts fluorescent Fragments) sur l'automate ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer.

II.2.6 Panel de gènes utilisés

Le panel de gènes utilisé pour cette étude est celui qui sert en routine au sein du laboratoire d'Oncogénétique de l'Institut Bergonié. Les gènes séquencés sont les suivants : *APC*, *ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *MLH1*, *MRE11A*, *MSH2/EPCAM*, *MSH6*, *MUTYH*, *PALB2*, *PIK3CA*, *PMS2*, *PTCH1*, *PTCH2*, *PTEN*, *RAD50*, *RAD51C*, *STK11*, *SUFU* et *TP53*.

Il s'agit des gènes utilisés en diagnostic à l'Institut Bergonié (*BRCA1, BRCA2, PALB2, MLH1, MSH2/EPCAM, MSH6, PMS2, PTEN, PTCH1, SUFU, PIK3CA*) ainsi que d'autres gènes, connus ou supposés être impliqués dans des syndromes tumoraux autres que ceux criblés à l'Institut Bergonié. (Tableau 7) Le choix de ces gènes a été guidé par l'étude de Mary-Claire King qui proposa un tel panel en 2010 : le BROCA set. (1)

Gènes du panel	Syndromes associés
APC	Polypose adénomateuse familiale
ATM	Ataxie télangiectasie
BARD1	
BRCA1	Syndrome sein-ovaire héréditaire
BRCA2	Syndrome sein-ovaire héréditaire, anémie de Fanconi
BRIP1	Anémie de Fanconi
CDH1	Cancer gastrique diffus héréditaire
CHEK2	
EPCAM	Syndrome de Lynch
MLH1	Syndrome de Lynch
MRE11A	Ataxie télangiectasie-like
MSH2	Syndrome de Lynch
MSH6	Syndrome de Lynch
MUTYH	Polypose associée à MUTYH
PALB2	Syndrome sein-ovaire héréditaire, anémie de Fanconi
PIK3CA	Syndrome PROS (PIK3CA-related overgrowth spectrum)
PMS2	Syndrome de Lynch
PTCH1	Syndrome de Gorlin
PTCH2	
PTEN	Syndrome de Cowden
RAD50	Syndrome Nijmegen Breakage-like
RAD51C	Anémie de Fanconi
STK11	Syndrome de Peutz-Jeghers
SUFU	Syndrome de Gorlin-like
TP53	Syndrome de Li-Fraumeni

Tableau 7 : Gènes du panel et syndromes associés

Le « design » a été réalisé afin de permettre le séquençage des exons ainsi que 50 paires de bases dans les régions introniques flanquantes en 5' et 3'. Les caractéristiques de chaque gène (nom, chromosome, position génomique de début et de fin, orientation du brin, nombre d'exons, longueur totale exonique et nomenclature RefSeq NCBI de l'ARNm) sont disponibles dans le Tableau 8.

	Genes	Chromo-some	Genomic start	Genomic end	Strand orientation	Number of Exons	Total Exon size (bp)	NCBI RefSeq mRNA Nomenclature[1]
HBOC genes	ATM	11	108 091 559	108 241 826	+	63	13147	NM_000051.3
	BARD1	2	215 676 428	215 591 262	-	11	2607	NM_000465.2
	BRCA1	17	41 279 500	41 194 312	-	23	7207	NM_007294.3
	BRCA2	13	32 887 617	32 975 809	+	27	11386	NM_000059.3
	BRIP1	17	59 942 920	59 754 547	-	20	8166	NM_032043.2
	CDH1	16	68 769 195	68 871 444	+	16	4815	NM_004360.3
	CHEK2	22	29 139 822	29 081 731	-	14	1858	NM_007194.3
	MRE11A	11	94 229 040	94 148 466	-	20	5164	NM_005591.3
	PALB2	16	23 654 678	23 612 483	-	13	4058	NM_024675.3
	PTEN	10	89 621 195	89 730 532	+	9	5547	NM_000314.4
	RAD50	5	131 890 616	131 982 313	+	25	6597	NM_005732.3
	RAD51C	17	56 767 963	56 813 692	+	9	1282	NM_058216.1
	STK11	19	1 203 798	1 230 434	+	10	3276	NM_000455.4
	TP53	17	7 592 868	7 569 720	-	11	2586	NM_000546.5
OTHER genes	APC	5	112 005 202	112 219 936	+	16	10730	NM_000038.5
	EPCAM	2	47 594 287	47 616 167	+	9	1718	NM_002354.2
	MLH1	3	37 032 841	37 094 337	+	19	2662	NM_000249.3
	MSH2	2	47 628 263	47 712 360	+	16	3145	NM_000251.2
	MSH6	2	48 008 221	48 036 092	+	10	4328	NM_000179.2
	MUTYH	1	45 808 142	45 792 914	-	16	1921	NM_012222.2
	PIK3CA	3	178 864 311	178 954 500	+	21	3712	NM_006218.2
	PMS2	7	6 050 737	6 010 870	-	15	2836	NM_000535.5
	PTCH1	9	98 281 247	98 203 264	-	24	7943	NM_000264.3
	PTCH2	1	45 310 616	45 283 516	-	22	4298	NM_003738.4
	SUFU	10	104 261 719	104 395 214	+	12	4948	NM_016169.3
	25 genes					**451**	**125937**	

Tableau 8 : Panel de 25 gènes utilisés

3 remarques sont nécessaires :

1) Concernant *PMS2*, seuls les exons 6, 7, 8 et 10 sont pris en compte à l'institut Bergonié du fait de la présence de nombreux pseudogènes touchant les exons 1 à 5, le 9ème et les 5 derniers. (131) (132). Les mutations touchant ces exons ne sont donc pas prises en compte dans cette étude.

2) Seules les mutations bi-alléliques du gène *MUTYH* sont prises en compte.
3) Concernant *EPCAM*, nous ne nous intéressons qu'à la région 3' car elle peut être à l'origine d'anomalies de *MSH2* comme nous l'avons vu dans la première partie.

II.2.7 Classification des variants

Cette étude ne porte que sur les variants d'origine constitutionnelle. Il convenait donc d'exclure les variants potentiellement d'origine somatique en rapport avec la présence de cellules tumorales ou d'ADN tumoral circulant chez les patients présentant une maladie évolutive lors du prélèvement. Pour ce faire, nous n'avons conservé que les mutations retrouvées dans un rapport allélique compris entre 40 et 60 % en dehors des formes syndromiques. A une exception : nous avons inclus certaines mutations frameshift dont la fréquence de l'allèle variant était comprise entre 28 et 40 % lors de l'analyse NGS mais retrouvé en proportion équivalente sur les traces de séquençage Sanger. En effet, les algorithmes d'annotation issus du séquençage par NGS minorent fréquemment la fréquence des allèles des variants dans ce type de mutations.

Dans cette étude, la conséquence prédite des variants constitutionnels est issue du Variant Effect Predictor (VEP).(142) Les variants ont été classés selon les recommandations de l'American College of Medical Genetics (143) pour l'interprétation des variants. Chaque variant retrouvé a été vérifié dans des bases de données nationales et internationales : UMD, LOVD, Exac, ESP, IARC TP53 ainsi que dans la littérature (Pubmed) afin de s'assurer du statut du variant.

Les mutations avec décalage de lecture et les mutations non-sens en dehors du dernier exon ont été considérées comme délétères. Par ailleurs, les variants retrouvés sur un site essentiel d'épissage ont été considérées comme pathogènes si ainsi caractérisés dans les bases de données ou bien si un effet délétère a pu être démontré par des tests fonctionnels ou alors si des prédictions in silico de pathogénicité le prédisent délétère. Pour ce faire, nous avons regardé l'impact du variant en utilisant les algorithmes SpliceSiteFinder et MaxEntScan. En effet, un score MaxEntScan au niveau du variant au moins 15 % inférieur au score wild-type ou bien un score SpliceSiteFinder au niveau du variant au moins 5 % inférieur au score wild-type orientent le variant comme ayant probablement un retentissement sur l'épissage et permet donc de le classer dans la catégorie délétère. Un tel variant est donc

sélectionné pour cette étude. A noter que les variants classé délétères ou probablement délétères sont sélectionnés pour cette étude et sont indifféremment nommés « délétères » ou « pathogènes », sans distinction.

Seulement 2 mutations faux-sens (1 dans *PTCH1* et 1 dans *RAD50*) ont été incluses car suspectes d'être impliquées dans les phénotypes présentés par les patients porteurs.

II.2.8 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées au moyen de l'outil en ligne BiostaTGV (144), utilisant le logiciel de biostatistiques R et développé par une unité d'Epidémiologie et de Santé Publique affiliée à l'INSERM et à l'Université Pierre et Marie Curie.

L'association des variants entre deux cohortes a été mesurée grâce au test du Chi² ou bien du test exact de Fisher en fonction des effectifs. Il s'agissait de tests bilatéraux avec une valeur « p-value » inférieure à 0,05 permettant d'affirmer une différence statistiquement significative à 5 %.

Afin de comparer la prévalence des mutations incidentes dans les quatre groupes (HBOC, Lynch, Gorlin, Cowden), il a été décidé de comparer les groupes 2 à 2 comme suit : d'une part le groupe à tester et d'autre part un groupe constitué de la réunion des 3 autres groupes. En effet, les présentations syndromiques sont suffisamment distinctes pour être sûr qu'un patient relevant d'une indication ne rentre pas dans le cadre de la seconde indication. Les groupes sont donc tous contrôles les uns pour les autres. Ce procédé permet d'accroître les effectifs et d'augmenter la puissance statistique de l'étude.

Du fait des tailles substantiellement différentes entre les effectifs des séries, les mutations sont exprimées non seulement en valeurs absolues mais aussi en pourcentage par rapport au nombre de patient du groupe.

II.3 - RESULTATS

II.3.1 Population étudiée

Entre mars 2013 et décembre 2015, 1819 patients ont bénéficié d'un screening en NGS au sein de l'unité d'Oncogénétique de l'Institut Bergonié. Parmi eux, 1296 (71 %) l'ont été dans le cadre d'une indication HBOC, 145 (8 %) dans le cadre du syndrome de Lynch, 157 (9 %) dans le cadre d'un syndrome de Gorlin et 221 (12 %) dans le cadre d'un syndrome de Cowden. (Figure 32)

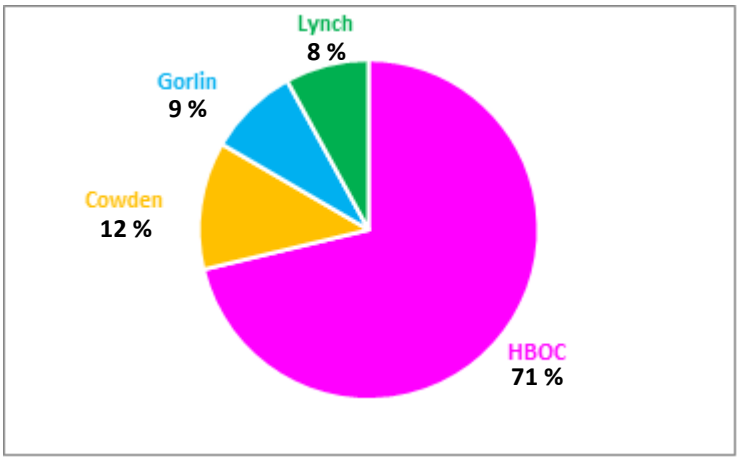


Figure 32 : Répartition des différentes indications des patients inclus dans l'étude

Dans le syndrome HBOC, 98 % des patients étaient des femmes. Ce pourcentage tombe à 58 % dans le cadre du syndrome de Cowden et la parité était de mise dans les syndromes de Gorlin et de Lynch avec respectivement 53 et 50 % de femmes.

Parmi les 1296 patients criblés pour HBOC, 918 ont été pris en charge à l'Institut Bergonié ; nous avons donc reçu dans cette indication 378 demandes de séquençage de l'extérieur pour lesquels nous n'avons donc pas pu recueillir les phénotypes. (Figure 33) Les caractéristiques de la population HBOC se trouve en Annexe 4.

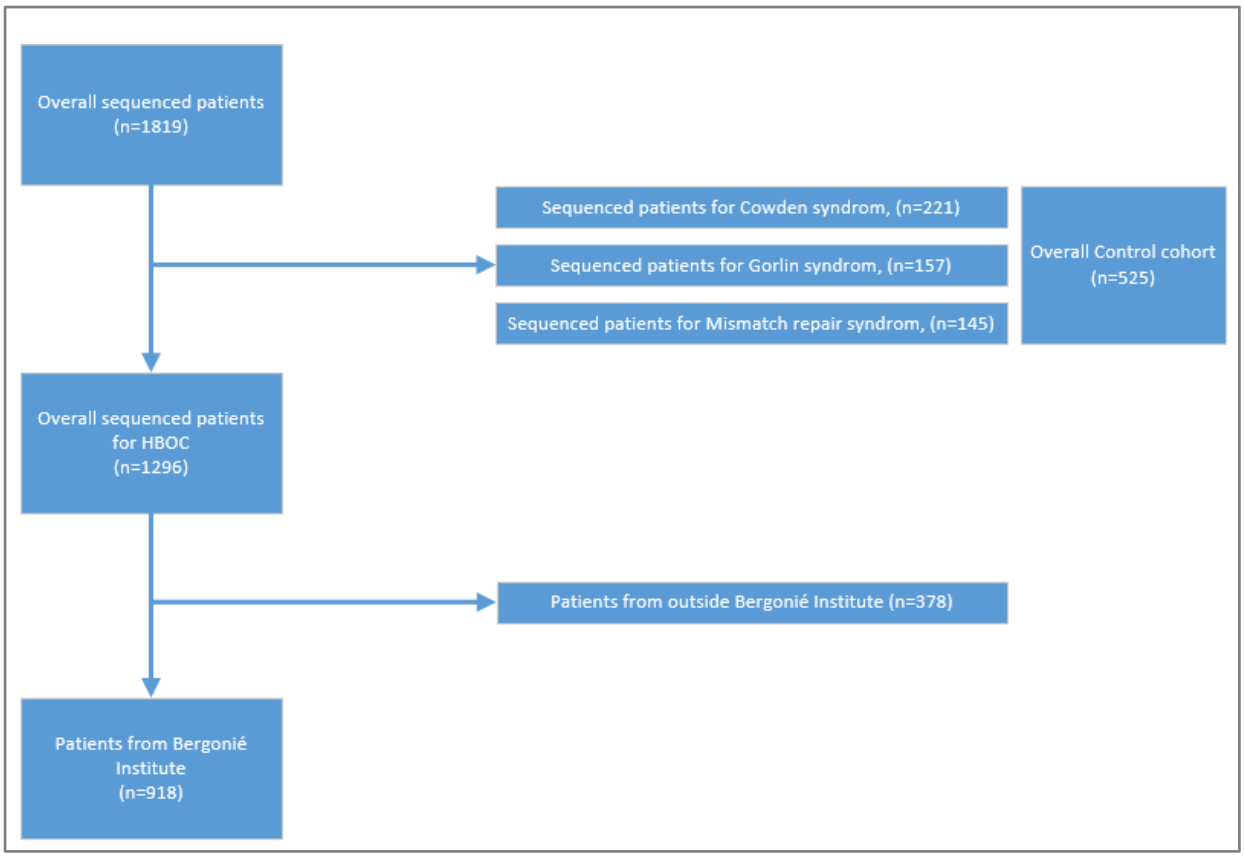


Figure 33 : Diagramme de flux de l'étude

II.3.2 Mutations détectées

Au total, sur l'effectif global de 1819 patients criblés, 419 mutations délétères ont été détectées : 303 mutations délétères de gènes diagnostics et 116 mutations incidentes délétère, soit chez 6,4 % des patients, comme indiqué dans le Tableau 9.

	Mutations dans gènes diagnostics	Mutations incidentes	Mutations incidentes (% sur le nombre de patients dans l'indication)
HBOC	187	81	6,3
Lynch	32	5	3,4
Cowden	40	20	9,0
Gorlin	44	10	7,6
TOTAL	**303**	**116**	**6,4**

Tableau 9 : Nombre total de mutations détectées

Afin d'appréhender ces mutations, il convient de les étudier en prenant en compte l'indication du criblage génétique.

II.3.3 Détection des mutations syndromiques par indication

Seront nommées « mutations syndromiques » les mutations délétères correspondant aux syndromes ayant servi d'indication. Les mutations délétères de *BRCA1* et *BRCA2* sont donc appelées ici mutations syndromiques du syndrome HBOC. De la même manière, celles de *MSH2*, *MSH6*, *MLH1* et *PMS2* seront les mutations syndromiques du syndrome de Lynch, les mutations délétères de *PTCH1* et *SUFU* celles du syndrome de Gorlin et les mutations délétères de *PTEN* celles du syndrome de Cowden.

Le taux de détection de variants délétères au sein des patients criblés pour HBOC s'élève à 14,4% (187 mutations). Dans le détail, il est à 15,9 % (146 mutations) chez les patients vus en consultation à l'Institut Bergonié et de 10,8 % (41 mutations) chez les patients venant de l'extérieur. Le taux de détection de ces variants retrouvés chez les patients de l'Institut peut être comparé avec la moyenne nationale de 10,7 % rapportée par le Rapport Oncogénétique 2015 et cette différence est statistiquement significative.

Dans le détail, il a été relevé 88 mutations de *BRCA1* et 99 mutations de *BRCA2*, soit une prévalence respective des mutations de 6,8 et 7,6 % dans une population de patients atteints de cancer du sein et/ou de l'ovaire.

Pour ce qui est des autres indications, des mutations délétères sont retrouvées dans 22,1 % des syndromes de Lynch (32 mutations), 18,1 % des indications Cowden (40 mutations) et 28,0 % des Gorlin (44 mutations).

II.3.4 Détection des mutations incidentes

Au total, 116 mutations incidentes ont été détectées. La liste des mutations incidentes mises en évidence est disponible en Annexe 5. 69,8 % (81 mutations) dans l'indication HBOC, 4,5 % dans le syndrome de Lynch (5 mutations), 8,6 % (10 mutations) dans le Gorlin et 17,2 % (20 mutations) dans le Cowden.

II.3.4.1 Détection des mutations incidentes dans l'indication HBOC

Le groupe HBOC est constitué de 1296 patients et le groupe contrôle de 523 patients. 81 mutations incidentes ont donc été mises en évidence. 4 gènes ont été retrouvés avec une fréquence de mutations délétères significativement plus importante dans le groupe HBOC que dans le groupe contrôle. Les 2 plus importants sont sans surprise les gènes

syndromiques *BRCA1* et *BRCA2*, retrouvés dans respectivement 6,8 et 7,6 % des cas versus 0,6 et 1,1 % (p-value respectives : $7{,}74^{e\text{-}08}$ et $7{,}70^{e\text{-}08}$). *ATM*, avec une fréquence de mutations incidentes retrouvée à 1,9 % s'avère lui aussi significativement plus muté dans le groupe HBOC (versus 0,4 % ; p-value=0,02), tout comme *PALB2* avec une fréquence à 1,2 % versus 0,0 % (p-value=0,011).

Le Tableau 10 et la Figure 34 reprennent l'ensemble des mutations incidentes retrouvées dans les deux groupes ainsi que les mutations syndromiques HBOC.

	Patients HBOC (n=1296)		Contrôles non HBOC (n=523)		
	Nombre de MI	Pourcentage (%)	Nombre de MI	Pourcentage (%)	p-value
ATM	24	1,9	2	0,4	0,02
BARD1	2	0,2	1	0,2	0,861
(BRCA1)	(88)	(6,8)	(3)	0,6	(7,7E-08)
(BRCA2)	(99)	(7,6)	(6)	1,1	(7,7E-08)
BRIP1	7	0,5	1	0,2	0,309
CDH1	1	0,1	0	0,0	0,525
CHEK2	13	1,0	2	0,4	0,185
MLH1	1	0,1	10	1,9	0,000
MRE11A	1	0,1	2	0,4	0,146
MSH2	1	0,1	15	2,9	7,94E-09
MSH6	3	0,2	8	1,5	0,001
MUTYH	2	0,2	2	0,4	0,347
PALB2	16	1,2	0	0,0	0,011
PMS2	2	0,2	1	0,2	0,861
PTCH1	0	0,0	48	9,2	2,12E-28
PTCH2	1	0,1	1	0,2	0,507
PTEN	0	0,0	40	7,6	7,71E-24
RAD50	4	0,3	4	0,8	0,183
SUFU	0	0,0	3	0,6	0,006
TP53	3	0,2	2	0,4	0,578
TOTAL	81	6,3	35	6,7	

Tableau 10 : Mutations incidentes dans le syndrome HBOC et comparaison des moyennes entre le groupe HBOC et le groupe contrôle. Entre parenthèses les mutations syndromiques HBOC. MI : Mutation Incidente

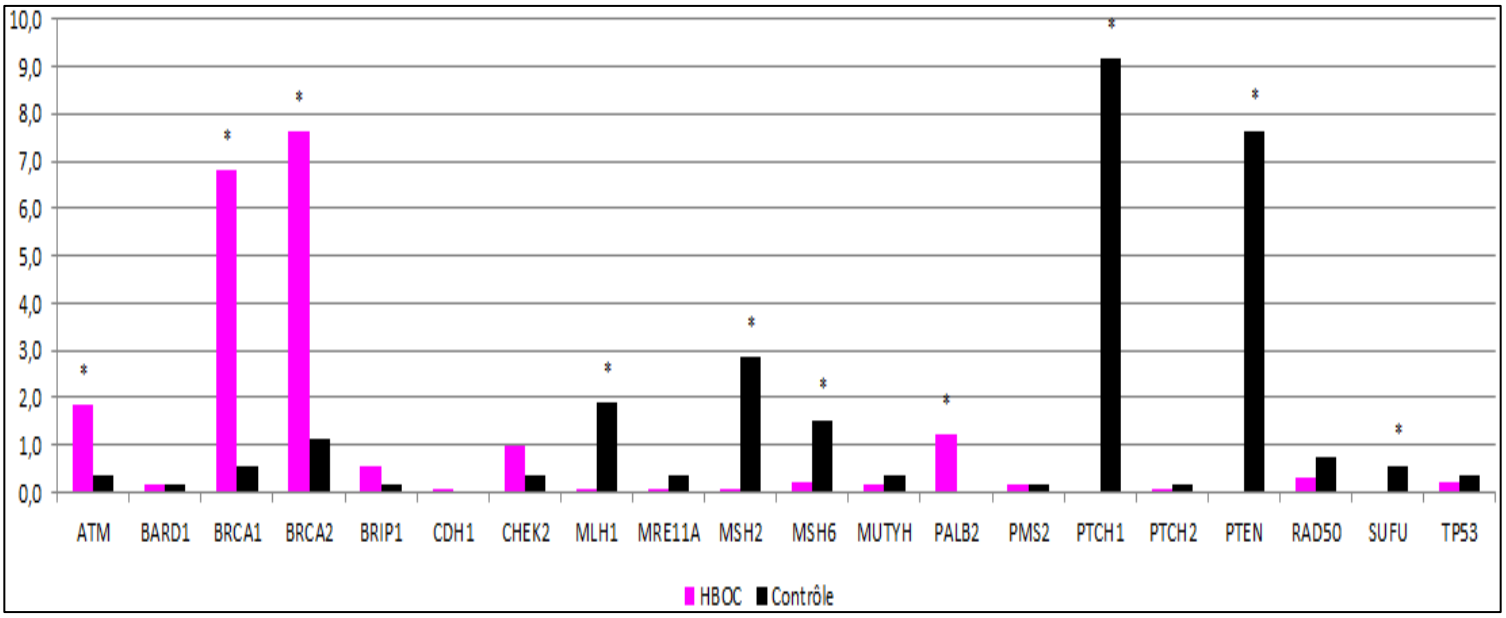


Figure 34 : Comparaison des pourcentages de mutations incidentes délétères ainsi que des mutations syndromiques HBOC retrouvées par gène dans le groupe HBOC et le groupe contrôle. * = différence significative

II.3.4.5 Mutations incidentes dans l'indication HBOC

Sur les 1296 patients ayant été criblés pour un syndrome HBOC, il a été retrouvé 81 mutations incidentes. Il a été choisi de comparer ces mutations incidentes selon le génotype *BRCA1*/*BRCA2* wild-type ou muté. Les résultats sont donnés dans le Tableau 11 et la Figure 35.

	Patients mutés *BRCA (n=187)*		Patients non mutés *BRCA* (n=1109)		
	Nombre de MI	Pourcentage (%)	Nombre de MI	Pourcentage (%)	p-value
ATM	4	2,14	20	1,80	0,753
BARD1	0	0,00	2	0,18	0,561
BRIP1	1	0,53	6	0,54	0,991
CDH1	0	0,00	1	0,09	0,681
CHEK2	0	0,00	13	1,17	0,137
MLH1	0	0,00	1	0,09	0,681
MRE11A	0	0,00	1	0,09	0,681
MSH2	0	0,00	1	0,09	0,681
MSH6	1	0,53	2	0,18	0,351
MUTYH	2	1,07	0	0,00	0,001
PALB2	1	0,53	15	1,35	0,349
PMS2	0	0,00	2	0,18	0,561
PTCH2	1	0,53	0	0,00	0,015
RAD50	0	0,00	4	0,36	0,411
TP53	0	0,00	3	0,27	0,476
TOTAL	**10**	**5,35**	**71**	**6,40**	

Tableau 11 : Mutations incidentes chez les patients HBOC *BRCA* muté et sauvage

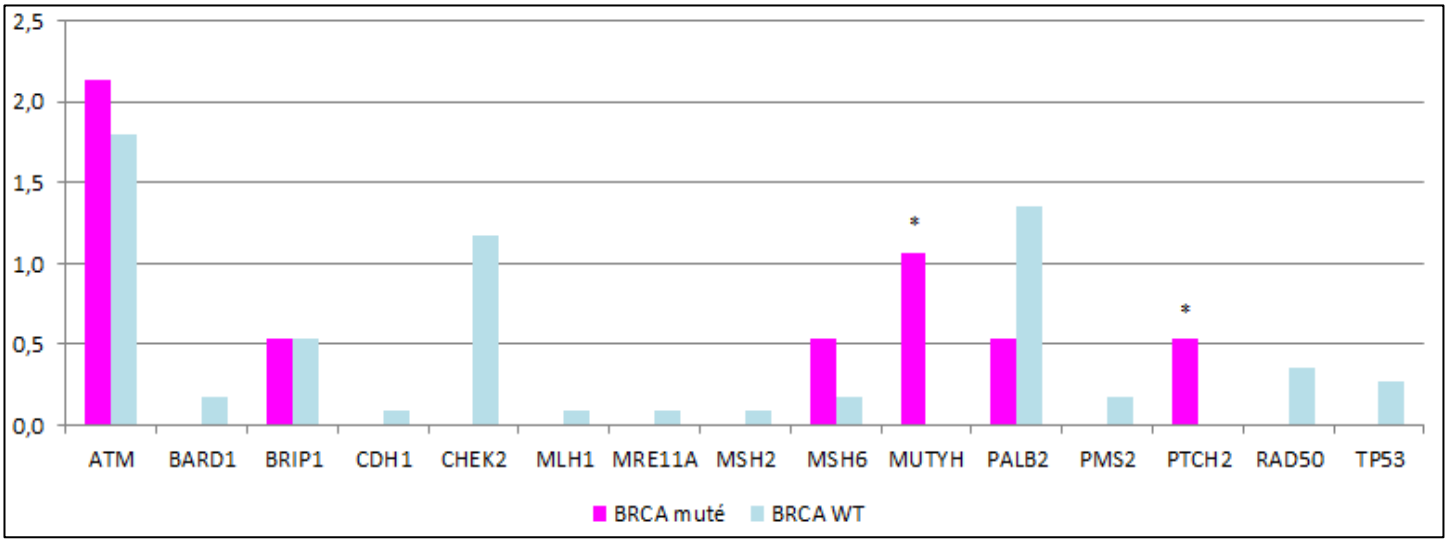


Figure 35 : Comparaison des pourcentages de mutations incidentes délétères retrouvées par gène dans le groupe des patients mutés *BRCA1* ou *BRCA2* et les patients wild-type pour ces 2 gènes. * = différence significative

Concernant *ATM*, il en ressort que les mutations de ce gène ne sont pas exclusives des mutations de *BRCA1* ou *BRCA2* puisqu'une mutation délétère d'*ATM* est retrouvé dans environ 2 % des cas, aussi bien lorsque BRCA1/2 est sauvage ou muté. Par ailleurs, les patients ayant une double mutation *ATM-BRCA* ont un âge moyen au diagnostic (40,8 ans) bien inférieur à ceux n'ayant qu'une mutation d'*ATM* (47,3 ans), avec une p-value (p=0,074) qui se rapproche du seuil de signification à 5 %.

En ce qui concerne *PALB2*, 15 mutations ont été retrouvées chez les patients *BRCA* sauvage (1,35 %). En ce qui concerne les patients *BRCA* muté, il a été trouvé une unique co-occurence (soit 0,53 %) avec une mutation incidente délétère de *PALB2*. Celle-ci empêche de pouvoir conclure à une différence statistiquement significative. Il s'agit de la mutation non-sens de *BRCA2* c.4211C>G p.(Ser1404*) au sein de l'exon 11/27 associée à la mutation non-sens de *PALB2* c.1365_1372delTGAGGAAA p.(Glu456*) au sein de l'exon 4/13 du gène.

Relation entre les mutations incidentes et les phénotypes familiaux

Les phénotypes familiaux ont pu être obtenus chez les patients suivis à l'Institut Bergonié. C'est pourquoi nous ne traiterons désormais plus que des patients suivis à l'Institut et criblés pour un syndrome HBOC. La cohorte comprend 918 patients au total.

Les phénotypes ont été étudiés de deux manières : dans la limite des informations récupérées lors de la consultation d'oncogénétique et dans le dossier du patient, le phénotype familial est constitué de l'ensemble des cancers suivants présents chez un membre de la famille : sein, ovaire, pancréas, prostate, utérus, colon. Par ailleurs, le score de Manchester a été calculé pour chaque patient.

En fonction des scores de Manchester, chaque patient a été classé dans l'une des cinq classes selon la classification élaborée dans la publication de référence du score de Manchester (139) : [0 ;14], [15 ;19], [20 ;24], [25 ;29], [30 ;35] et [35 ;+∞[

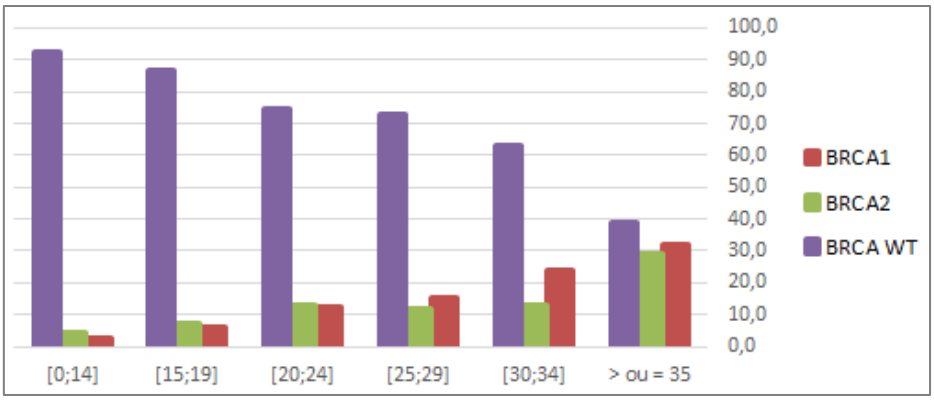


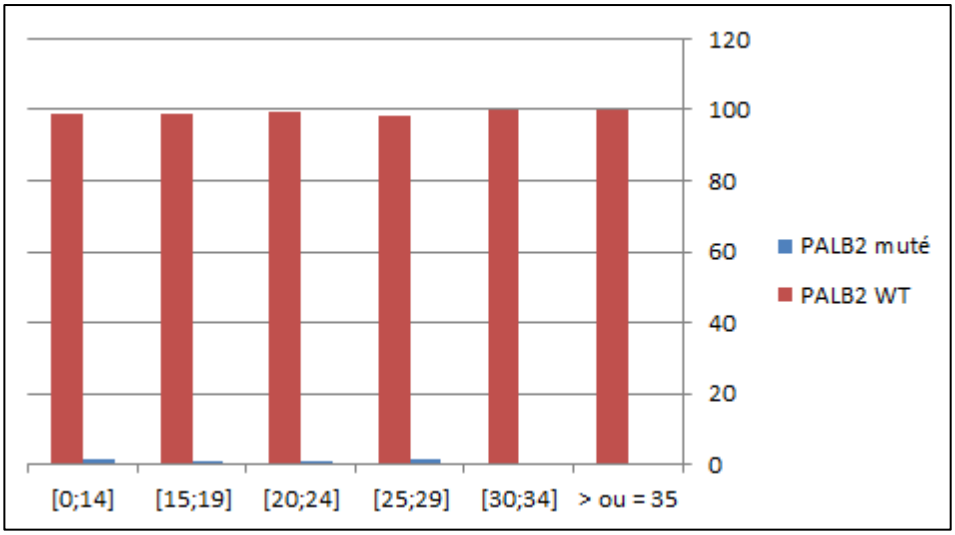
Figure 36 : Pourcentage des patients mutés *BRCA1*/*BRCA2* ou wild-type par classe de score de Manchester

Comme on peut le voir sur la Figure 36, on observe une tendance nette : le pourcentage des patients mutés *BRCA1* et/ou *BRCA2* augmente progressivement avec le score de Manchester. Alors que 92,7 % des patients dont le score de Manchester est compris entre 0 et 14 sont wild-type vis-à-vis de *BRCA1* et *BRCA2*, ces patients ne représentent plus que 38,7 % dans la plus haute classe de Manchester. C'est-à-dire que 61,3 % de la plus haute classe de Manchester sont mutés *BRCA1* ou *BRCA2*.

PALB2

En ce qui concerne *PALB2*, il n'y a pas, comme avec *BRCA*, d'évolution symétrique du score de Manchester et du statut mutationnel de *PALB2* (Figure 37). On note néanmoins que dans les deux plus hautes catégories MSS, le pourcentage de mutations délétères retrouvées au sein de *PALB2* est nul alors qu'il est en moyenne de 1,2 % lorsque le score de Manchester est inférieur à 30, sans pour autant que l'on puisse mettre en évidence une différence significative.

A)



B)

	[0;14]	[15;19]	[20;24]	[25;29]	[30;34]	≥ 35	Totaux
% *PALB2* muté	1,4	0,9	0,7	1,5	0	0	1,1
% *PALB2* WT	98,6	99,1	99,3	98,5	100	100	98,9
% TOTAL	100	100	100	100	100	100	100

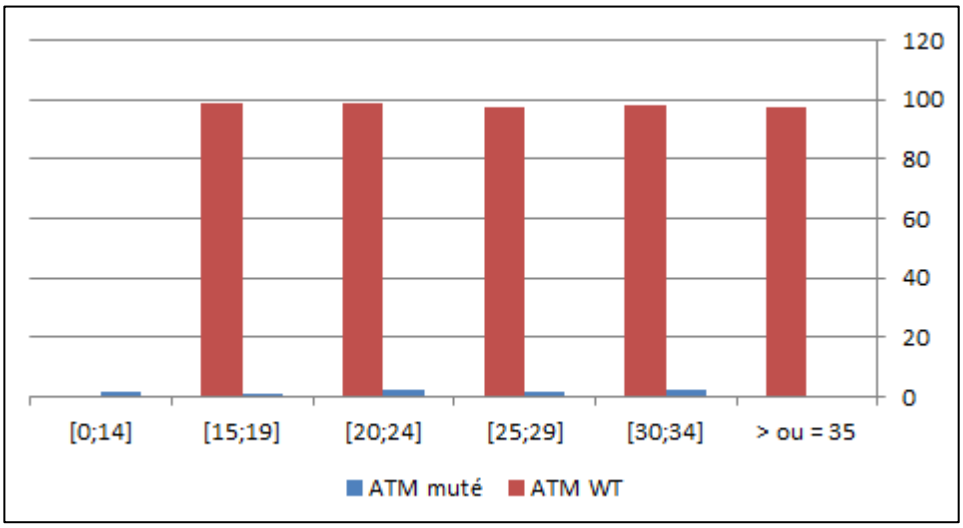
Figure 37 : A) Répartition des patients par classe de score de Manchester en fonction du statut mutationnel de *PALB2*. B) Valeurs

Concernant la comparaison 2 à 2 des phénotypes familiaux « sein », « ovaire », « pancréas » et « prostate », il n'a été mis en évidence aucune différence significative de fréquence entre les patients avec le phénotype familial étudié versus sans. Néanmoins, sans que cela soit statistiquement significatif, on retrouve plus de mutation *PALB2* chez les patients ayant une hérédité à type de cancers du sein (1,2 % vs 0,0 %, p = 0,610 : 10 mutations sur 827 versus 0 sur 91 patients) et du pancréas (2,1 % vs 1,0 %, p = 0,273 : 2 mutations sur 94 patients versus 8 sur 824). En revanche, les mutations de *PALB2* sont retrouvées moins fréquemment lorsqu'il y avait un ou plusieurs cancers de l'ovaire dans la famille du patient par rapport à s'il n'y en avait pas (0,4 % vs 1,4 %, p = 0,187).

ATM

En ce qui concerne *ATM*, il n'existe pas de tendance similaire entre le score de Manchester et le statut mutationnel d'*ATM*, comme on peut le voir sur la Figure 38.

A)



B)

	[0;14]	[15;19]	[20;24]	[25;29]	[30;34]	≥ 35	Totaux
% *ATM* muté	1,4	0,9	2,2	1,5	2,6	0	1,4
% *ATM* WT	98,6	99,1	97,8	98,5	97,4	100	98,6
% TOTAL	100	100	100	100	100	100	100

Figure 38 : A) Répartition des patients par classe de score de Manchester en fonction du statut mutationnel d'*ATM*. B) Valeurs

On peut donc en conclure que le score de Manchester, qui permet de prédire la présence d'une mutation des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, n'est pas adapté pour *ATM* devant l'absence de corrélation entre la cinétique du score et la présence ou non de mutation d'*ATM*.

Par ailleurs, l'analyse 2 à 2 des différents types phénotypiques révèle une association significative entre les mutations incidentes d'*ATM* et une histoire familiale de cancers du pancréas : on retrouve une mutation incidente délétère d'*ATM* chez 6,4 % de patients qui présentent une histoire familiale de cancer du pancréas (6 mutations sur 94 patients) contre seulement 0,8 % (7 mutations sur 824 patients) lorsqu'il n'existe pas de cancer du pancréas dans la famille (p-value = 0,001). C'est la seule association mise en évidence : il n'est pas retrouvé de différence chez les patients présentant une histoire familiale de cancer du sein, de l'ovaire et de la prostate.

CHEK2

Il a été décidé d'inclure dans cette partie les résultats concernant *CHEK2* car, même si ce gène n'apparaît pas significativement plus fréquemment muté chez les patients présentant un syndrome HBOC dans cette étude, il l'est tout de même 2,5 fois plus (1,0 % vs 0,4 %, p-value = 0,185 : 13 mutations contre 2).

Tout comme pour *ATM* et *PALB2*, il n'est pas possible d'établir de corrélation entre le score de Manchester d'un patient et la probabilité que ce patient ait une mutation au sein de *CHEK2*. Il n'y a en effet aucune tendance qui se dégage.

Bien qu'il n'y ait encore une fois aucune association statistiquement significative, il est néanmoins intéressant de remarquer qu'il a été retrouvé plus de mutations de *CHECK2* chez les patients dont l'histoire familiale est dépourvue de cancer du sein (2,2 % vs 1,2 %, p-value = 0,337 : 2 mutations sur 91 patients versus 10 sur 827) mais aussi dans celles dépourvues de cancer du pancréas où il n'a été retrouvé aucune mutation de *CHECK2* contre 12 sur 824 patients dépourvus d'histoire familiale de cancer du pancréas (0,00 % vs 1,5 %, p-value = 0,615).

Mutations incidentes chez les cas-index présentant un cancer du sein

Grâce au recueil d'informations chez les patients suivis à l'Institut Bergonié, des informations concernant les cas-index ont pu être recueillies : genre, âge au diagnostic,

caractérisation du cancer (histologie, grade, récepteurs hormonaux), caractérisation de la mutation (localisation, conséquence, domaines fonctionnels atteints). Les différentes caractéristiques des mutations incidentes des gènes *PALB2, ATM* et *CHEK2* sont présentées dans le Tableau 13.

Concernant *PALB2*, il s'agit dans 90 % d'un carcinome canalaire infiltrant, de grade III dans 89 % des cas et non triple négatif dans 89% des cas. Lorsqu'une mutation d'*ATM* est détectée, il s'agit dans 100 % des cas d'un carcinome canalaire infiltrant, de grade intermédiaire majoritairement à 62,5 % contre 25 % de grade III et 12,5% de grade I. Dans 100 % des cas, ces cancers ne sont pas « triple négatifs ». Enfin, pour *CHEK2*, il s'agit d'un carcinome canalaire infiltrant dans 78 % des cas, majoritairement de grade élevé et intermédiaire (37,5 %) et dans une moindre mesure de bas grade (25 %), 100 % non triple négatif.

Concernant les types de mutations, les mutations incidentes sont réparties sur la majorité des exons centraux pour *PALB2,* du deuxième au dixième exon sur 13. Dans la majorité des cas (60 %), il s'agit d'une mutation non-sens. La mutation non-sens c.1653T>A est d'ailleurs retrouvée à 3 reprises. Dans 30 % des cas, il s'agit d'une mutation par décalage de lecture et dans 10 % d'une mutation d'épissage. Dans 80 % des cas, les mutations incidentes de *PALB2* ne touchent pas de domaine fonctionnel et dans les 20% restant il s'agit du domaine WD40-repeat-containing domain.

Lorsqu'il s'agit des mutations incidentes d'*ATM*, celles-ci sont également réparties sur le gène depuis l'exon 13 jusqu'à l'avant-dernier exon. Il s'agit d'une mutation non-sens dans 55 % des cas avec une mutation retrouvée 2 fois (c.3802delG, p.(Val1268*)) et d'une mutation par décalage du cadre de lecture et d'épissage dans 22 % des cas. Il est notable que les mutations incidentes d'*ATM* sont toutes localisées dans le domaine fonctionnel « Armadillo-tyle fold » de la protéine ATM.

Concernant *CHEK2*, les mutations incidentes sont également réparties sur les exons intermédiaires du gène, de l'exon 3 au 11 sur 15. Il s'agit de mutation non-sens dans seulement 11 % des cas contre 22 % de mutations d'épissage et surtout 68 % de mutations par décalage du cadre de lecture, dont 4 mutations identiques c.1100delC. Les mutations incidentes ont touché dans 33 % des cas un domaine fonctionnel « SMAD/FHA domain » et

dans 67 % les domaines « PK », « PK like domain », « Serine-threonine/tyrosine-PK » et « catalytic domain ».

Les moyennes d'âge au diagnostic et de score de Manchester par type de mutation et par gène sont disponibles dans le Tableau 12.

	PALB2		***ATM***		***CHEK2***	
	Age moyen	MSS moyen	Age moyen	MSS moyen	Age moyen	MSS moyen
Mutation non-sens	42,7	12,3	42,6	19	42,6	16
Mutation par décalage du cadre de lecture	51	22,5	50,5	26	50,5	16
Mutation d'épissage	52	22	45	16,5	45	20,5

Tableau 12 : Age et score de Manchester moyens par gène et par type de mutation

N°	GENE	EXON	c.	p.	CONSEQUENCE	GENRE	AGE	Domaine	MSS	HISTOLOGIE	GRADE	TN?
77	***PALB2***	**2**	c.73A>T	p.(Lys25*)	Non-sens	F	43	Aucun	11	CCIS	III	no
79	***PALB2***	**3**	c.172_175del	p.(Gln60Argfs*7)	Décalage du cadre de lecture	F	57	Aucun	18	CCI	III	no
81	***PALB2***	**4**	c.509_510del	p.(Arg170Ilefs*14)	Décalage du cadre de lecture	H	65	Aucun	?	CCI	III	?
84	***PALB2***	**4**	c.1365_1372del	p.(Glu456*)	Non-sens	F	28	Aucun	19	CCI	III	no
85	***PALB2***	**4**	c.1653T>A	p.(Tyr551*)	Non-sens	F	36	Aucun	8	CCI	III	no
86	***PALB2***	**4**	c.1653T>A	p.(Tyr551*)	Non-sens	F	52	Aucun	14	CCI	III	no
87	***PALB2***	**4**	c.1653T>A	p.(Tyr551*)	Non-sens	F	52	Aucun	10	CCI	III	no
88	***PALB2***	**5**	c.1724G>A	p.(Trp575*)	Non-sens	F	45	Aucun	12	CCI	?	no
91	***PALB2***	**7**	c.2748+1G>T	p.(?)	Epissage	F	52	WD40-repeat-containing domain	22	CCI	II	oui
92	***PALB2***	**10**	c.3103_3104dup	p.(Val1036Leufs*6)	Décalage du cadre de lecture	F	31	WD40-repeat-containing domain	27	CCI	III	no
3	***ATM***	**10**	c.1236-2A>G	p.(?)	Epissage	F	40	Armadillo-tyle fold	21	CCI	I	non
4	***ATM***	**10**	c.1256T>G	p.(Leu419*)	Non-sens	F	45	Armadillo-tyle fold	13	CCI	II	non
7	***ATM***	**13**	c.2114dup	p.(Tyr705*)	Non-sens	F	31	Armadillo-tyle fold	16	CCI	III	non
12	***ATM***	**26**	c.3802delG	p.(Val1268*)	Non-sens	F	48	Armadillo-tyle fold	20	CCI	II	non
13	***ATM***	**26**	c.3802delG	p.(Val1268*)	Non-sens	F	43	Armadillo-tyle fold	12	CCI	II	non
15	***ATM***	**31**	c.4776+1G>T	p.(?)	Epissage	F	50	Armadillo-tyle fold	12	CCI	III	non
19	***ATM***	**42**	c.6163_6164dup	p.(Pro2056Serfs*27)	Décalage du cadre de lecture	F	57	Armadillo-tyle fold + PIK-related kinase	24	CCI	II	non
25	***ATM***	**59**	c.8610_8611del	p.(Asp2870Glufs*10)	Décalage du cadre de lecture	F	44	Armadillo-tyle fold + PK-like domain + Phosphatidylinositol 3-/4-kinase, catalytic domain	28	?	?	?
26	***ATM***	**62**	c.8873_8874del	p.(Phe2958*)	Non-sens	F	46	Armadillo-tyle fold + PK-like domain + Phosphatidylinositol 3-/4-kinase, catalytic domain	32	CCI	II	non
49	***CHEK2***	**3**	c.320-2A>G	p.(?)	Epissage	F	61	SMAD/FHA domain	9	CCI	I	non
50	***CHEK2***	**3**	c.409C>T	p.(Arg137*)	Non-sens	F	51	SMAD/FHA domain superfamily + FHA domain	16	CCIS	III	non
53	***CHEK2***	**4**	c.591del	p.(Val198Phefs*7)	Décalage du cadre de lecture	F	39	SMAD/FHA domain	22	CCI	I	non
55	***CHEK2***	**7**	c.846+1G>C	p.(?)	Epissage	F	46	PK + PK like domain + Serine-threonine/tyrosine-PK, catalytic domain	32	CCI	II	non
56	***CHEK2***	**9**	c.920del	p.(Gly307Glufs*13)	Décalage du cadre de lecture	F	34	PK + PK like domain + Serine-threonine/tyrosine-PK, catalytic domain	8	CCI	III	non
58	***CHEK2***	**11**	c.1100delC	p.(Thr367Metfs*15)	Décalage du cadre de lecture	F	58	PK + PK like domain + Serine-threonine/tyrosine-PK, catalytic domain	15	CLI	II	non
59	***CHEK2***	**11**	c.1100delC	p.(Thr367Metfs*15)	Décalage du cadre de lecture	F	43	PK + PK like domain + Serine-threonine/tyrosine-PK, catalytic domain	14	CCI	?	non

60	***CHEK2***	**11**	c.1100delC	p.(Thr367Metfs*15)	Décalage du cadre de lecture	F	36	PK + PK like domain + Serine-threonine/tyrosine-PK, catalytic domain	10	CCI	III	non
61	***CHEK2***	**11**	c.1100delC	p.(Thr367Metfs*15)	Décalage du cadre de lecture	F	37	PK + PK like domain + Serine-threonine/tyrosine-PK, catalytic domain	27	CCI	II	non

Tableau 13 : Caractérisation des mutations incidentes *PALB2*, *ATM* et *CHEK2* dans l'indication HBOC chez les patients suivis à l'Institut Bergonié. PK : Protein-kinase, CCI : Carcinome canalaire infiltrant, CLI : Carcinome lobulaire infiltrant, CCIS : Carcinome canalaire in situ, TN : Triple négatif

Age au diagnostic

Parmi ces différentes caractéristiques, nous avons calculé l'âge de survenue d'un cancer du sein chez les patients sans et avec mutation incidente. La ventilation en fonction de l'âge est représentée en Figure 39.

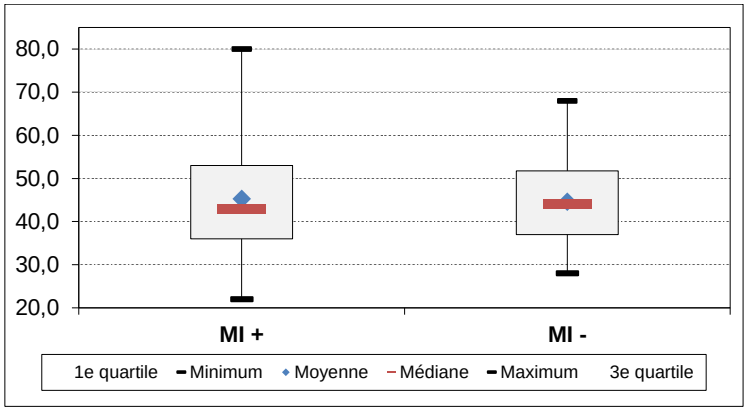


Figure 39 : Ages au diagnostic de cancer du sein chez les patients porteurs et non porteurs de mutations incidentes. MI+ : patients porteurs d'une mutation incidente, MI- : patients non porteurs d'une mutation incidente

Il n'existe pas de différence significative (p=0,333) entre la moyenne d'âge de survenue d'un cancer du sein chez les patients portant une mutation incidente (44,6 ans) et ceux n'en portant pas (45,3 Ans). En analysant les 3 gènes ressortis précédemment (*PALB2, ATM* et *CHEK2*), on ne note pas non plus de différence statistiquement significative entre les différentes moyennes d'âges d'apparition du cancer entre chaque gène et par rapport au contrôle.

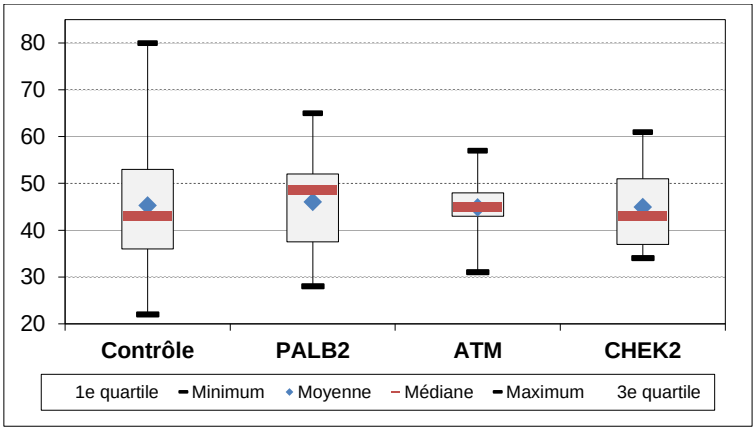


Figure 40 : Ages au diagnostic de cancer du sein chez les patients non porteurs de mutation incidente, présentant une mutation incidente de *PALB2*, d'*ATM* et de *CHEK2*.

II.3.4.2 Détection des mutations incidentes dans l'indication Lynch

Le groupe Lynch comprend 145 individus et le groupe contrôle 1674. Il a été montré une augmentation significative des mutations syndromiques des gènes *MLH1*, *MSH2* et *MSH6*. Aucune mutation incidente n'a été retrouvée à un taux significativement supérieur par ailleurs. (Tableau 14 et Figure 41)

	Patients Lynch (n=145)		Contrôles non Lynch (n=1674)		
	Nombre de MI	Pourcentage (%)	Nombre de MI	Pourcentage (%)	p-value
ATM	1	0,7	25	1,5	0,460
BARD1	0	0,0	3	0,2	0,610
BRCA1	1	0,7	90	5,4	0,013
BRCA2	1	0,7	104	6,2	0,006
BRIP1	0	0,0	8	0,5	0,404
CDH1	0	0,0	1	0,1	0,768
CHEK2	1	0,7	14	0,8	0,970
(MLH1)	(9)	(6,2)	(2)	(0,1)	(1,2E-19)
MRE11A	0	0,0	3	0,2	0,610
(MSH2)	(15)	(10,3)	(1)	(0,1)	(4,3E-37)
(MSH6)	(7)	(4,8)	(4)	(0,2)	(8,1E-12)
MUTYH	0	0,0	4	0,2	0,556
PALB2	0	0,0	16	1,0	0,269
(PMS2)	(1)	(0,7)	(2)	(0,1)	(0,105)
PTCH1	0	0,0	48	2,9	0,039
PTCH2	0	0,0	2	0,1	0,677
PTEN	0	0,0	40	2,4	0,060
RAD50	0	0,0	8	0,5	0,404
SUFU	0	0,0	3	0,2	0,610
TP53	1	0,7	4	0,2	0,320
TOTAL	5	3,4	111	6,6	

Tableau 14 : Mutations incidentes dans le syndrome Lynch et comparaison des moyennes entre le groupe Lynch et le groupe contrôle. Entre parenthèses les mutations syndromiques Lynch. MI : Mutation Incidente

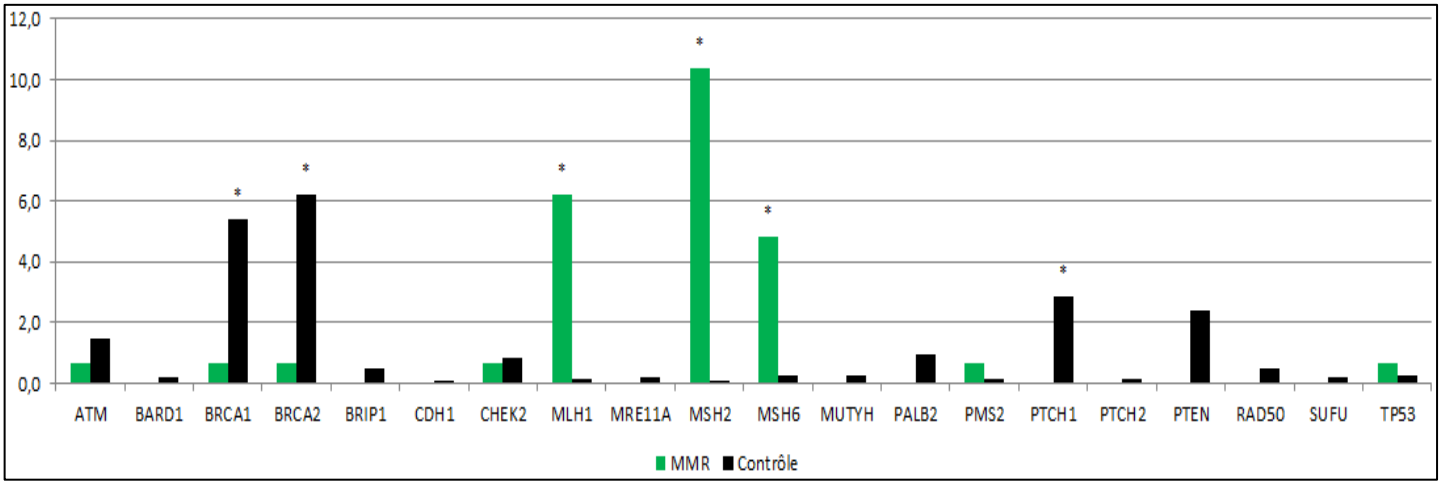


Figure 41 : Comparaison des pourcentages de mutations incidentes délétères ainsi que des mutations syndromiques de Lynch retrouvées par gène dans le groupe Lynch et le groupe contrôle. * = différence significative

II.3.4.3 Détection des mutations incidentes dans l'indication Gorlin

Le groupe Gorlin comprend 157 patients et le groupe contrôle en compte 1662. Comme escompté, il a été retrouvé une fréquence plus importante de mutations délétères dans les gènes *PTCH1* et *SUFU* chez les patients du groupe Gorlin versus contrôle avec respectivement 28,0 % versus 0,2 % (p-value=0,000) et 1,9 % vs 0,0 % (p-value=$1,70^{e-08}$). (Tableau 1 et Figure 42). Il a en outre été mis en évidence une augmentation significative des mutations délétères dans le gène *RAD50* dans le groupe Gorlin : 1,9 % contre 0,3 % (p-value=0,004).

	Patients Gorlin (n=157)		Contrôles non Gorlin (n=1662)		
	Nombre de MI	Pourcentage (%)	Nombre de MI	Pourcentage (%)	p-value
ATM	1	0,6	25	1,5	0,382
BARD1	0	0,0	3	0,2	0,594
BRCA1	0	0,0	91	5,5	0,003
BRCA2	1	0,6	104	6,3	0,004
BRIP1	0	0,0	8	0,5	0,384
CDH1	0	0,0	1	0,1	0,759
CHEK2	0	0,0	15	0,9	0,232
MLH1	0	0,0	11	0,7	0,307
MRE11A	1	0,6	2	0,1	0,127
MSH2	0	0,0	16	1,0	0,212
MSH6	0	0,0	11	0,7	0,307
MUTYH	0	0,0	4	0,2	0,538
PALB2	0	0,0	16	1,0	0,217
PMS2	0	0,0	3	0,2	0,594
(PTCH1)	(44)	(28,0)	(4)	(0,2)	(9,6E-96)
PTCH2	0	0,0	2	0,1	0,664
PTEN	0	0,0	40	2,4	0,0493
RAD50	3	1,9	5	0,3	0,004
(SUFU)	(03)	(1,9)	(0)	(0)	(1,7E-08)
TP53	1	0,6	4	0,2	0,365
TOTAL	10	6,4	106	6,4	

Tableau 15 : Mutations incidentes dans le syndrome Gorlin et comparaison des moyennes entre le groupe Gorlin et le groupe contrôle. Entre parenthèses les mutations syndromiques de Gorlin. MI : Mutation Incidente

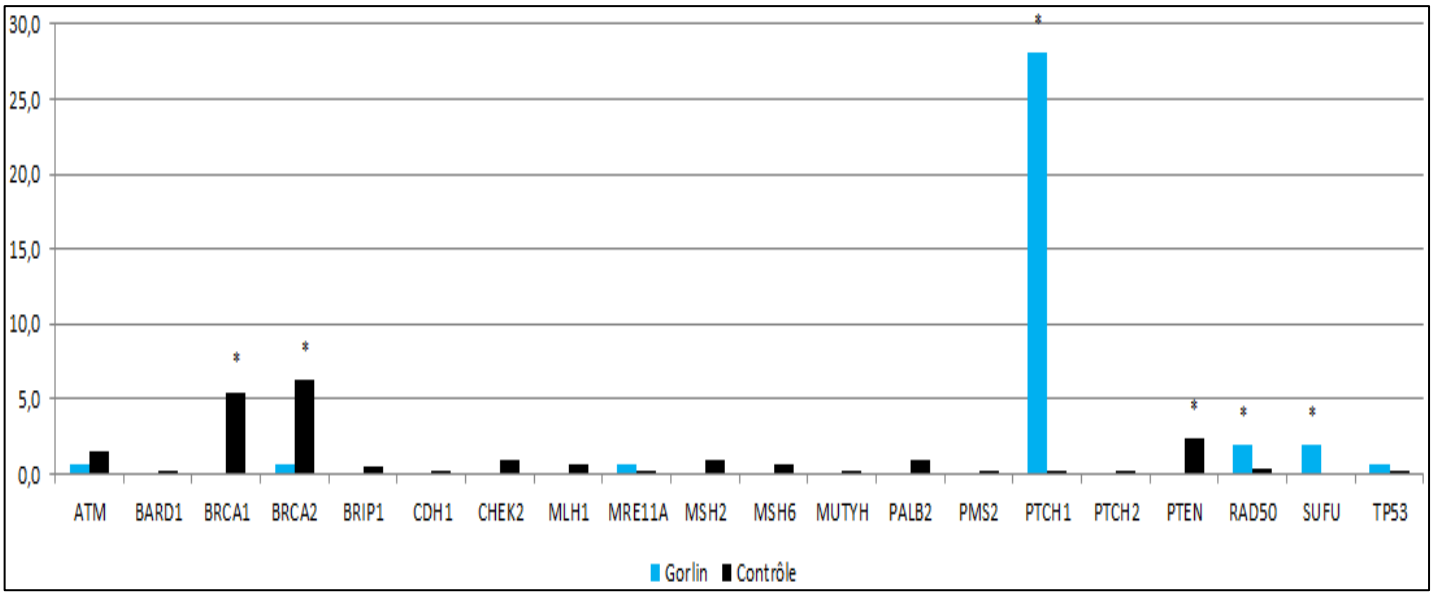


Figure 42 : Comparaison des pourcentages de mutations incidentes délétères ainsi que des mutations syndromiques de Gorlin retrouvées par gène dans le groupe Gorlin et le groupe contrôle. * = différence significative

II.3.4.4 Détection des mutations incidentes dans l'indication Cowden

De la même manière, les mutations incidentes des patients criblés pour le syndrome de Cowden ont été comparées avec celles du groupe contrôle formé des patients des 3 autres indications. Le groupe Cowden est constitué de 221 patients et le groupe contrôle de 1598 patients.

Dans cette configuration, seuls *PTEN* et *MUTYH* sortent statistiquement davantage associés au syndrome de Cowden qu'au groupe contrôle avec respectivement 18,1 % versus 0 % (p-value=$2{,}80^{e\text{-}66}$) et 0,9 % versus 0,1 % (p-value=0,020). (Tableau 16 et Figure 43)

Un autre point à noter est que sur les 40 mutations retrouvées dans le gène *PTEN*, toutes l'ont été dans le cadre d'un criblage pour syndrome de Cowden.

	Patients Cowden (n=221)		Contrôles non Cowden (n=1598)		
	Nombre de MI	Pourcentage (%)	Nombre de MI	Pourcentage (%)	p-value
ATM	0	0,0	26	1,6	0,056
BARD1	1	0,5	2	0,1	0,261
BRCA1	2	0,9	89	5,6	0,003
BRCA2	4	1,8	101	6,3	0,007
BRIP1	1	0,5	7	0,4	0,976
CDH1	0	0,0	1	0,1	0,710
CHEK2	1	0,5	14	0,9	0,514
MLH1	1	0,5	10	0,6	0,755
MRE11A	1	0,5	2	0,1	0,263
MSH2	0	0,0	16	1,0	0,135
MSH6	1	0,5	10	0,6	0,755
MUTYH	2	0,9	2	0,1	0,020
PALB2	0	0,0	16	1,0	0,135
PMS2	0	0,0	3	0,2	0,520
PTCH1	4	1,8	44	2,8	0,412
PTCH2	1	0,5	1	0,1	0,101
(PTEN)	(40)	(18,1)	(0)	(0,0)	(0,000)
RAD50	1	0,5	7	0,4	0,976
SUFU	0	0,0	3	0,2	0,519
TP53	0	0,0	5	0,3	0,405
TOTAL	20	9,0	96	6,0	

Tableau 16 : Mutations incidentes dans le syndrome Cowden et comparaison des moyennes entre le groupe Cowden et le groupe contrôle. Entre parenthèses les mutations syndromiques de Cowden. MI : Mutation Incidente

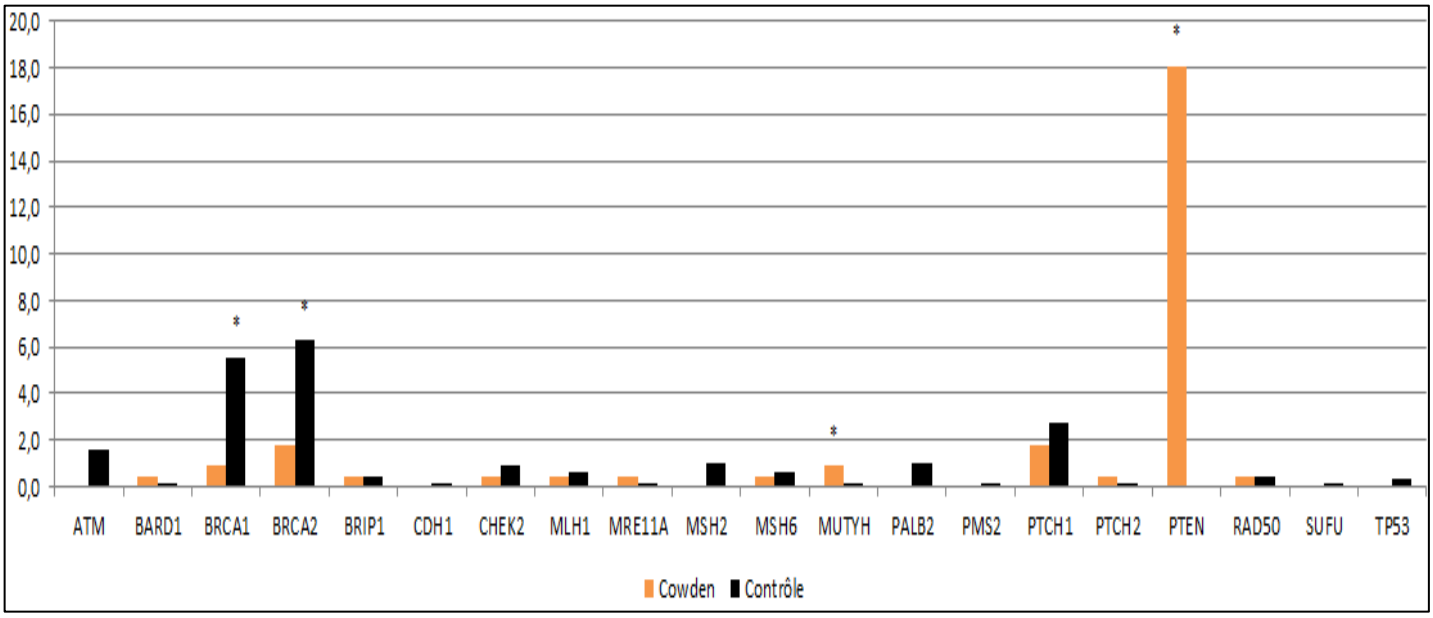


Figure 43 : Comparaison des pourcentages de mutations incidentes délétères ainsi que des mutations syndromiques de Cowden retrouvées par gène dans le groupe Cowden et le groupe contrôle. * = différence significative

II.4 - DISCUSSION

II.4.1 Syndrome HBOC

II.4.1.1 Mutations de BRCA1 et BRCA2

Le taux de mutations délétères de *BRCA1* et *BRCA2* retrouvées dans cette étude (14,4 %) est plus élevé que la moyenne nationale révélée par le rapport Oncogénétique 2015 de l'INCa (10,8 %) (2). Les récentes études internationales trouvent une fréquence comprise entre 9 et 18 % (Eliade et al 2016, Kwong et al 2016, Norquist et al 2016, Francies et al 2015, Walsh et al 2011). A noter qu'il est de 15,4 % lorsqu'il s'agit de patients suivis à l'Institut Bergonié et similaire à la moyenne nationale lorsqu'il provient de l'extérieur (10,7 %). Cette différence entre les résultats de l'Institut Bergonié et la moyenne nationale est statistiquement significative : les prescriptions de criblage moléculaire par les généticiens cliniciens du Centre Bergonié sont donc davantage ciblées et plus sélectives que dans la pratique nationale. La répartition entre *BRCA1* (6,8 %) et *BRCA2* (7,6 %) est concordante avec les données de la littérature.

II.4.1.2 Mutations incidentes chez les patients HBOC

En ce qui concerne le taux de mutations incidentes retrouvées, les données de notre étude confirment au niveau français ceux des études récentes. Dans le syndrome HBOC, le taux de mutations incidentes est de 6,3 %. Il est de 6 % dans les études de Eliade et al (2016) et de Kraus et al (2016), de 3,9 % dans l'étude de Thompson et al (2016) et de 4,3 % dans l'étude de Tung et al (2015). Nous avons mis en évidence 2 gènes dans lesquels des mutations incidentes ont été davantage retrouvées par rapport au groupe contrôle.

PALB2

Des mutations délétères ont ainsi été retrouvées dans *PALB2* chez 1,2 % de nos patients présentant un syndrome HBOC, contre 0,0 % dans le groupe contrôle (p = 0,017).

Il n'a pas été possible de calculer d'odds ratio pour *PALB2* car il n'y a aucun patient avec une mutation incidente de ce gène au sein du groupe contrôle. Couch et al ont publié en avril 2017 dans JAMA Oncology les résultats de leur étude portant également sur la mesure de l'association entre le cancer du sein et les mutations retrouvés dans des panels de gènes de prédisposition au cancer. Ils ont utilisé la base de données ExAC (145) pour

constituer leur groupe contrôle, conférant une grande puissance statistique à leur étude. Ils ont pu calculer l'odds ratio du gène *PALB2 : OR, 7.46* ($IC_{95\%}$ = [5,12 ; 11,19]). La pénétrance associée à *PALB2* a été estimée à 33 % ($IC_{95\%}$ = [25;44]) pour une femme porteuse sans apparenté atteint ou à 58 % ($IC_{95\%}$ = [50 ;66]) pour une femme porteuse avec 2 apparentés au premier degré atteintes d'un cancer du sein diagnostiqués à 50 ans (Southey et al, 2016). Au vu de l'ensemble de ces données, il apparaît que le niveau de risque de cancer du sein chez les femmes porteuses d'une mutation du gène *PALB2* est considéré comme très élevé selon la terminologie du référentiel HAS 2014. Cette étude appuie la décision d'ajouter le criblage du gène *PALB2* dans le criblage des prédispositions au syndrome héréditaire sein-ovaire.

Nous avons alors comparé les mutations incidentes chez les patients mutés *BRCA* versus *BRCA* wild-type. Concernant *PALB2*, la fréquence de mutations incidentes est bien plus importante chez les patients wild-type vis-à-vis de *BRCA*. Il n'y a que très peu de données dans la littérature concernant des co-occurrences *BRCA1/2* et *PALB2* et celles-ci semblent rares. Heikkinen et al ont ainsi trouvé chez des patientes criblées pour syndrome HBOC 2 patientes avec une double mutation délétère *PALB2/BRCA2*.(146) Plus récemment, une étude portant sur la population francophone du Québec conclut que ces co-occurrences sont rares mais elle ne se base que sur une seule mutation de *PALB2*, jusque-là la seule retrouvée dans cette population. (147) Plus récemment, une étude retrouve plusieurs cas de doubles mutations *BRCA1/2* et de *PALB2*, suggérant que la présence d'une mutation de *PALB2* est indépendante du statut de *BRCA*. (148) C'est une donnée intéressante car le fait de savoir si une mutation prédispose au cancer du sein et de l'ovaire indépendamment du statut de *BRCA1/2* permet d'utiliser ou non les mutations délétères de ce gène comme marqueur spécifique de risque de développer un cancer. La patiente porteuse de la double mutation *BRCA2-PALB2* mentionnée plus haut a présenté à 32 ans un cancer du sein de type carcinome canalaire infiltrant de grade III avec récepteurs hormonaux positifs sans surexpression du récepteur HER2. L'âge de survenue de ce cancer doublement muté est substantiellement plus précoce que l'âge moyen de survenue des cancers du sein chez les patientes de l'étude portant une mutation non-sens du gène *BRCA2* (45,7 ans) ou du gène *PALB2* (42,7 ans).

ATM

Des mutations délétères sont ainsi retrouvées dans *ATM* chez 1,9 % de nos patients présentant un syndrome HBOC (p = 0 ,020) et dans *PALB2* chez 1,2 % d'entre eux (p = 0,017). Concernant *ATM*, l'odds ratio ressort à 4 ,92 ($IC_{95\%}$ = [1,16 ; 20,89]). Le risque semble donc modéré à élevé mais c'est à pondérer avec la pénétrance qui a été estimé par Marabelli et al en 2016 à 6,02 % à 50 ans ($IC_{95\%}$ = [4,6;7,4]) et 32.83 % à 80 ans ($IC_{95\%}$ = [24,6;40,4]). Néanmoins, étant donné la fréquence élevée des hétérozygotes *ATM*, estimée à 0,5-1 %, les mutations du gène *ATM* sont impliquées dans une proportion non négligeable de cas de cancer du sein dans la population générale.

A propos de la comparaison de fréquence des mutations incidentes entre patients mutés et sauvages vis-à-vis de *BRCA*, nous avons ainsi pu mettre en évidence des mutations incidentes d'*ATM* dans des proportions similaires dans ces deux groupes. Nous avons cherché des caractéristiques différentes entre les mutations de ces deux groupes sans pouvoir en mettre en évidence. Il n'y avait à notre connaissance aucune donnée publiée à ce sujet. Aucun type de mutation n'était caractéristique du groupe *BRCA* muté ou wild-type. Le fait que l'âge au diagnostic des patients atteints d'un cancer du sein et porteurs d'une double mutation *ATM-BRCA* soit substantiellement inférieur à celui de patients uniquement porteurs d'une mutation délétère de *BRCA* est en faveur d'une hypothèse pathogène des mutations incidentes du gène *ATM*. Le fait que ces mutations soient retrouvées préférentiellement chez les patients présentant un syndrome HBOC et qu'elles soient retrouvées à la fois chez les patients wild-type et mutés *BRCA* semble indiquer que la présence d'une mutation *ATM* ne soit pas suffisante pour induire le phénotype tumoral. L'hypothèse donc d'un digénisme est possible mais il n'existe pas de partenaire identifié à l'heure actuel. Il serait intéressant de réaliser un séquençage de l'exome chez ces patients afin d'essayer d'en mettre un en évidence, ce qui serait une première.

Autres gènes

En ce qui concerne *CHECK2*, nous avons également mis en évidence une fréquence plus élevée de mutations délétères dans le groupe HBOC par rapport au groupe contrôle puisqu'elle est 2,5 fois plus élevée. Malheureusement, les effectifs en jeu ne nous

permettent pas de conclure à une différence statistiquement significative. De la même manière, cette étude trouvait une fréquence plus élevée de *BRIP1* dans la population HBOC (p = 0,01) mais avec un risque conféré faiblement augmenté (OR 1,63 , $IC_{95\%}$ = [1,11 ; 2,41]). Nous n'avons pour notre part que pu mettre en évidence une fréquence plus élevée dans le groupe HBOC, sans pouvoir affirmer de différence significative.

Relation phénotype – génotype

Score de Manchester

Dans sa publication présentant le score de Manchester en 2004, Evans propose un score combiné *BRCA1/BRCA2* de Manchester seuil à 10 pour obtenir un seuil de prédiction de détection d'une mutation de *BRCA1* ou *BRCA2* à 10 %. Il donne alors les performances de son score avec ces paramètres : sensibilité du test à 87 % et spécificité à 65 %. Dans sa mise à jour de 2005, Evans a fixé un score de Manchester cut-off à 15 points pour obtenir la même probabilité de détection d'une mutation *BRCA1* ou *BRCA2*. Dans notre étude, avec un cut-off à 15, nous trouvons une sensibilité du score de Manchester de 75 %, une spécificité de 51 %, une valeur prédictive positive de 23 % et une valeur prédictive négative de 93 %. Si nous déplaçons la valeur seuil du score seuil de Manchester à 10, la sensibilité est excellente à 98% mais c'est au détriment de la spécificité qui chute à 9 %. Le score cut-off à 15 permet d'obtenir pour ce score un pourcentage de patients mutés *BRCA* à 15,6 % alors que la probabilité est inférieure à 10 (9,6 %) pour un score de Manchester à 14. Notre étude confirme donc les performances intrinsèques du score de Manchester et la pertinence de son utilisation en pratique clinique du fait de sa très grande simplicité d'emploi.

Evolution de la relation entre le score de Manchester et le statut BRCA

Au-delà du simple score seuil de probabilité de 10 %, l'évolution de la répartition entre patients *BRCA1/2* mutés ou wild-type selon la catégorie de score de Manchester est cohérente avec la publication originelle de la présentation du score de Manchester.(138) On note une augmentation progressive du taux de patients mutés *BRCA1* ou *BRCA2* en parallèle de la hausse du score de Manchester. Ce qui n'est en soit pas surprenant car le score de Manchester reprend l'hérédité personnelle et familiale. Il est néanmoins intéressant de confirmer l'intuition par des données chiffrées, c'est ce que nous avons fait.

En comparant les différents phénotypes possibles, nous avons mis en évidence une répartition singulière des patients présentant une histoire familiale de cancer(s) de l'ovaire(s) dans les différentes classes. En effet, il y a significativement plus d'antécédents ovariens dans les 3 dernières classes de score de Manchester, ce qui est logique compte tenu du poids du cancer de l'ovaire dans ce score mais, de manière a priori plus surprenante, dans la première catégorie également. Il y a en fait une raison à cela : contrairement au cancer du sein où l'on réalise une recherche de mutation constitutionnelle lorsqu'on suspecte une origine héréditaire sur la base d'atteintes familiales multiples, la recherche de mutation constitutionnelle est systématique chez le cas index même en l'absence d'atteinte de la parenté. De fait, il existe chez ces patients beaucoup d'histoires de cancers de l'ovaire isolé, ne faisant pas augmenter le score de Manchester au-delà du cas index.

Score de Manchester et PALB2

Alors que l'augmentation du score de Manchester est concomitante avec l'augmentation du taux de patients mutés *BRCA1* ou *BRCA2*, il n'en est rien pour *PALB2*. Aucune tendance ne se dégage. Il en découle donc que le score de Manchester, qui a été développé pour être un score de prédiction de mutation de *BRCA1* ou *BRCA2*, n'est pas un score de prédiction de *PALB2*. Si les mutations de *PALB2* sont davantage retrouvées chez les patients présentant un syndrome Seins-Ovaires, il ne semble donc pas qu'il y ait de lien avec le poids de l'hérédité tumorale familiale globale de cancers du sein, de l'ovaire, du pancréas et de la prostate.

Score de Manchester et ATM

Tout comme pour *PALB2*, il ne semble pas y avoir de corrélation entre le score de Manchester et la présence d'une mutation incidente délétère d'*ATM*. Le score de Manchester n'est donc pas non plus adapté à l'évaluation pré-test de mutations des gènes *ATM*. Néanmoins, une association statistique a été mise en évidence : elle concerne l'augmentation de fréquence des mutations d'*ATM* chez les patients présentant une histoire familiale de cancers du pancréas, ce qui est cohérent avec de récentes études montrant une fréquence accrue de mutations délétères au sein du gène *ATM* chez les patients atteints d'un cancer du pancréas.(149) De la même manière que pour *BRCA* avec les inhibiteurs de poly(ADP-ribose), des recherches sont actuellement en cours et pourraient permettre

d'aboutir à des thérapies ciblées contre *ATM* qui est, tout comme *BRCA*, un gène codant pour une protéine impliquée dans la réparation des lésions de l'ADN. (150)

Score de Manchester et CHEK2

Bien que nous n'ayons pu démontrer d'association statistiquement significative, la fréquence plus élevée de mutations de *CHEK2* retrouvée chez les patients présentant un syndrome HBOC est en accord avec les résultats d'études récentes qui font ressortir *CHEK2* comme gène de susceptibilité au cancer de sein.(145) Des analyses sur de plus grands effectifs pourraient permettre d'apporter un surplus de puissance statistique permettant de conclure.

Mutations incidentes chez les cas-index présentant un cancer du sein

Quel que soit le gène *PALB2, ATM* ou *CHEK2* dans lequel une mutation incidente est retrouvée, le type histologique et l'immuno-histochimie des cancers sont similaires : carcinome canalaire infiltrant et non « triple négatif ».

Concernant les types de mutations incidentes retrouvées pour ces 3 gènes, aucune relation statistique ne permet de faire un lien entre la position dans le gène, le type de mutation et l'histologie. On peut juste noter que l'âge au diagnostic est inférieur pour ces 3 gènes lorsqu'il s'agit d'une mutation non-sens.

Il a été rapporté que la totalité des mutations incidentes d'*ATM* touchent le domaine fonctionnel « Armadillo-tyle fold » mais ce domaine est présent sur la quasi-totalité de la protéine. Il n'est donc pas possible de formuler une hypothèse fonctionnelle à partir de cette information.

II.4.2 Syndrome de Lynch

La mise en évidence d'une augmentation statistiquement significative de la fréquence des mutations de *MLH1*, *MSH2* et *MSH6* chez les patients souffrant d'un syndrome de Lynch par rapport aux contrôles était attendue car conforme à la littérature et à la physiopathologie (cf. partie généralité).

Bien que non significative, l'étude a également mis en évidence une majoration de fréquence des mutations délétères des exons 6, 7, 8 et 10 de *PMS2* (0,7 % versus 0,1 % ; p-value = 0,105), gène connu pour être associé au syndrome étudié et de *TP53* (0,7 % versus 0,2 % ; p-value = 0,320).

II.4.3 Syndrome de Gorlin

La comparaison des mutations incidentes entre les patients atteints du syndrome de Gorlin et les cas contrôles a mis en évidence une augmentation significative de l'incidence des mutations délétères dans les gènes *PTCH1*, *SUFU* et *RAD50*. Comme abordé précédemment, le syndrome de Gorlin peut être expliqué par une mutation du gène *PTCH1* et *SUFU* peut, lui, être à l'origine d'un syndrome de Gorlin-like. A ce jour, *RAD50* n'a en revanche à notre connaissance jamais été rattaché au syndrome de Gorlin. Comme le précise l'INCa (151), *RAD50* peut être associé aux pathologies suivantes : Ataxie-télangiectasie, Ataxie-télangiectasie-like et syndrome seins-ovaires. Il convient donc d'examiner le cas des 3 patients qui ont été criblés avec l'indication « Syndrome de Gorlin » afin d'écarter une situation où l'indication Gorlin aurait été portée sur un cas frustre qui ne serait en définitive pas forcément un syndrome de Gorlin, afin d'éliminer une erreur de prescription faussant les résultats.

Le premier patient est un homme de 27 ans présentant les critères majeurs du syndrome de Gorlin : carcinomes baso-cellulaires multiples, pits palmo-plantaires, calcifications de la faux du cerveau, bosses frontales et biparietales et médulloblastome. Le séquençage retrouve une mutation délétère de *PTCH1* par décalage du cadre de lecture avec probable mosaïcisme, considérée comme significative du syndrome de Gorlin. Il a par ailleurs été retrouvé une mutation incidente de *RAD50* de type frameshift dans l'exon 4/25, induisant l'apparition d'un codon stop prématuré et donc la production d'une protéine non

fonctionnelle. Au total, l'indication de criblage moléculaire chez ce patient semble tout à fait indiquée.

Le second patient est une femme de 59 ans présentant de multiples carcinomes baso-cellulaires depuis l'âge de 44 ans, un kyste au niveau d'une molaire et des calcifications de la faux du cerveau. Il existe des antécédents familiaux de carcinomes baso-cellulaires chez la mère de la patiente ainsi que chez 3 apparentés au second degré. A noter que la fille de la patiente a présenté à 9 mois un hépatoblastome et que la mère de la patiente présentait des polypes et que la patiente n'a à ce jour jamais bénéficié d'une endoscopie. D'un point de vue génétique, il n'a pas été mis en évidence de mutation de *PTCH1* ni de *SUFU* chez la patiente mais une mutation avec décalage du cadre de lecture de l'exon 19/25 de *RAD50*. Au total, la symptomatologie exprimée chez la patiente est concordante avec un syndrome de Gorlin. L'association d'un hépatoblastome de jeune âge de survenue chez la fille avec des polypes chez la mère pourrait faire évoquer un autre syndrome tumoral avec prédisposition héréditaire : la polypose adénomateuse familiale. Néanmoins, il n'est pas retrouvé dans la littérature d'association entre ce syndrome et le gène *RAD50*.

Enfin, le troisième patient est un garçon de 15 ans présentant des symptômes dysmorphiques à type de macrocrânie, pits palmo-plantaires bilatéraux, de bosses frontales bilatérales, de lésions cutanéomuqueuses à type de kyste cutané, de lésion polypoïdes linguales et de kérato-kystes odontogènes mandibulaires, associés à des difficultés essentiellement motrices dans la réalisation des actes. Même en l'absence de carcinome baso-cellulaire, la présence de 2 critères majeurs et d'un critère mineur permet d'affirmer le diagnostic de syndrome de Gorlin. D'un point de vue génétique, il est retrouvé une mutation de l'exon 20 du gène *PTCH1* ainsi qu'une mutation au niveau du site consensus accepteur d'épissage de l'intron 24 avec prédiction in silico de retentissement sur l'épissage.

Au final, sur l'ensemble de ces 3 patients, il apparaît que l'indication initiale était en accord avec la symptomatologie de ces patients. Le seul chevauchement phénotypique ne retrouve aucune intersection sur ces 3 patients comme on le voit dans le Tableau 17 :

Symptômes	Patient 1	Patient 2	Patient 3
Même sexe	X		X
Même tranche d'âge			
Carcinomes baso-cellulaires	X	X	
Pits palmo-plantaires	X		X
Calcification de la faux du cerveau	X	X	
Kystes odontogéniques		X	X
Bosses frontales et bipariétales	X		X
Médulloblastome	X		
Lésions cutanéomuqueuses			X
Difficultés motrices			X

Tableau 17 : Chevauchements phénotypiques des 3 patients ayant été criblés pour un syndrome de Gorlin et chez qui le séquençage retrouve une mutation délétère de *RAD50*.

Pour aller plus loin, nous avons regardé le phénotype des 5 autres patients présentant des mutations incidentes de *RAD50* afin de voir si, au-delà du syndrome de Gorlin, il se dessinait un chevauchement phénotypique. Aucun symptôme commun ne put être mis en évidence. Le seul point commun de ces 5 autres patients est la présence d'un cancer du sein mais, comme nous l'avons vu dans la catégorie résultat, il n'y a pas significativement plus de mutations de *RAD50* chez les patients souffrant d'un syndrome HBOC que chez les sujets contrôles. Le fait que les 5 patients supplémentaires aient tous un cancer du sein relève donc d'un biais de recrutement.

En définitive, nous ne pouvons expliquer à l'heure actuelle l'augmentation de la fréquence de mutations *RAD50* chez les patients atteints du syndrome de Gorlin. Dans 2 cas sur les 3 de notre étude, le syndrome de Gorlin est déjà expliqué par une mutation délétère du gène *PTCH1*. Les mutations incidentes de *RAD50* dans ces 2 cas ne sont donc pas responsables de la pathologie. Il n'existe en définitive qu'un seul patient présentant un syndrome de Gorlin non expliqué par une mutation de *PTCH1* et présentant une mutation délétère de *RAD50*. Cet effectif ne permet pas de conclure quant à l'implication de ce gène dans le phénotype présenté par le patient mais représente plutôt une fluctuation d'échantillonnage.

II.4.4 Syndrome de Cowden

Lorsque l'indication de la prescription était le syndrome de Cowden, 2 gènes ont été retrouvés avec des mutations délétères significativement plus fréquentes que dans le groupe contrôle. Le premier des deux est *PTEN*. Ce n'est pas surprenant car, comme nous l'avons vu dans la première partie, les mutations de ce gène sont déjà connues comme étant à l'origine de ce syndrome.

La présence du gène *MUTYH* interroge davantage. 2 mutations ont été retrouvées. Il s'agit en réalité d'un seul patient car, pour rappel, nous n'avons inclus dans l'étude que les mutations bi-alléliques de ce gène. *MUTYH* est connu pour être associé au syndrome appelé « Polypose adénomateuse associée à *MUTYH* ». Il s'agit d'une affection à transmission autosomique récessive liée à une mutation germinale, comme son nom l'indique, du gène *MUTYH*. L'expression clinique des mutations bi-alléliques de *MUTYH* est décrite le plus souvent comme une polypose adénomateuse atténuée se révélant à l'âge adulte avec classiquement un nombre de polypes colorectaux compris entre 15 et 100, avec un âge moyen au diagnostic de l'ordre de 45 ans. Chez ces patients, le risque relatif de cancer colorectal de l'ordre de 30 à 50 par rapport à la population générale. Au moment du diagnostic, environ 50 % des patients présentent une polypose dégénérée.

Il est donc intéressant de confronter cela à la symptomatologie du patient pour lequel nous avons retrouvé une double mutation incidente délétère de *MUTYH*. Nous ne disposons que d'informations partielles car il s'agit d'un prélèvement reçu de l'extérieur. Nous apprenons néanmoins qu'il s'agit d'un patient chez qui il vient d'être diagnostiqué à 42 ans un cancer du côlon sur un polype dégénéré et que les coloscopies retrouvent plusieurs polypes. En conclusion, du fait de la présence de mutations retrouvées chez un unique patient et qu'il existe un chevauchement phénotypique avec la polypose adénomateuse associée à *MUTYH* », il est légitime de penser a posteriori qu'il ne s'agit probablement pas d'un syndrome de Cowden mais probablement de cette polypose. Nous ne pouvons donc pas retenir la double mutation de *MUTYH* délétère comme étant statistiquement plus souvent associée à un syndrome de Cowden.

II.4.5 Limites de l'étude

II.4.5.1 Effectifs des séries

La première limite de cette étude concerne l'effectif des patients inclus dans certaines séries. Si la population totale est de 1819 individus, ceux-ci ont majoritairement été inclus dans le cadre d'un syndrome HBOC. Les autres séries ont donc un nombre de patients bien moins conséquent et cela impacte sur la puissance de l'étude. Une des possibilités seraient de réaliser un travail bio-informatique en reprenant les informations disponibles dans les bases de données internationales telles que GnomAD. GnomAD a été développé par une coalition d'investigateurs dans le but d'accumuler des séquençages d'exomes et de génomes. Plus précisément, cette base de données comprend plus de 123 000 exomes et 15 génomes entiers, séquencés dans le cadre de pathologies divers. Il conviendrait donc d'extraire ces données et d'en exclure l'ensemble des patients ayant bénéficié d'un séquençage pour une pathologie cancéreuse. Nous aurions alors une cohorte bien plus importante face à laquelle nous pourrions confronter nos données avec une plus grande puissance statistique. Ce procédé a été utilisé récemment dans un article publié dans le Journal JAMA Oncology. (145)

II.4.5.2 Nature des contrôles

L'étude n'a pas été conduite sur la population générale mais sur des patients. Chaque groupe syndromique est contrôle pour les autres groupes. Il en découle que tous les patients investigués sont atteints de pathologie cancéreuse dans l'un des quatre cadres étudiés. Il existe donc un biais manifeste de sélection. Néanmoins, ce biais concerne les individus des groupes contrôles. En effet, dans tous ces groupes, il existe des gènes avec des mutations délétères significativement plus fréquentes que dans la cohorte présentant le syndrome étudié :

- Contrôle du syndrome HBOC : *MLH1, MSH2, MSH6, PTCH1, PTEN*
- Contrôle du syndrome de Cowden : *BRCA1, BRCA2*
- Contrôle du syndrome de Gorlin : *BRCA1, BRCA2, PTEN*
- Contrôle du syndrome de Lynch : *BRCA1, BRA2, PTCH1*

Ces mutations ne sont pas à considérer comme des mutations qui seraient protectrices vis-à-vis du syndrome étudié bien qu'on les retrouve statistiquement plus dans les groupes contrôles. Elles sont en réalité le reflet de la nature des groupes contrôle. Par

exemple, nous retrouvons *BRCA1* et *BRCA2* plus associés dans les groupes contrôles hors syndrome HBOC que dans les groupes étudiés, non qu'une mutation délétère de *BRCA1* et *BRCA2* soient protectrices mais qu'elles ont une forte prévalence dans le groupe HBOC, principale sous-population de l'étude et servant de groupe contrôle aux syndromes de Lynch, Gorlin et de Cowden.

II.4.5.3 Tri des mutations

Comme expliqué dans le chapitre « Méthodes », les mutations ont été triées dans les règles de l'art en suivant les recommandations en vigueur. Il se peut néanmoins que la classification décidée dans cette étude puisse être amenée à évoluer concernant certains variants, notamment ceux pour lesquels la pathogénicité a été supposée par des logiciels de prédiction in silico sans test fonctionnel, comme c'est le cas des mutations d'épissage par exemple.

Par ailleurs, dans le but de ne sélectionner que les mutations d'origine constitutionnelle, nous avons éliminé les mutations retrouvées à une faible fréquence allélique. Nous avons supposé qu'il s'agît de mutations somatiques détectées dans le sang. L'étude des dossiers médicaux informatifs évoquaient en effet pour certains d'entre eux une phase de réactivation tumorale.

CONCLUSION

Cette étude est à notre connaissance la première étude française d'envergure comparant l'association entre les génotypes et les phénotypes familiaux de cancers du syndrome HBOC, du syndrome de Lynch, de Gorlin et de Cowden au moyen d'une technique de séquençage haut-débit en utilisant un panel de 25 gènes de prédisposition aux cancers. En plus de *BRCA1* et *BRCA2* connus depuis longtemps maintenant comme gènes de susceptibilité du syndrome sein-ovaire, il apparaît que les mutations incidentes délétères des gènes *PALB2* et *ATM* sont associées à une plus grande fréquence dans ce syndrome. Du fait de son odds ratio et de sa pénétrance élevés, *PALB2* doit être considéré comme un gène de susceptibilité, au même titre que *BRCA1* et *BRCA2* et justifie désormais son utilisation en pratique clinique. *ATM* apparaît comme statistiquement associé aux cancers du sein mais son odds ratio et sa pénétrance inférieure à ceux observés pour *PALB2* ne permettent pas de le considérer comme un gène de susceptibilité aux cancers du sein conditionnant une prise en charge médicale spécifique. Nous avons également confirmé l'intérêt du score de Manchester en tant qu'outil à la fois performant et pratique qui peut donc être utilisé en consultation d'oncogénétique pour déterminer la probabilité de mutation de *BRCA1* ou *BRCA2* et donc pour décider ou non d'un criblage moléculaire chez le patient. Par contre, ce score n'est pas prédictif des mutations des gènes *PALB2, ATM* et *CHEK2*. Il sera donc nécessaire de préciser à l'avenir les caractéristiques cliniques et généalogiques devant faire rechercher l'existence d'une mutation constitutionnelle du gène *PALB2*. D'autres études d'associations seront nécessaires afin de trouver de tels facteurs prédictifs.

Nous avons par ailleurs observé que les mutations du gène *ATM* n'étaient pas exclusives de celles des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, ce qui ne semble pas vraiment le cas des mutations *PALB2.* La faible pénétrance des mutations *ATM* suggère l'implication d'autres facteurs génétiques dans le développement d'un cancer du sein. Nous avons de plus pu confirmer les résultats d'études associant les mutations délétères d'*ATM* au risque de développement du cancer du pancréas.

D'un point de vue technique, il conviendrait de réaliser une étude d'association en se basant sur une très large cohorte de témoins, ce qui donnerait une puissance supérieure à

cette étude et pourrait permettre de déceler d'autres associations statistiquement significatives que nous ne pouvons mettre en évidence ici, comme c'est le cas en particulier pour la fréquence des mutations de *CHEK2* chez les patients atteints d'un syndrome HBOC.

Avec le temps, les données s'affinent et nous connaissons de mieux en mieux les gènes de susceptibilité des cancers. Malgré tout, nous ignorons pour encore environ 50 % des cas l'origine de la prédisposition héréditaire. Il est donc probable que d'autres gènes de prédisposition restent à découvrir, agissant seul ou probablement avec un déterminisme multigénique. Plus informatif encore que le NGS ciblé sur un panel limité de gènes de prédispositions aux cancers, le séquençage de l'exome et a fortiori du génome entier vont pouvoir révéler des anomalies du génome dans des zones encore non explorées. Il sera donc intéressant de suivre les résultats des études qui vont se multiplier dans un avenir proche du fait de l'accès plus facile et à moindre coût à ces types de séquençage. Cette démarche, visant à identifier toutes les cibles pour lesquelles une thérapie existe, fait glisser la médecine personnalisée de la notion de risque à celle d'« actionnabilité ». La question médicale n'est ainsi plus tant de savoir quel est le risque associé aux mutations décelées mais davantage quelles sont les actions possibles. La découverte et la confirmation de nouveaux gènes de prédisposition aux cancers ont ainsi plusieurs implications majeures. La première est la conséquence sur la parenté du cas-index. En effet, le statut mutationnel d'un de ces nouveaux gènes chez le cas-index oriente la prise en charge de prévention primaire chez les apparentés : l'apparenté non porteur de la mutation du cas-index rejoindra le risque de la population générale alors que l'apparenté qui présentera la même mutation que le cas-index sera à haut risque et donc bénéficiera d'un suivi adapté. Les conséquences psychologiques pour les patients et financières pour la collectivité sont donc très importantes. La seconde conséquence de la découverte de ces nouveaux gènes de susceptibilité aux cancers est la voie ouverte à la recherche afin de mettre au point des thérapies ciblées pour les patients porteurs d'une mutation d'un de ces gènes, comme c'est le cas actuellement avec les inhibiteurs de PARP chez les patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire et mutées *BRCA*.

MOTS-CLÉS

Prédispositions héréditaires aux cancers, cancer du sein, cancer de l'ovaire, HBOC, *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *ATM*, mutations constitutionnelles, mutations incidentes, mutations actionnables, score de Manchester, séquençage haut-débit, Lynch, Gorlin, Cowden, France

BIBLIOGRAPHIE

1. Walsh T, Lee MK, Casadei S, Thornton AM, Stray SM, Pennil C, et al. Detection of inherited mutations for breast and ovarian cancer using genomic capture and massively parallel sequencing. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Jul 13;107(28):12629–33.

2. Institut National du Cancer. Oncogénétique en 2015 - Consultations et laboratoires. 2017 Jan.

3. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. Cell. 2011 Mar 4;144(5):646–74.

4. Ressources Numériques en Biologie. La régulation du cycle cellulaire. [internet] [cited 2017 Aug 16]. Available from: https://rnbio.upmc.fr/bio-cell_cycle-cellulaire_introduction.

5. Stehelin D, Varmus HE, Bishop JM, Vogt PK. DNA related to the transforming gene(s) of avian sarcoma viruses is present in normal avian DNA. Nature. 1976 Mar 11;260(5547):170–3.

6. Knudson AG. Mutation and Cancer: Statistical Study of Retinoblastoma. Proc Natl Acad Sci U S A. 1971 Apr;68(4):820–3.

7. Cowppli-Bony A, Uhry Z, Remontet L, Guizard A-V, Voirin N, Monnereau A, Bouvier A-M, Colonna M, Bossard N, Woronoff A-S, Grosclaude P. Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine, 1989-2013. Partie 1 – Tumeurs solides. Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire ; 2016.

8. Institut National du Cancer. Cancers du sein - Du diagnostic au suivi. 2016 Nov.

9. International Agency for Research on Cancer. Globoscan 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. [internet] [cited 2017 Aug 16] Available from: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx?country=900

10. Howell A, Anderson AS, Clarke RB, Duffy SW, Evans DG, Garcia-Closas M, et al. Risk determination and prevention of breast cancer. Breast Cancer Res. 2014 Sep 28;16(5):446.

11. Colditz GA, Bohlke K. Priorities for the primary prevention of breast cancer. CA Cancer J Clin. 2014 Jun;64(3):186–94.

12. Parkin DM, Boyd L, Walker LC. 16. The fraction of cancer attributable to lifestyle and environmental factors in the UK in 2010. Br J Cancer. 2011 Dec 6;105(Suppl 2):S77–81.

13. Lynch BM, Neilson HK, Friedenreich CM. Physical activity and breast cancer prevention. Recent Results Cancer Res Fortschritte Krebsforsch Progres Dans Rech Sur Cancer. 2011;186:13–42.

14. Chen WY, Rosner B, Hankinson SE, Colditz GA, Willett WC. Moderate alcohol consumption during adult life, drinking patterns, and breast cancer risk. JAMA. 2011 Nov 2;306(17):1884–90.

15. Patterson RE, Cadmus LA, Emond JA, Pierce JP. Physical activity, diet, adiposity and female breast cancer prognosis: A review of the epidemiologic literature. Maturitas. 2010 May 1;66(1):5–15.

16. Preston DL, Mattsson A, Holmberg E, Shore R, Hildreth NG, Boice JD. Radiation effects on breast cancer risk: a pooled analysis of eight cohorts. Radiat Res. 2002 Aug;158(2):220–35.

17. Key TJ, Verkasalo PK, Banks E. Epidemiology of breast cancer. Lancet Oncol. 2001 Mar;2(3):133–40.

18. McPherson K, Steel CM, Dixon JM. ABC of breast diseases. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics. BMJ. 2000 Sep 9;321(7261):624–8.

19. Cutuli B, Kanoun S, Tunon De Lara C, Baron M, Livi L, Levy C, et al. Breast cancer occurred after Hodgkin's disease: clinico-pathological features, treatments and outcome: analysis of 214 cases. Crit Rev Oncol Hematol. 2012 Jan;81(1):29–37.

20. Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale. Santé et Environnement - Expertise collective, 2008.

21. Kelsey JL, Bernstein L. Epidemiology and prevention of breast cancer. Annu Rev Public Health. 1996;17:47–67.

22. Cancer Research UK. Breast cancer incidence (invasive) statistics. [Internet] [cited 2017 Aug 24]. 2015. Available from: http://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/breast-cancer/incidence-invasive.

23. Institut National du Cancer. Les Cancers en France - édition 2015. 2016 Apr.

24. Hartmann LC, Sellers TA, Frost MH, Lingle WL, Degnim AC, Ghosh K, et al. Benign Breast Disease and the Risk of Breast Cancer. N Engl J Med. 2005 Jul 21;353(3):229–37.

25. Yager JD, Davidson NE. Estrogen carcinogenesis in breast cancer. N Engl J Med. 2006 Jan 19;354(3):270–82.

26. Glade MJ. Food, nutrition, and the prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research/World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research, 1997. Nutr Burbank Los Angel Cty Calif. 1999 Jun;15(6):523–6.

27. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411

women without breast cancer. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Lancet Lond Engl. 1997 Oct 11;350(9084):1047–59.

28. Layde PM, Webster LA, Baughman AL, Wingo PA, Rubin GL, Ory HW. The independent associations of parity, age at first full term pregnancy, and duration of breastfeeding with the risk of breast cancer. Cancer and Steroid Hormone Study Group. J Clin Epidemiol. 1989;42(10):963–73.

29. International Agency for Research on Cancer. Press Release N° 167. 2005 Jul.

30. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. JAMA. 2002 Jul 17;288(3):321–33.

31. Beral V, Million Women Study Collaborators. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. Lancet Lond Engl. 2003 Aug 9;362(9382):419–27.

32. Pharoah PD, Day NE, Duffy S, Easton DF, Ponder BA. Family history and the risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. Int J Cancer. 1997 May 29;71(5):800–9.

33. Curtis RE, Freedman DM, Ron E, Ries LAG, Hacker DG, Edwards BK, Tucker MA, Fraumeni JF Jr. (eds). New Malignancies Among Cancer Survivors: SEER Cancer Registries, 1973-2000. National Cancer Institute. NIH Publ. No. 05-5302. Bethesda, MD, 2006.

34. Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale. Santé et Environnement - Expertise collective, 2008.

35. Mørch LS, Løkkegaard E, Andreasen AH, Krüger-Kjaer S, Lidegaard O. Hormone therapy and ovarian cancer. JAMA. 2009 Jul 15;302(3):298–305.

36. Collaborative Group On Epidemiological Studies Of Ovarian Cancer, Beral V, Gaitskell K, Hermon C, Moser K, Reeves G, et al. Menopausal hormone use and ovarian cancer risk: individual participant meta-analysis of 52 epidemiological studies. Lancet Lond Engl. 2015 May 9;385(9980):1835–42.

37. Camargo MC, Stayner LT, Straif K, Reina M, Al-Alem U, Demers PA, et al. Occupational exposure to asbestos and ovarian cancer: a meta-analysis. Environ Health Perspect. 2011 Sep;119(9):1211–7.

38. Schouten LJ, Rivera C, Hunter DJ, Spiegelman D, Adami H-O, Arslan A, et al. Height, body mass index, and ovarian cancer: a pooled analysis of 12 cohort studies. Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol. 2008 Apr;17(4):902–12.

39. Prevalence and penetrance of BRCA1 and BRCA2 mutations in a population-based series of breast cancer cases. Br J Cancer. 2000 Nov;83(10):1301–8.

40. Final Update Summary: BRCA-Related Cancer: Risk Assessment, Genetic Counseling, and Genetic Testing - US Preventive Services Task Force. [internet] [cited 2017 Sep 15] Available from: https://www.uspreventiveservicestaskforce.org/Page/Document/RecommendationStatementFinal/brca-related-cancer-risk-assessment-genetic-counseling-and-genetic-testing.

41. Bonaïti-Pellié C, Andrieu N, Arveux P, Bonadona V, Buecher B, Delpech M, et al. [Cancer genetics: estimation of the needs of the population in France for the next ten years]. Bull Cancer (Paris). 2009 Sep;96(9):875–900.

42. Robertson L, Hanson H, Seal S, Warren-Perry M, Hughes D, Howell I, et al. BRCA1 testing should be offered to individuals with triple-negative breast cancer diagnosed below 50 years. Br J Cancer. 2012 Mar 13;106(6):1234–8.

43. Aloraifi F, Boland MR, Green AJ, Geraghty JG. Gene analysis techniques and susceptibility gene discovery in non-BRCA1/BRCA2 familial breast cancer. Surg Oncol. 2015 Jun;24(2):100–9.

44. Hall JM, Lee MK, Newman B, Morrow JE, Anderson LA, Huey B, et al. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. Science. 1990 Dec 21;250(4988):1684–9.

45. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. Science. 1994 Oct 7;266(5182):66–71.

46. Wooster R, Neuhausen SL, Mangion J, Quirk Y, Ford D, Collins N, et al. Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13. Science. 1994 Sep 30;265(5181):2088–90.

47. Szabo CI, Wagner LA, Francisco LV, Roach JC, Argonza R, King MC, et al. Human, canine and murine BRCA1 genes: sequence comparison among species. Hum Mol Genet. 1996 Sep;5(9):1289–98.

48. Joukov V, Chen J, Fox EA, Green JBA, Livingston DM. Functional communication between endogenous BRCA1 and its partner, BARD1, during Xenopus laevis development. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001 Oct 9;98(21):12078–83.

49. Welcsh PL, Owens KN, King MC. Insights into the functions of BRCA1 and BRCA2. Trends Genet TIG. 2000 Feb;16(2):69–74.

50. Anderson SF, Schlegel BP, Nakajima T, Wolpin ES, Parvin JD. BRCA1 protein is linked to the RNA polymerase II holoenzyme complex via RNA helicase A. Nat Genet. 1998 Jul;19(3):254–6.

51. West SC. Molecular views of recombination proteins and their control. Nat Rev Mol Cell Biol. 2003 Jun;4(6):435–45.

52. Antoniou A, Pharoah PDP, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE, Hopper JL, et al. Average Risks of Breast and Ovarian Cancer Associated with BRCA1 or BRCA2 Mutations Detected in Case Series Unselected for Family History: A Combined Analysis of 22 Studies. Am J Hum Genet. 2003 May;72(5):1117–30.

53. Nelson HD, Fu R, Goddard K, Mitchell JP, Okinaka-Hu L, Pappas M, et al. Risk Assessment, Genetic Counseling, and Genetic Testing for BRCA-Related Cancer: Systematic Review to Update the U.S. Preventive Services Task Force Recommendation. Agency for Healthcare Research and Quality (US). 2013 Dec.

54. Jóhannsson OT, Idvall I, Anderson C, Borg A, Barkardóttir RB, Egilsson V, et al. Tumour biological features of BRCA1-induced breast and ovarian cancer. Eur J Cancer Oxf Engl 1990. 1997 Mar;33(3):362–71.

55. Lakhani SR, Manek S, Penault-Llorca F, Flanagan A, Arnout L, Merrett S, et al. Pathology of Ovarian Cancers in BRCA1 and BRCA2 Carriers. Clin Cancer Res. 2004 Apr 1;10(7):2473–81.

56. Chompret A, Abel A, Stoppa-Lyonnet D, Brugiéres L, Pagés S, Feunteun J, et al. Sensitivity and predictive value of criteria for p53 germline mutation screening. J Med Genet. 2001 Jan;38(1):43–7.

57. Orphanet: Syndrome de Li Fraumeni. [Internet] [cited 2017 Sep 1]. Available from: http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=FR&Expert=524.

58. Olivier M, Goldgar DE, Sodha N, Ohgaki H, Kleihues P, Hainaut P, et al. Li-Fraumeni and related syndromes: correlation between tumor type, family structure, and TP53 genotype. Cancer Res. 2003 Oct 15;63(20):6643–50.

59. Orphanet: Syndrome de Peutz Jeghers. [Internet] [cited 2017 Sep 1]. Available from: http://www.orpha.net/consor4.01/www/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=FR&data_id=233&MISSING%20CONTENT=Syndrome-de-Peutz-Jeghers&search=Disease_Search_Simple&title=Syndrome-de-Peutz-Jeghers.

60. Alessi DR, Sakamoto K, Bayascas JR. LKB1-dependent signaling pathways. Annu Rev Biochem. 2006;75:137–63.

61. McGarrity TJ, Amos CI, Baker MJ. Peutz-Jeghers Syndrome. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJ, et al., editors. GeneReviews(®).Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993. [Internet] [cited 2017 Aug 23]. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1266.

62. Overduin M, Harvey TS, Bagby S, Tong KI, Yau P, Takeichi M, et al. Solution structure of the epithelial cadherin domain responsible for selective cell adhesion. Science. 1995 Jan 20;267(5196):386–9.

63. Weinberg R. The Biology of Cancer. Garland Science. 2006 Jun.

64. Berx G, Cleton-Jansen AM, Nollet F, de Leeuw WJ, van de Vijver M, Cornelisse C, et al. E-cadherin is a tumour/invasion suppressor gene mutated in human lobular breast cancers. EMBO J. 1995 Dec 15;14(24):6107–15.

65. Walsh T, King M-C. Ten genes for inherited breast cancer. Cancer Cell. 2007 Feb;11(2):103–5.

66. Khanna KK, Jackson SP. DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection. Nat Genet. 2001 Mar;27(3):247–54.

67. Williams RS, Williams JS, Tainer JA. Mre11-Rad50-Nbs1 is a keystone complex connecting DNA repair machinery, double-strand break signaling, and the chromatin template. Biochem Cell Biol Biochim Biol Cell. 2007 Aug;85(4):509–20.

68. Orphanet: Ataxie telangiectasie. [Internet] [cited 2017 Sep 1]. Available from: http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=100.

69. Bartek J, Lukas J. Chk1 and Chk2 kinases in checkpoint control and cancer. Cancer Cell. 2003 May;3(5):421–9.

70. CHEK2*1100delC and Susceptibility to Breast Cancer: A Collaborative Analysis Involving 10,860 Breast Cancer Cases and 9,065 Controls from 10 Studies. Am J Hum Genet. 2004 Jun;74(6):1175–82.

71. Aloraifi F, McCartan D, McDevitt T, Green AJ, Bracken A, Geraghty J. Protein-truncating variants in moderate-risk breast cancer susceptibility genes: a meta-analysis of high-risk case-control screening studies. Cancer Genet. 2015 Sep;208(9):455–63.

72. Xia B, Sheng Q, Nakanishi K, Ohashi A, Wu J, Christ N, et al. Control of BRCA2 Cellular and Clinical Functions by a Nuclear Partner, PALB2. Mol Cell. 2006 Jun 23;22(6):719–29.

73. Buisson R, Dion-Côté A-M, Coulombe Y, Launay H, Cai H, Stasiak AZ, et al. Cooperation of breast cancer proteins PALB2 and piccolo BRCA2 in stimulating homologous recombination. Nat Struct Mol Biol. 2010 Oct;17(10):1247–54.

74. Dray E, Etchin J, Wiese C, Saro D, Williams GJ, Hammel M, et al. Enhancement of RAD51 recombinase activity by the tumor suppressor PALB2. Nat Struct Mol Biol. 2010 Oct;17(10):1255–9.

75. Antoniou AC, Casadei S, Heikkinen T, Barrowdale D, Pylkäs K, Roberts J, et al. Breast-Cancer Risk in Families with Mutations in PALB2. N Engl J Med. 2014 Aug 7;371(6):497–506.

76. Cantor SB, Bell DW, Ganesan S, Kass EM, Drapkin R, Grossman S, et al. BACH1, a novel helicase-like protein, interacts directly with BRCA1 and contributes to its DNA repair function. Cell. 2001 Apr 6;105(1):149–60.

77. Seal S, Thompson D, Renwick A, Elliott A, Kelly P, Barfoot R, et al. Truncating mutations in the Fanconi anemia J gene BRIP1 are low-penetrance breast cancer susceptibility alleles. Nat Genet. 2006 Nov;38(11):1239–41.

78. Ramus SJ, Song H, Dicks E, Tyrer JP, Rosenthal AN, Intermaggio MP, et al. Germline Mutations in the BRIP1, BARD1, PALB2, and NBN Genes in Women With Ovarian Cancer. J Natl Cancer Inst. 2015 Nov;107(11).

79. Bhaskara V, Dupré A, Lengsfeld B, Hopkins BB, Chan A, Lee J-H, et al. Rad50 adenylate kinase activity regulates DNA tethering by Mre11/Rad50 complexes. Mol Cell. 2007 Mar 9;25(5):647–61.

80. de Jager M, Wyman C, van Gent DC, Kanaar R. DNA end-binding specificity of human Rad50/Mre11 is influenced by ATP. Nucleic Acids Res. 2002 Oct 15;30(20):4425–31.

81. Raymond É. Le concept de cible en cancérologie. Thérapie ciblée des cancers. John Libbey Eurotext. 2009 May.

82. Rass E, Grabarz A, Plo I, Gautier J, Bertrand P, Lopez BS. Role of Mre11 in chromosomal nonhomologous end joining in mammalian cells. Nat Struct Mol Biol. 2009 Aug;16(8):819–24.

83. Melchor L, Benítez J. The complex genetic landscape of familial breast cancer. Hum Genet. 2013 Aug 1;132(8):845–63.

84. Orphanet: Syndrome de Cowden. [Internet] [cited 2017 Sep 1]. Available from: http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=201.

85. Pilarski R. Cowden syndrome: a critical review of the clinical literature. J Genet Couns. 2009 Feb;18(1):13–27.

86. Gustafson S, Zbuk KM, Scacheri C, Eng C. Cowden syndrome. Semin Oncol. 2007 Oct;34(5):428–34.

87. Eng C. Will the real Cowden syndrome please stand up: revised diagnostic criteria. J Med Genet. 2000 Nov;37(11):828–30.

88. Lloyd KM, Dennis M. Cowden's disease. A possible new symptom complex with multiple system involvement. Ann Intern Med. 1963 Jan;58:136–42.

89. Nelen MR, Padberg GW, Peeters EA, Lin AY, van den Helm B, Frants RR, et al. Localization of the gene for Cowden disease to chromosome 10q22-23. Nat Genet. 1996 May;13(1):114–6.

90. Nelen MR, Staveren V, G WC, Peeters EAJ, Ben Hassel M, Gorlin RJ, et al. Germline Mutations in the PTEN/MMAC1 Gene in Patients With Cowden Disease. Hum Mol Genet. 1997 Aug 1;6(8):1383–7.

91. Marsh DJ, Coulon V, Lunetta KL, Rocca-Serra P, Dahia PL, Zheng Z, et al. Mutation spectrum and genotype-phenotype analyses in Cowden disease and Bannayan-Zonana

syndrome, two hamartoma syndromes with germline PTEN mutation. Hum Mol Genet. 1998 Mar;7(3):507–15.

92. Chung J-H, Eng C. Nuclear-cytoplasmic partitioning of phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10 (PTEN) differentially regulates the cell cycle and apoptosis. Cancer Res. 2005 Sep 15;65(18):8096–100.

93. Lee JO, Yang H, Georgescu MM, Di Cristofano A, Maehama T, Shi Y, et al. Crystal structure of the PTEN tumor suppressor: implications for its phosphoinositide phosphatase activity and membrane association. Cell. 1999 Oct 29;99(3):323–34.

94. Weng L, Brown J, Eng C. PTEN induces apoptosis and cell cycle arrest through phosphoinositol-3-kinase/Akt-dependent and -independent pathways. Hum Mol Genet. 2001 Feb 1;10(3):237–42.

95. Leslie NR, Downes CP. PTEN function: how normal cells control it and tumour cells lose it. Biochem J. 2004 Aug 15;382(Pt 1):1–11.

96. Davies MA, Kim SJ, Parikh NU, Dong Z, Bucana CD, Gallick GE. Adenoviral-mediated expression of MMAC/PTEN inhibits proliferation and metastasis of human prostate cancer cells. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 2002 Jun;8(6):1904–14.

97. Liliental J, Moon SY, Lesche R, Mamillapalli R, Li D, Zheng Y, et al. Genetic deletion of the Pten tumor suppressor gene promotes cell motility by activation of Rac1 and Cdc42 GTPases. Curr Biol CB. 2000 Apr 6;10(7):401–4.

98. Stambolic V, Suzuki A, de la Pompa JL, Brothers GM, Mirtsos C, Sasaki T, et al. Negative regulation of PKB/Akt-dependent cell survival by the tumor suppressor PTEN. Cell. 1998 Oct 2;95(1):29–39.

99. Vazquez F, Sellers WR. The PTEN tumor suppressor protein: an antagonist of phosphoinositide 3-kinase signaling. Biochim Biophys Acta. 2000 Feb 14;1470(1):M21-35.

100. Podsypanina K, Ellenson LH, Nemes A, Gu J, Tamura M, Yamada KM, et al. Mutation of Pten/Mmac1 in mice causes neoplasia in multiple organ systems. Proc Natl Acad Sci U S A. 1999 Feb 16;96(4):1563–8.

101. Uppal S, Mistry D, Coatesworth AP. Cowden disease: a review. Int J Clin Pract. 2007 Apr;61(4):645–52.

102. Sansal I, Sellers WR. The biology and clinical relevance of the PTEN tumor suppressor pathway. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 2004 Jul 15;22(14):2954–63.

103. Orphanet: Syndrome de Gorlin. [Internet] [cited 2017 Sep 1]. Available from: http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=377.

104. Mitchell G, Farndon PA, Brayden P, Murday VA, Eeles RA. Genetic predisposition to cancer: the consequences of a delayed diagnosis of Gorlin syndrome. Clin Oncol R Coll Radiol G B. 2005 Dec;17(8):650–4.

105. Wolff K, Goldsmith L, Katz S, Gilchrest B, Paller AS, Leffell D. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. 7th Edition. 2008.

106. Rupprecht M, Mensing CH, Barvencik F, Ittrich H, Heiland M, Rueger JM, et al. Skeletal and dermatological manifestations of the nevoid Basal cell carcinoma syndrome (Gorlin-Goltz syndrome). Results of 8 patients in 12 years. ROFO Fortschr Geb Rontgenstr Nuklearmed. 2007 Jun;179(6):618–26.

107. Gorlin RJ. Nevoid basal cell carcinoma (Gorlin) syndrome. Genet Med Off J Am Coll Med Genet. 2004 Dec;6(6):530–9.

108. Lo Muzio L. Nevoid basal cell carcinoma syndrome (Gorlin syndrome). Orphanet J Rare Dis. 2008 Nov 25;3:32.

109. Kimonis VE, Goldstein AM, Pastakia B, Yang ML, Kase R, DiGiovanna JJ, et al. Clinical manifestations in 105 persons with nevoid basal cell carcinoma syndrome. Am J Med Genet. 1997 Mar 31;69(3):299–308.

110. Stavrou T, Dubovsky EC, Reaman GH, Goldstein AM, Vezina G. Intracranial calcifications in childhood medulloblastoma: relation to nevoid basal cell carcinoma syndrome. AJNR Am J Neuroradiol. 2000 Apr;21(4):790–4.

111. Veenstra-Knol HE, Scheewe JH, van der Vlist GJ, van Doorn ME, Ausems MGEM. Early recognition of basal cell naevus syndrome. Eur J Pediatr. 2005 Mar;164(3):126–30.

112. Farndon PA, Del Mastro RG, Kilpatrick MW, Evans DRG. Location of gene for Gorlin syndrome. The Lancet. 1992 Mar 7;339(8793):581–2.

113. Hahn H, Wicking C, Zaphiropoulous PG, Gailani MR, Shanley S, Chidambaram A, et al. Mutations of the human homolog of Drosophila patched in the nevoid basal cell carcinoma syndrome. Cell. 1996 Jun 14;85(6):841–51.

114. Johnson RL, Rothman AL, Xie J, Goodrich LV, Bare JW, Bonifas JM, et al. Human homolog of patched, a candidate gene for the basal cell nevus syndrome. Science. 1996 Jun 14;272(5268):1668–71.

115. Bale AE, Yu KP. The hedgehog pathway and basal cell carcinomas. Hum Mol Genet. 2001 Apr;10(7):757–62.

116. Boutet N, Bignon Y-J, Drouin-Garraud V, Sarda P, Longy M, Lacombe D, et al. Spectrum of PTCH1 Mutations in French Patients with Gorlin Syndrome. J Invest Dermatol. 2003 Sep 1;121(3):478–81.

117. Lindström E, Shimokawa T, Toftgård R, Zaphiropoulos PG. PTCH mutations: distribution and analyses. Hum Mutat. 2006 Mar;27(3):215–9.

118. Wicking C, Shanley S, Smyth I, Gillies S, Negus K, Graham S, et al. Most germ-line mutations in the nevoid basal cell carcinoma syndrome lead to a premature termination of the PATCHED protein, and no genotype-phenotype correlations are evident. Am J Hum Genet. 1997 Jan;60(1):21–6.

119. Evans DG, Oudit D, Smith MJ, Rutkowski D, Allan E, Newman WG, et al. First evidence of genotype–phenotype correlations in Gorlin syndrome. J Med Genet. 2017 Jun 8;jmedgenet-2017-104669.

120. Taylor MD, Liu L, Raffel C, Hui C, Mainprize TG, Zhang X, et al. Mutations in SUFU predispose to medulloblastoma. Nat Genet. 2002 Jul;31(3):306–10.

121. Pastorino L, Ghiorzo P, Nasti S, Battistuzzi L, Cusano R, Marzocchi C, et al. Identification of a SUFU germline mutation in a family with Gorlin syndrome. Am J Med Genet A. 2009 Jul;149A(7):1539–43.

122. Svärd J, Heby-Henricson K, Henricson KH, Persson-Lek M, Rozell B, Lauth M, et al. Genetic elimination of Suppressor of fused reveals an essential repressor function in the mammalian Hedgehog signaling pathway. Dev Cell. 2006 Feb;10(2):187–97.

123. Bonadona V, Bonaïti B, Yhuel E, Lasset C, Bonaïti-Pellié C. Estimation des risques tumoraux dans le syndrome de Lynch : résultats de l'étude française ERISCAM. Rev DÉpidémiologie Santé Publique. 2010 Sep 1;58:S71.

124. Olschwang et al. Cancer du colon héréditaire non polyposique (Syndrome HNPCC). Orphanet. 2004 Oct.

125. Haute Autorité de Santé. Cancer colorectal : modalités de dépistage et de prévention chez les sujets à risque élevé et très élevé. Recommandation de bonne pratique. 2017 May.

126. Kolodner R. Biochemistry and genetics of eukaryotic mismatch repair. Genes Dev. 1996 Jun 15;10(12):1433–42.

127. Echols H, Goodman MF. Fidelity mechanisms in DNA replication. Annu Rev Biochem. 1991;60:477–511.

128. Fishel R, et al. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. Cell. 1993 75(5):1027-38.

129. Bronner CE, et al. Mutation in the DNA mismatch repair gene homologue hMLH1 is associated with hereditary non-polyposis colon cancer. Nature. 1994 368(6468):258-61 .

130. Miyaki M, Konishi M, Tanaka K, Kikuchi-Yanoshita R, Muraoka M, Yasuno M, et al. Germline mutation of MSH6 as the cause of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. Nat Genet. 1997 Nov;17(3):271–2.

131. Nicolaides NC, Papadopoulos N, Liu B, Weit Y-F, Carter KC, Ruben SM, et al. Mutations of two P/WS homologues in hereditary nonpolyposis colon cancer. Nature. 1994 Sep 1;371(6492):75–80.

132. De Vos M, Hayward BE, Picton S, Sheridan E, Bonthron DT. Novel PMS2 Pseudogenes Can Conceal Recessive Mutations Causing a Distinctive Childhood Cancer Syndrome. Am J Hum Genet. 2004 May 1;74(5):954–64.

133. Kovacs ME, Papp J, Szentirmay Z, Otto S, Olah E. Deletions removing the last exon of TACSTD1 constitute a distinct class of mutations predisposing to Lynch syndrome. Hum Mutat. 2009 Feb;30(2):197–203.

134. Gail MH, Brinton LA, Byar DP, Corle DK, Green SB, Schairer C, et al. Projecting individualized probabilities of developing breast cancer for white females who are being examined annually. J Natl Cancer Inst. 1989 Dec 20;81(24):1879–86.

135. Parmigiani G, Berry D, Aguilar O. Determining carrier probabilities for breast cancer-susceptibility genes BRCA1 and BRCA2. Am J Hum Genet. 1998 Jan;62(1):145–58.

136. Lee AJ, Cunningham AP, Kuchenbaecker KB, Mavaddat N, Easton DF, Antoniou AC. BOADICEA breast cancer risk prediction model: updates to cancer incidences, tumour pathology and web interface. Br J Cancer. 2014 Jan 21;110(2):535–45.

137. Eisinger F, Bressac B, Castaigne D, Cottu P-H, Lansac J, Lefranc J-P, et al. Identification et prise en charge des prédispositions héréditaires aux cancers du sein et de l'ovaire (mise à jour 2004). Bull Cancer (Paris). 2004 Mar 1;91(3):219–37.

138. Evans DGR, Eccles DM, Rahman N, Young K, Bulman M, Amir E, et al. A new scoring system for the chances of identifying a BRCA1/2 mutation outperforms existing models including BRCAPRO. J Med Genet. 2004 Jun;41(6):474–80.

139. Evans DGR, Lalloo F, Wallace A, Rahman N. Update on the Manchester Scoring System for BRCA1 and BRCA2 testing. J Med Genet. 2005 Jul;42(7):e39.

140. McLaren W, Gil L, Hunt SE, Riat HS, Ritchie GRS, Thormann A, et al. The Ensembl Variant Effect Predictor. Genome Biol. 2016 Jun 6;17(1):122.

141. Xie C, Tammi MT. CNV-seq, a new method to detect copy number variation using high-throughput sequencing. BMC Bioinformatics. 2009 Mar 6;10:80.

142. Ensembl. Variant Effect Predictor. [Internet] [cited 2017 Oct 27]. Available from: https://www.ensembl.org/vep.

143. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med Off J Am Coll Med Genet. 2015 May;17(5):405–24.

144. BiostaTGV - Statistiques en ligne. [Internet] [cited 2017 Aug 28]. Available from: https://marne.u707.jussieu.fr/biostatgv/?module=tests.

145. Couch FJ, Shimelis H, Hu C, Hart SN, Polley EC, Na J, et al. Associations Between Cancer Predisposition Testing Panel Genes and Breast Cancer. JAMA Oncol. 2017 Sep 1;3(9):1190–6.

146. Heikkinen T, Kärkkäinen H, Aaltonen K, Milne RL, Heikkilä P, Aittomäki K, et al. The breast cancer susceptibility mutation PALB2 1592delT is associated with an aggressive

tumor phenotype. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 2009 May 1;15(9):3214–22.

147. Ancot F, Arcand SL, Mes-Masson A-M, Provencher DM, Tonin PN. Double PALB2 and BRCA1/BRCA2 mutation carriers are rare in breast cancer and breast-ovarian cancer syndrome families from the French Canadian founder population. Oncol Lett. 2015 Jun;9(6):2787–90.

148. Downs B, Kim YC, Xiao F, Snyder C, Chen P, Fleissner EA, et al. Two PALB2 germline mutations found in both BRCA1+ and BRCAx familial breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 2015 May;151(1):219–24.

149. Roberts NJ, Jiao Y, Yu J, Kopelovich L, Petersen GM, Bondy M, et al. ATM mutations in hereditary pancreatic cancer patients. Cancer Discov. 2012 Jan;2(1):41–6.

150. Fong PC, Boss DS, Yap TA, Tutt A, Wu P, Mergui-Roelvink M, et al. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase in tumors from BRCA mutation carriers. N Engl J Med. 2009 Jul 9;361(2):123–34.

151. Institut National du Cancer. Liste des gènes de prédisposition et pathologies associées. 2015 Dec.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Risques cumulés de cancer du sein et de l'ovaire chez les femmes mutées *BRCA1/2* 34

Tableau 2 : Répartition au niveau national des altérations génétiques retrouvées sur les gènes du panel de gènes testés à l'Institut Bergonié..... 36

Tableau 3 : Critères majeurs et mineurs du syndrome de Gorlin 55

Tableau 4 : Critères diagnostiques du syndrome de Cowden..... 62

Tableau 5 : critères pris en considération pour l'élaboration des scores Gail, Clauss, BRCAPRO, BOADICEA, IBIS et MSS 69

Tableau 6 : Score de Manchester 2004..... 70

Tableau 7 : Gènes du panel et syndromes associés 76

Tableau 8 : Panel de 25 gènes utilisés..... 77

Tableau 9 : Nombre total de mutations détectées 81

Tableau 10 : Mutations incidentes dans le syndrome HBOC et comparaison des moyennes entre le groupe HBOC et le groupe contrôle..... 84

Tableau 11 : Mutations incidentes chez les patients HBOC *BRCA* muté et sauvage 85

Tableau 12 : Age et score de Manchester moyens par gène et par type de mutation 91

Tableau 13 : Caractérisation des mutations incidentes *PALB2*, *ATM* et *CHEK2* dans l'indication HBOC chez les patients suivis à l'Institut Bergonié..... 93

Tableau 14 : Mutations incidentes dans le syndrome Lynch et comparaison des moyennes entre le groupe Lynch et le groupe contrôle..... 95

Tableau 15 : Mutations incidentes dans le syndrome Gorlin et comparaison des moyennes entre le groupe Gorlin et le groupe contrôle 96

Tableau 16 : Mutations incidentes dans le syndrome Cowden et comparaison des moyennes entre le groupe Cowden et le groupe contrôle 98

Tableau 17 : Chevauchements phénotypiques des 3 patients ayant été criblés pour un syndrome de Gorlin et chez qui le séquençage retrouve une mutation délétère de *RAD50* 107

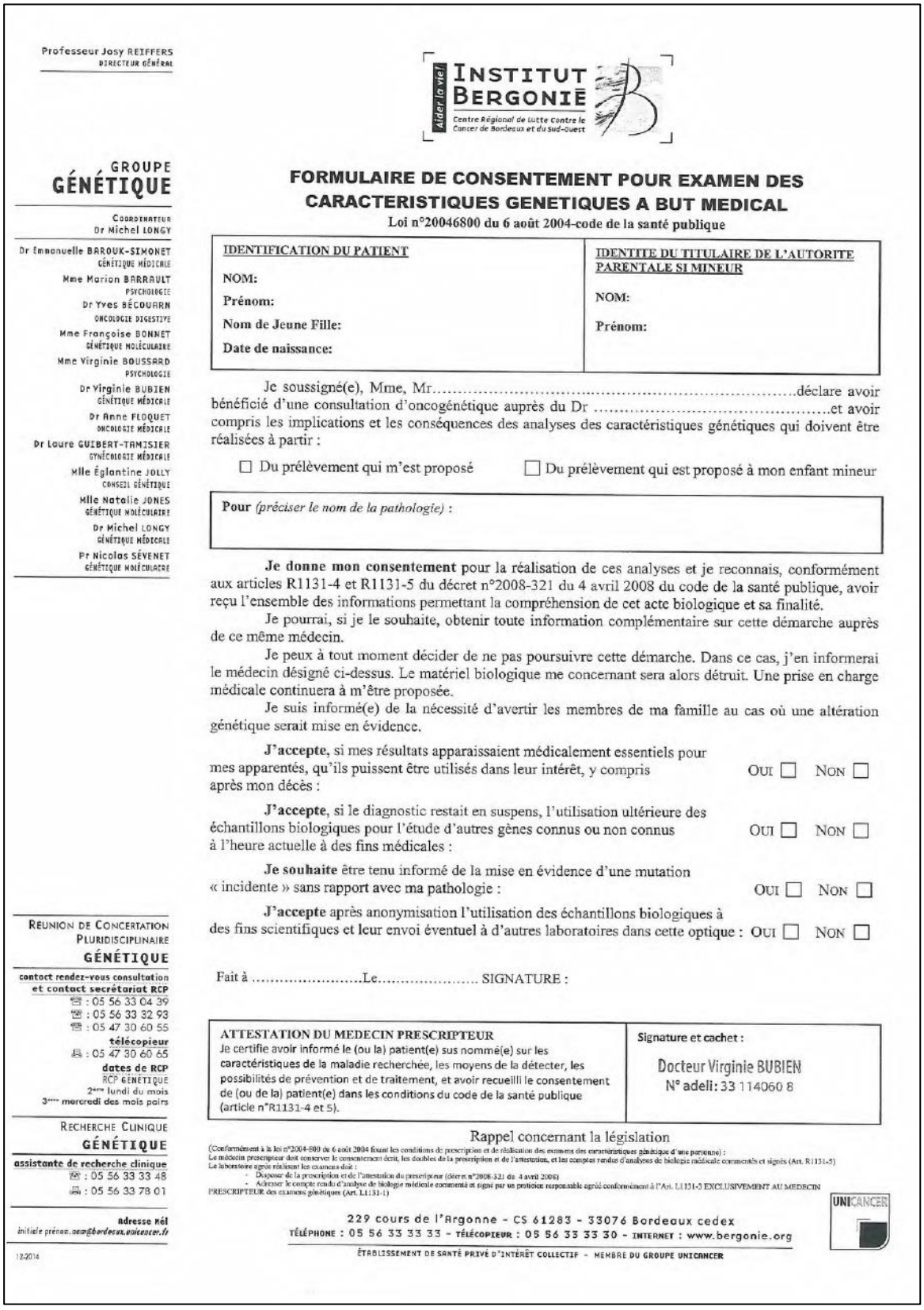
LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Caractéristiques des cellules tumorales 18
Figure 2 : Cycle cellulaire 19
Figure 3 : Hypothèse de la double atteinte de Knudson 22
Figure 4 : Relation entre la pénétrance et fréquence allélique dans le cadre du syndrome HBOC 30
Figure 5 : Localisation et représentation du gène *BRCA1* 31
Figure 6 : Localisation et représentation du gène *BRCA2* 32
Figure 7 : Constitution des protéines BRCA1 et BRCA2 33
Figure 8 : Représentation du gène *TP53* 37
Figure 9 : Localisation et représentation du gène *STK11* 39
Figure 10 : Localisation et représentation du gène *CDH1* 39
Figure 11 : Localisation et représentation du gène *ATM* 40
Figure 12 : Localisation et représentation du gène *CHEK2* 41
Figure 13 : Localisation et représentation du gène *PALB2* 42
Figure 14 : Localisation et représentation du gène *BRIP1* 43
Figure 15 : Localisation et représentation du gène *RAD50* 44
Figure 16 : Localisation et représentation du gène *RAD51C* 45
Figure 17 : Localisation et représentation du gène *MRE11A* 44
Figure 18 : Distribution des cancers du sein selon leur origine héréditaire ou sporadique (A) et selon la classe du gène impliquée (B) 46
Figure 19 : Les différents systèmes de fidélité et leurs taux d'erreurs 49
Figure 20 : Localisation et représentation du gène *MSH2* 49
Figure 21 : Localisation et représentation du gène *MLH1* 50
Figure 22 : Localisation et r*eprésentation du gène MSH6* 50
Figure 23 : Localisation et représentation du gène *PMS2* 51
Figure 24 : Localisation et représentation du gène *EPCAM* 51
Figure 25 : Manifestations cutanées et osseuses du syndrome de Gorlin A) Carcinomes baso-cellulaires multiples de la face B) Pits palmoplantaire C) Calcification de la faux du cerveau 54
Figure 26 : Localisation et représentation du gène *PTCH1* 56
Figure 27 : Voie de signalisation impliquant *PTCH1* 57
Figure 28 : Localisation et représentation du gène *SUFU* 58
Figure 29 : Manifestation muqueuses de la maladie de Cowden A) Papules linguales multiples B) Papillomatose gingivale C) aspect pavimenteux des lèvres 61
Figure 30 : Localisation et représentation du gène *PTEN* 63
Figure 31 : Voie de signalisation impliquant *PTEN* 64
Figure 32 : Répartition des différentes indications des patients inclus dans l'étude 80
Figure 33 : Diagramme de flux de l'étude. 81
Figure 34 : Comparaison des pourcentages de mutations incidentes délétères ainsi que des mutations syndromiques HBOC retrouvées par gène dans le groupe HBOC et le groupe contrôle 84
Figure 35 : Comparaison des pourcentages de mutations incidentes délétères retrouvées par gène dans le groupe des patients mutés *BRCA1* ou *BRCA2* et les patients wild-type pour ces 2 gènes 85
Figure 36 : Pourcentage des patients mutés *BRCA1*/*BRCA2* ou wild-type par classe de score de Manchester 87

Figure 37 : A) Répartition des patients par classe de score de Manchester en fonction du statut mutationnel de *PALB2*. B) Valeurs 88
Figure 38 : A) Répartition des patients par classe de score de Manchester en fonction du statut mutationnel d'*ATM*. B) Valeurs 88
Figure 39 : Ages au diagnostic de cancer du sein chez les patients porteurs et non porteurs de mutations incidentes 94
Figure 40 : Ages au diagnostic de cancer du sein chez les patients non porteurs de mutation incidente, présentant une mutation incidente de *PALB2*, d'*ATM* et de *CHEK2* 94
Figure 41 : Comparaison des pourcentages de mutations incidentes délétères ainsi que des mutations syndromiques de Lynch retrouvées par gène dans le groupe Lynch et le groupe contrôle 95
Figure 42 : Comparaison des pourcentages de mutations incidentes délétères ainsi que des mutations syndromiques de Gorlin retrouvées par gène dans le groupe Gorlin et le groupe contrôle 97
Figure 43 : Comparaison des pourcentages de mutations incidentes délétères ainsi que des mutations syndromiques de Cowden retrouvées par gène dans le groupe Cowden et le groupe contrôle 98

ANNEXES

Annexe 1 : Formulaire de consentement éclairé pour examens génétiques à l'Institut Bergonié



Professeur Josy REIFFERS
DIRECTEUR GÉNÉRAL

GROUPE
GÉNÉTIQUE

COORDINATEUR
Dr Michel LONGY

Dr Emmanuelle BAROUK-SIMONET
GÉNÉTIQUE MÉDICALE
Mme Marion BARRAULT
PSYCHOLOGIE
Dr Yves BÉCOURRN
ONCOLOGIE DIGESTIVE
Mme Françoise BONNET
GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE
Mme Virginie BOUSSARD
PSYCHOLOGIE
Dr Virginie BUBIEN
GÉNÉTIQUE MÉDICALE
Dr Anne FLOQUET
ONCOLOGIE MÉDICALE
Dr Laure GUIBERT-TAMISIER
GYNÉCOLOGIE MÉDICALE
Mlle Églantine JOLLY
CONSEIL GÉNÉTIQUE
Mlle Natalie JONES
GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE
Dr Michel LONGY
GÉNÉTIQUE MÉDICALE
Pr Nicolas SÉVENET
GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

RÉUNION DE CONCERTATION PLURIDISCIPLINAIRE
GÉNÉTIQUE
contact rendez-vous consultation et contact secrétariat RCP
☎ : 05 56 33 04 39
☎ : 05 56 33 32 93
☎ : 05 47 30 60 55
télécopieur
🖷 : 05 47 30 60 65
dates de RCP
RCP GÉNÉTIQUE
2ème lundi du mois
3ème mercredi des mois pairs

RECHERCHE CLINIQUE
GÉNÉTIQUE
assistante de recherche clinique
☎ : 05 56 33 33 48
🖷 : 05 56 33 78 01

adresse Mél
initiale prénom.nom@bordeaux.unicancer.fr

12-2014

Aider la vie!
INSTITUT BERGONIÉ
Centre Régional de Lutte contre le Cancer de Bordeaux et du Sud-Ouest

FORMULAIRE DE CONSENTEMENT POUR EXAMEN DES CARACTERISTIQUES GENETIQUES A BUT MEDICAL

Loi n°20046800 du 6 août 2004-code de la santé publique

IDENTIFICATION DU PATIENT	IDENTITE DU TITULAIRE DE L'AUTORITE PARENTALE SI MINEUR
NOM:	**NOM:**
Prénom:	**Prénom:**
Nom de Jeune Fille:	
Date de naissance:	

Je soussigné(e), Mme, Mr.....déclare avoir bénéficié d'une consultation d'oncogénétique auprès du Dr .....et avoir compris les implications et les conséquences des analyses des caractéristiques génétiques qui doivent être réalisées à partir :

☐ Du prélèvement qui m'est proposé ☐ Du prélèvement qui est proposé à mon enfant mineur

Pour *(préciser le nom de la pathologie)* :

Je donne mon consentement pour la réalisation de ces analyses et je reconnais, conformément aux articles R1131-4 et R1131-5 du décret n°2008-321 du 4 avril 2008 du code de la santé publique, avoir reçu l'ensemble des informations permettant la compréhension de cet acte biologique et sa finalité.

Je pourrai, si je le souhaite, obtenir toute information complémentaire sur cette démarche auprès de ce même médecin.

Je peux à tout moment décider de ne pas poursuivre cette démarche. Dans ce cas, j'en informerai le médecin désigné ci-dessus. Le matériel biologique me concernant sera alors détruit. Une prise en charge médicale continuera à m'être proposée.

Je suis informé(e) de la nécessité d'avertir les membres de ma famille au cas où une altération génétique serait mise en évidence.

J'accepte, si mes résultats apparaissaient médicalement essentiels pour mes apparentés, qu'ils puissent être utilisés dans leur intérêt, y compris après mon décès : OUI ☐ NON ☐

J'accepte, si le diagnostic restait en suspens, l'utilisation ultérieure des échantillons biologiques pour l'étude d'autres gènes connus ou non connus à l'heure actuelle à des fins médicales : OUI ☐ NON ☐

Je souhaite être tenu informé de la mise en évidence d'une mutation « incidente » sans rapport avec ma pathologie : OUI ☐ NON ☐

J'accepte après anonymisation l'utilisation des échantillons biologiques à des fins scientifiques et leur envoi éventuel à d'autres laboratoires dans cette optique : OUI ☐ NON ☐

Fait à .....Le..... SIGNATURE :

ATTESTATION DU MEDECIN PRESCRIPTEUR	Signature et cachet :
Je certifie avoir informé le (ou la) patient(e) sus nommé(e) sur les caractéristiques de la maladie recherchée, les moyens de la détecter, les possibilités de prévention et de traitement, et avoir recueilli le consentement de (ou de la) patient(e) dans les conditions du code de la santé publique (article n°R1131-4 et 5).	Docteur Virginie BUBIEN N° adeli: 33 114060 8

Rappel concernant la législation

(Conformément à la loi n°2004-800 du 6 août 2004 fixant les conditions de prescription et de réalisation des examens des caractéristiques génétique d'une personne) :
Le médecin prescripteur doit conserver le consentement écrit, les doubles de la prescription et de l'attestation, et les comptes rendus d'analyses de biologie médicale commentés et signés (Art. R1131-5)
Le laboratoire agréé réalisant les examens doit :
- Disposer de la prescription et de l'attestation du prescripteur (décret n°2008-321 du 4 avril 2008)
- Adresser le compte rendu d'analyse de biologie médicale commenté et signé par un praticien responsable agréé conformément à l'Art. L1131-3 EXCLUSIVEMENT AU MEDECIN PRESCRIPTEUR des examens génétiques (Art. L1131-1)

229 cours de l'Argonne - CS 61283 - 33076 Bordeaux cedex
TÉLÉPHONE : 05 56 33 33 33 - TÉLÉCOPIEUR : 05 56 33 33 30 - INTERNET : www.bergonie.org
ÉTABLISSEMENT DE SANTÉ PRIVÉ D'INTÉRÊT COLLECTIF - MEMBRE DU GROUPE UNICANCER

UNICANCER

Annexe 2-1 : Score D'Eisinger

Le Score d'Eisinger

Le score d'Eisinger est un score prenant en compte l'ensemble des antécédents familiaux, validé pour l'indication de la consultation d'oncogénétique. Il permet également de graduer le risque de cancer du sein en l'absence de mutation.

Antécédents familiaux	Cotation
Mutation BRCA1 ou 2 identifiée dans la famille	5
Cancer du sein chez une femme < 30 ans	4
Cancer du sein chez une femme entre 30 et 39 ans	3
Cancer du sein chez une femme 40 et 49 ans	2
Cancer du sein chez une femme 50 et 70 ans	1
Cancer du sein chez un homme	4
Cancer de l'ovaire	3

Résultats

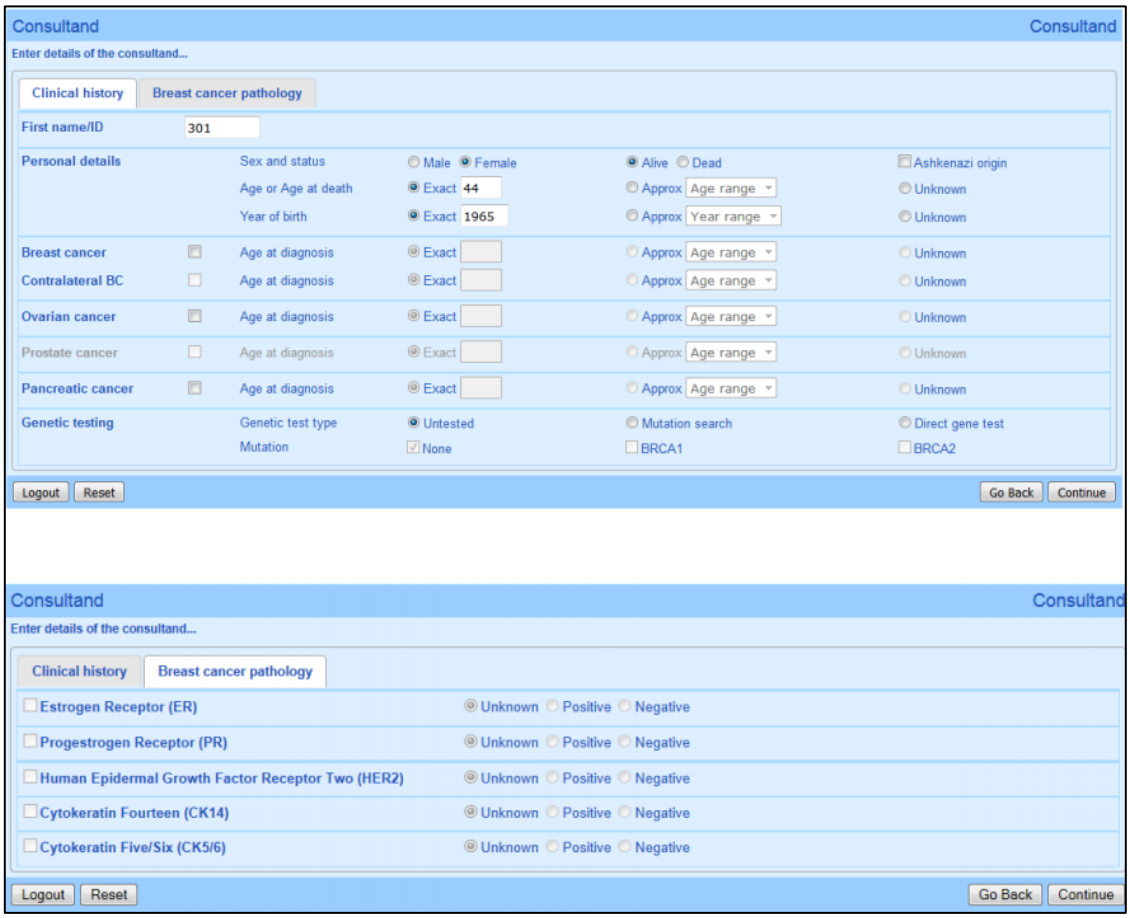
Les cotations doivent être additionnées pour chaque cas de la même branche parentale (paternelle ou maternelle).

Interprétation :

Score = 5 ou plus : excellente indication
Score = 3 ou 4 : indication possible
Score = 1 ou 2 : utilité médicale faible

Sources : Eisinger F., Bressac B., Castaigne D., Cottu P.H., Lansac J., Lefranc J.P., et *al*. Identification et prise en charge des prédispositions héréditaires aux cancers du sein et de l'ovaire. Bull Cancer 2004;91(4):219-37.

Annexe 2-2 : Interface web du score BOADICEA. Formulaire à remplir pour chaque apparenté.

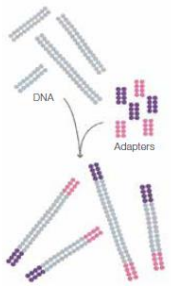


Annexe 2-3 : Proposition de fiche familiale pour le calcul des scores (Bonaïti, et al 2011)

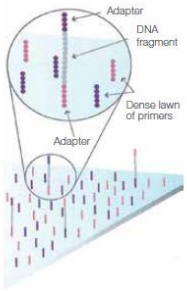
	Proposant (1)	Fratrie (2)	Enfants (3)	Père (4)	Mère (5)	2e d pat (6)	2e d mat (7)	3e d pat (8)	3e d mat (9)	Total pat (1+2+3+4+6+8)	Total mat (1+2+3+5+7+9)
Individus atteints (âge diagnostic)											
K sein femme											
< 20 ans	11	9 x . . =	9 x . . =		9	8 x . . =	8 x . . =	7 x . . =	7 x . . =		
20-29	7	6 x . . =	6 x . . =		6	5 x . . =	5 x . . =	4 x . . =	4 x . . =		
30-39	5	4 x . . =	4 x . . =		4	3 x . . =	3 x . . =	2 x . . =	2 x . . =		
40-49	4	3 x . . =	3 x . . =		3	2 x . . =	2 x . . =	1 x . . =	1 x . . =		
50-59	4	3 x . . =	3 x . . =		3	2 x . . =	2 x . . =	1 x . . =	1 x . . =		
60-69	2	2 x . . =	2 x . . =		2	1 x . . =	1 x . . =	1 x . . =	1 x . . =		
70 et +	0	0	0		0	0	0	0	0		
K ovaire											
< 20 ans	5	4 x . . =	4 x . . =		4	3 x . . =	3 x . . =	2 x . . =	2 x . . =		
20-29	7	6 x . . =	6 x . . =		6	5 x . . =	5 x . . =	3 x . . =	3 x . . =		
30-39	8	7 x . . =	7 x . . =		7	6 x . . =	6 x . . =	4 x . . =	4 x . . =		
40-59	7	6 x . . =	6 x . . =		6	5 x . . =	5 x . . =	4 x . . =	4 x . . =		
60 et +	6	5 x . . =	5 x . . =		5	4 x . . =	4 x . . =	2 x . . =	2 x . . =		
K sein homme											
< 30 ans	23	22 x . . =	22 x . . =	22		21 x . . =	21 x . . =	19 x . . =	19 x . . =		
30-39	16	16 x . . =	16 x . . =	16		13 x . . =	13 x . . =	11 x . . =	11 x . . =		
40-49	11	11 x . . =	11 x . . =	11		8 x . . =	8 x . . =	7 x . . =	7 x . . =		
50-59	10	10 x . . =	10 x . . =	10		8 x . . =	8 x . . =	6 x . . =	6 x . . =		
60-69	8	8 x . . =	8 x . . =	8		6 x . . =	6 x . . =	4 x . . =	4 x . . =		
70 et +	7	7 x . . =	7 x . . =	7		6 x . . =	6 x . . =	3 x . . =	3 x . . =		

	Proposant (1)	Fratrie (2)	Enfants (3)	Père (4)	Mère (5)	2e d pat (6)	2e d mat (7)	3e d pat (8)	3e d mat (9)	Total pat (1+2+3+4+6+8)	Total mat (1+2+3+5+7+9)
Tumeurs triple négatives											
Oui	3	2 x . . =	2 x . . =	2	2	1 x . . =	1 x . . =	1 x . . =	1 x . . =		
Non	-2	-1 x . . =	-1 x . . =	-1	-1	0	0	0	0		
K prostate	2	1 x . . =	1 x . . =	1		0	0	0	0	0	0
K pancréas	3	2 x . . =	2 x . . =	2	2	1 x . . =	1 x . . =	0	0	0	0
Individus indemnes (Âge de censure)											
Femmes											
30-49		- 0,3 x . . =	- 0,3 x . . =		- 0,3	- 0,1 x . . =	- 0,1 x . . =	0	0		
50-69		- 0,7 x . . =	- 0,7 x . . =	0	- 0,7	- 0,4 x . . =	- 0,4 x . . =	- 0,2 x . . =	- 0,2 x . . =		
70 et +		- 1 x . . =	- 1 x . . =	0	-1	- 0,4 x . . =	- 0,4 x . . =	- 0,2 x . . =	- 0,2 x . . =		
Hommes				- 0,2							
30-49		0	0	0	-0,3	0	0	0	0		
50-69		0	0	0	-0,7	0	0	0	0		
70 et +		- 0,2 x . . =	- 0,2 x . . =	- 0,2	-1	0	0	0	0		

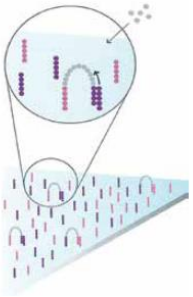
Annexe 3 : Étapes du séquençage par synthèse selon la technologie Illumina



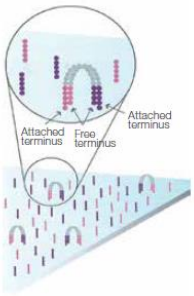
1) Préparation de l'échantillon d'ADN : Fragmentation aléatoire de l'ADN et ligation d'adaptateurs aux 2 extrémités des fragments



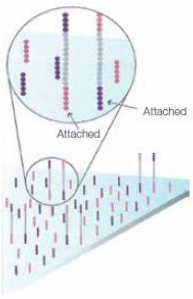
2) Fixation de l'ADN à la surface de la puce : Liaison aléatoire des fragments simple-brin précédemment créés



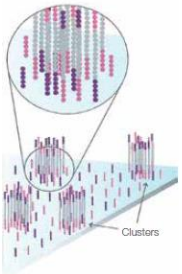
3) PCR bridge : Ajout de nucléotides non marqués et d'enzymes pour initier l'amplification en pont en phase solide



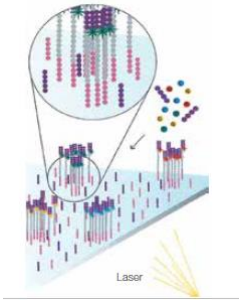
4) Fragments double-brin : Incorporation des nucléotides pour former des ponts double-brins fixés à la surface de la cellule



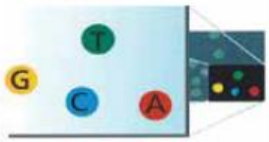
5) Dénaturation des molécules double-brins : chaque brin simple reste attaché à la cellule par une extrémité



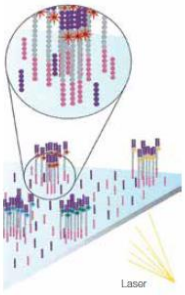
6) Amplification complète : Génération de plusieurs millions de clusters denses en ADN dans chaque canal de la puce



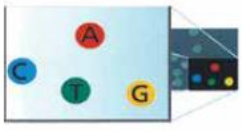
7) Détermination de la première base : Le premier cycle de séquençage commence par l'ajout d'amorces, d'ADN polymérase et de 4 terminateurs de chaîne réversibles et marqués



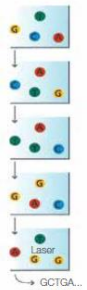
8) Image de la première base : Après excitation laser, la fluorescence émise par chaque cluster est capturée, identifiant alors la première base



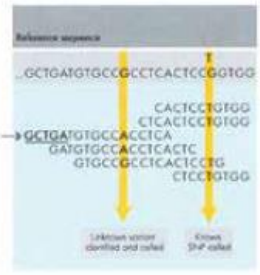
9) Détermination de la seconde base : Ajout à nouveau d'amorces, d'ADN polymérase et de 4 terminateurs de chaîne réversibles et marqués



10) Image de la seconde base : Après excitation laser, l'image est capturée comme précédemment et identifie la seconde base



11) Séquençage : Les cycles précédents sont répétés afin de déterminer la séquence du fragment complet base après base



12) Alignement des données : les données sont alignées et comparées à la séquence de référence et les variations sont identifiées

Annexe 4 : Caractéristiques de la population HBOC suivie à l'Institut Bergonié et incluse dans l'étude.

	Type de cancer	Patients BRCA mutés	BRCA muté (%)	Patients BRCA sauvages	BRCA sauvage (%)
Histoire personnelle	**Sein**	94	10,3	614	67,0
	Sein, unique	68	7,4	535	58,3
	Sein, multiple	25	2,7	72	7,9
	Sein (unique) + autre (sauf ovaire)	1 (*)	0,1	6 (**)	0,5
	Sein (multiple) + autre (sauf ovaire)	0	0,0	1 (***)	0,1
	Age au diagnostic <=36	28	3,1	155	16,9
	Age au diagnostic <=45	33	3,6	185	20,2
	Age au diagnostic <=50	15	1,6	83	9,1
	Age au diagnostic >50	18	2,0	190	20,7
	Age au diagnostic inconnu	0	0,0	0	0,0
	Ovaire	37	4,0	134	14,6
	Ovaire seul	37	4,0	134	14,6
	Sein + Ovaire	13	1,4	11	1,2
	Sein unique + Ovaire	10	1,1	9	1,0
	Sein multiple + Ovaire	3	0,3	2	0,2
	Autres cancers uniquement	1	0,1	9	1,0
	Chondrosarcome	0	0,0	0	0,0
	Fibrosarcome	0	0,0	0	0,0
	Mélanome	0	0,0	0	0,0
	Pancréas	0	0,0	3	0,3
	Prostate	0	0,0	3	0,3
	Trompes	1	0,1	2	0,2
	Inconnu	0	0,0	1	0,1
	Pas d'antécédent de cancer	1	0,1	4	0,4
	TOTAL	146	15,9	772	84,1
Histoire familiale, cas index inclus	Au moins un cancer du sein, sans cancer de l'ovaire	74	8,1	557	60,7
	Au moins un cancer de l'ovaire, sans cancer du sein	12	1,3	76	8,3
	Au moins un cancer du sein et un de l'ovaire	60	6,5	136	14,8
	Autres cancers uniquement	0	0,0	3	0,3
	TOTAL	146	15,9	772	84,1

(*) Prostate (1)
(**) Chondrosarcome (1), Côlon (1), Mélanome (1), Pancréas (2), Prostate (1), Trompe (1), Parotide (1)
(***) Fibrosarcome (1)

Annexe 5 : Liste des mutations incidentes

N°	INDICATION	GENRE	GENE	EXON	c.	p.	CONSEQUENCE
1	HBOC - IB	F	***ATM***	**7**	c.829G>T	p.(Glu277*)	Non-sens
2	HBOC - IB	H	***ATM***	**9**	c.1212_1213del	p.(Asn405*)	Non-sens
3	HBOC - IB	F	***ATM***	**10**	c.1236-2A>G	p.(?)	Epissage
4	HBOC - IB	F	***ATM***	**10**	c.1256T>G	p.(Leu419*)	Non-sens
5	HBOC - Ext	F	***ATM***	**13**	c.2098C>T	p.(Gln700*)	Non-sens
6	HBOC - Ext	F	***ATM***	**13**	c.2098C>T	p.(Gln700*)	Non-sens
7	HBOC - IB	F	***ATM***	**13**	c.2114dupA	p.(Tyr705*)	Non-sens
8	HBOC - Ext	F	***ATM***	**20**	c.2922-2A>G	p.(?)	Epissage
9	HBOC - IB	F	***ATM***	**24**	c.3511C>T	p.(Gln1171*)	Non-sens
10	HBOC - IB	F	***ATM***	**24**	c.3576G>A	p.(=)	Epissage
11	HBOC - Ext	F	***ATM***	**25**	c.3712_3716del	p.(Leu1238Lysfs*6)	Décalage du cadre de lecture
12	HBOC - IB	F	***ATM***	**26**	c.3802delG	p.(Val1268*)	Non-sens
13	HBOC - IB	F	***ATM***	**26**	c.3802delG	p.(Val1268*)	Non-sens
14	HBOC - Ext	F	***ATM***	**28**	c.4143dupT	p.(Pro1382Serfs*6)	Décalage du cadre de lecture
15	HBOC - IB	F	***ATM***	**31**	c.4776+1G>T	p.(?)	Epissage
16	HBOC - Ext	F	***ATM***	**37**	c.5574G>A	p.(Trp1858*)	Non-sens
17	Sd de Gorlin	F	***ATM***	**39**	c.5910delA	p.(Glu1971Argfs*19)	Décalage du cadre de lecture
18	HBOC - Ext	F	***ATM***	**40**	c.6005A>G	p.(Gln2002Arg)	Faux-sens, Epissage
19	HBOC - IB	F	***ATM***	**42**	c.6163_6164dup	p.(Pro2056Serfs*27)	Décalage du cadre de lecture
20	Sd de Lynch	F	***ATM***	**43**	c.6273G>A	p.(Trp2091*)	Non-sens
21	HBOC - Ext	F	***ATM***	**49**	c.7299_7302del	p.(Asn2435Aspfs*4)	Décalage du cadre de lecture
22	HBOC - Ext	F	***ATM***	**52**	c.7767delA	p.(Lys2589Asnfs*17)	Décalage du cadre de lecture
23	HBOC - Ext	F	***ATM***	**52**	c.7767delA	p.(Lys2589Asnfs*17)	Décalage du cadre de lecture
24	HBOC - Ext	F	***ATM***	**53**	c.7890delA	p.(Ala2631Glnfs*3)	Décalage du cadre de lecture
25	HBOC - IB	F	***ATM***	**59**	c.8610_8611del	p.(Asp2870Glufs*10)	Décalage du cadre de lecture
26	HBOC - IB	F	***ATM***	**62**	c.8873_8874del	p.(Phe2958*)	Non-sens
27	HBOC - IB	F	***BARD1***	**2**	c.176_177del	p.(Glu59Alafs*8)	Décalage du cadre de lecture
28	HBOC - IB	F	***BARD1***	**4**	c.1274delA	p.(Asn425Ilefs*50)	Décalage du cadre de lecture
29	Sd de Cowden	F	***BARD1***	**8**	c.1810+1G>A	p.(?)	Epissage
30	Sd de Cowden	H	***BRCA1***		Délétion de tout *BRCA1*		Réarrangement de grande taille
31	Sd de Lynch	F	***BRCA1***	**9**	c.599delG	p.(Gly200Glufs*34)	Décalage du cadre de lecture
32	Sd de Cowden	F	***BRCA1***	**10**	c.2901_2902dup	p.(Pro968Leufs*33)	Décalage du cadre de lecture
33	Sd de Cowden	F	***BRCA2***	**8**	c.658_659del	p.(Val220Ilefs*4)	Décalage du cadre de lecture
34	Sd de Gorlin	F	***BRCA2***	**11**	c.4889C>G	p.(Ser1630*)	Non-sens
35	Sd de Lynch	H	***BRCA2***	**11**	c.5946delT	p.(Ser1982Argfs*22)	Décalage du cadre de lecture
36	Sd de Cowden	F	***BRCA2***	**19**	c.8364G>A	p.(Trp2788*)	Non-sens
37	Sd de Cowden	F	***BRCA2***	**23**	c.9052_9057del	p.(Lys3019_Ser3020del)	Faux-sens
38	Sd de Cowden	F	***BRCA2***	**27**	c.9666delT	p.(Cys3222Trpfs*27)	Décalage du cadre de lecture
39	HBOC - IB	F	***BRIP1***	**3**	c.128_131del	p.(Leu43Trpfs*11)	Décalage du cadre de lecture
40	HBOC - IB	F	***BRIP1***	**3**	c.128_131del	p.(Leu43Trpfs*11)	Décalage du cadre de lecture

41	HBOC - IB	F	***BRIP1***	**7**	c.761_764del	p.(Lys254Argfs*19)	Décalage du cadre de lecture
42	Sd de Cowden	F	***BRIP1***	**8**	c.1089dupC	p.(Ile364Hisfs*31)	Décalage du cadre de lecture,
43	HBOC - IB	F	***BRIP1***	**9**	c.1214C>G	p.(Ser405*)	Non-sens
44	HBOC - IB	F	***BRIP1***	**10**	c.1425_1429del	p.(Leu475Phefs*34)	Décalage du cadre de lecture
45	HBOC - IB	F	***BRIP1***	**17**	c.2392C>T	p.(Arg798*)	Non-sens
46	HBOC - IB	F	***BRIP1***	**17**	c.2492+1delG	p.(?)	Epissage
47	HBOC - IB	F	***CDH1***	**9**	c.1141A>T	p.(Lys381*)	Non-sens
48	Cowden	H	***CHEK2***	**2**	c.104_113dup	p.(Ser39Profs*41)	Décalage du cadre de lecture
49	HBOC - IB	F	***CHEK2***	**3**	c.320-2A>G	p.(?)	Epissage
50	HBOC - IB	F	***CHEK2***	**3**	c.409C>T	p.(Arg137*)	Non-sens
51	HBOC - IB	F	***CHEK2***	**4**	c.445-8_446del	p.(?)	Epissage
52	HBOC - Ext	F	***CHEK2***	**4**	c.467dupA	p.(Tyr156*)	Décalage du cadre de lecture
53	HBOC - IB	F	***CHEK2***	**4**	c.591delA	p.(Val198Phefs*7)	Décalage du cadre de lecture, Epissage
54	HBOC - IB	F	***CHEK2***	**4**	c.591delA	p.(Val198Phefs*7)	Décalage du cadre de lecture, Epissage
55	HBOC - IB	F	***CHEK2***	**7**	c.846+1G>C	p.(?)	Epissage
56	HBOC - IB	F	***CHEK2***	**9**	c.920delG	p.(Gly307Glufs*13)	Décalage du cadre de lecture
57	Sd de Lynch	H	***CHEK2***	**11**	c.1100delC	p.(Thr367Metfs*15)	Décalage du cadre de lecture
58	HBOC - IB	F	***CHEK2***	**11**	c.1100delC	p.(Thr367Metfs*15)	Décalage du cadre de lecture
59	HBOC - IB	F	***CHEK2***	**11**	c.1100delC	p.(Thr367Metfs*15)	Décalage du cadre de lecture
60	HBOC - IB	F	***CHEK2***	**11**	c.1100delC	p.(Thr367Metfs*15)	Décalage du cadre de lecture
61	HBOC - IB	F	***CHEK2***	**11**	c.1100delC	p.(Thr367Metfs*15)	Décalage du cadre de lecture
62	HBOC - IB	F	***CHEK2***	**11**	c.1100delC	p.(Thr367Metfs*15)	Décalage du cadre de lecture
63	HBOC - Ext	F	***MLH1***	**9**	c.790C>T	p.(His264Tyr)	Faux-sens, Epissage
64	Sd de Cowden	F	***MLH1***	**17**	c.1975C>T	p.(Arg659*)	Non-sens
65	Sd de Cowden	H	***MRE11A***	**2**	c.19C>G	p.(Leu7Val)	Faux-sens, Epissage
66	Sd de Gorlin	F	***MRE11A***	**15**	c.1726C>T	p.(Arg576*)	Non-sens
67	HBOC - IB	F	***MRE11A***	**18**	c.1927-2A>G	p.(?)	Epissage
68	HBOC - IB	F	***MSH2***		Duplication des exons 10 à 16		Réarrangement de grande taille
69	HBOC - IB	F	***MSH6***	**5**	c.3173-2A>C	p.(?)	Epissage
70	HBOC - IB	F	***MSH6***	**9**	c.3982_3983del	p.(Gln1328Valfs*12)	Décalage du cadre de lecture
71	HBOC - Ext	F	***MSH6***	**9**	c.4001+1G>T	p.(?)	Epissage
72	Sd de Cowden	F	***MSH6***	**9**	c.4001+12_4001+15dup	p.(?)	Epissage
73	HBOC - IB	F	***MUTYH***	**7**	c.527A>G	p.(Tyr176Cys)	Faux-sens
74	Sd de Cowden	F	***MUTYH***	**13**	c.1178G>A	p.(Gly393Asp)	Faux-sens, Epissage
75	HBOC - IB	F	***MUTYH***	**13**	c.1178G>A	p.(Gly393Asp)	Faux-sens, Epissage
76	Sd de Cowden	F	***MUTYH***	**16**	c.1631delC	p.(Ala544Glufs*24)	Décalage du cadre de lecture
77	HBOC - IB	F	***PALB2***	**2**	c.73A>T	p.(Lys25*)	Non-sens
78	HBOC - Ext	F	***PALB2***	**2**	c.73A>T	p.(Lys25*)	Non-sens
79	HBOC - IB	F	***PALB2***	**3**	c.172_175del	p.(Gln60Argfs*7)	Décalage du cadre de lecture
80	HBOC - Ext	F	***PALB2***	**3**	c.172_175del	p.(Gln60Argfs*7)	Décalage du cadre de lecture
81	HBOC - IB	H	***PALB2***	**4**	c.509_510del	p.(Arg170Ilefs*14)	Décalage du cadre de lecture
82	HBOC - Ext	F	***PALB2***	**4**	c.1258C>T	p.(Gln420*)	Non-sens

83	HBOC - Ext	F	***PALB2***	**4**	c.1258C>T	p.(Gln420*)	Non-sens
84	HBOC - IB	F	***PALB2***	**4**	c.1365_1372del	p.(Glu456*)	Non-sens
85	HBOC - IB	F	***PALB2***	**4**	c.1653T>A	p.(Tyr551*)	Non-sens
86	HBOC - IB	F	***PALB2***	**4**	c.1653T>A	p.(Tyr551*)	Non-sens
87	HBOC - IB	F	***PALB2***	**4**	c.1653T>A	p.(Tyr551*)	Non-sens
88	HBOC - IB	F	***PALB2***	**5**	c.1724G>A	p.(Trp575*)	Non-sens
89	HBOC - Ext	F	***PALB2***	**5**	c.1857delT	p.(Phe619Leufs*9)	Décalage du cadre de lecture
90	HBOC - Ext	F	***PALB2***	**5**	c.1915G>T	p.(Glu639*)	Non-sens
91	HBOC - IB	F	***PALB2***	**7**	c.2748+1G>T	p.(?)	Epissage
92	HBOC - IB	F	***PALB2***	**10**	c.3103_3104dup	p.(Val1036Leufs*6)	Décalage du cadre de lecture
93	HBOC - IB	F	***PMS2***		Délétion des exons 1 à 8		Réarrangement de grande taille
94	HBOC - Ext	F	***PMS2***	**10**	c.989-1G>A	p.(?)	Epissage
95	Sd de Cowden	H	***PTCH1***	**12**	c.1603-2A>G	p.(?)	Epissage
96	Sd de Cowden	F	***PTCH1***	**18**	c.2917C>T	p.(Gln973*)	Non-sens
97	Sd de Cowden	H	***PTCH1***	**18**	c.3155C>T	p.(Thr1052Met)	Faux-sens
98	Sd de Cowden	F	***PTCH1***	**23**	c.4270dupG	p.(Asp1424Glyfs*8)	Décalage du cadre de lecture
99	HBOC - Ext	F	***PTCH2***	**12**	c.1526dupG	p.(Asn509Lysfs*55)	Décalage du cadre de lecture
100	Sd de Cowden	F	***PTCH2***	**13**	c.1709G>A	p.(Ser570Asn)	Faux-sens, Epissage
101	HBOC - Ext	F	***RAD50***	**2**	c.130-1G>T	p.(?)	Epissage
102	Sd de Gorlin	H	***RAD50***	**4**	c.511G>T	p.(Ala171Ser)	Faux-sens
103	Sd de Cowden	F	***RAD50***	**6**	c.832C>T	p.(Arg278*)	Non-sens
104	HBOC - IB	F	***RAD50***	**6**	c.832C>T	p.(Arg278*)	Non-sens
105	HBOC - IB	F	***RAD50***	**19**	c.2923-1G>A	p.(?)	Epissage
106	HBOC - IB	F	***RAD50***	**19**	c.2923-1G>A	p.(?)	Epissage
107	Sd de Gorlin	F	***RAD50***	**19**	c.2985_2989del	p.(Glu995Aspfs*3)	Décalage du cadre de lecture
108	Sd de Gorlin	H	***RAD50***	**25**	c.3753-1G>A	p.(?)	Epissage
109	Sd de Gorlin	H	***SUFU***	**1**	c.37_53del	p.(Thr13Trpfs*29)	Décalage du cadre de lecture
110	Sd de Gorlin	H	***SUFU***	**1**	c.71delC	p.(Pro24Argfs*72)	Décalage du cadre de lecture
111	Sd de Gorlin	F	***SUFU***	**10**	c.1158-2A>G	p.(?)	Epissage
112	HBOC - Ext	F	***TP53***	**4**	c.322_326dup	p.(Phe109Leufs*16)	Décalage du cadre de lecture
113	HBOC - Ext	F	***TP53***	**5**	c.376-1G>A	p.(?)	Epissage
114	Sd de Lynch	H	***TP53***	**5**	c.422G>A	p.(Cys141Tyr)	Faux-sens
115	Sd de Gorlin	H	***TP53***	**6**	c.586C>T	p.(Arg196*)	Non-sens
116	HBOC - IB	F	***TP53***	**8**	c.844C>T	p.(Arg282Trp)	Faux-sens

Thèse de Docteur en Médecine, spécialité Biologie Médicale

Les mutations « incidentes » dans le diagnostic moléculaire de la prédisposition héréditaire aux cancers. Nouvel enjeu du séquençage de nouvelle génération

RÉSUMÉ

Dans les syndromes sein-ovaire, une mutation des gènes majeurs de prédisposition héréditaire *BRCA* est retrouvée dans 15 % des cas. La technique NGS en panel de gènes permet l'étude d'autres gènes de prédispositions aux tumeurs que ceux a priori impliqués dans l'indication recherchée. Le but de cette étude est de déterminer si la détection de variants incidents est corrélée avec l'indication et le phénotype familial évalué par le score de Manchester.

Étude rétrospective de 2013 à 2015 sur 1819 patients criblés pour suspicion de cancer héréditaire du sein ou de l'ovaire, de syndrome de Lynch, de Gorlin ou de Cowden. Le panel de gènes comprend 25 gènes capturés (Sureselect XT Agilent) et séquencés (MiSeq Illumina™) : *APC, ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, MLH1, MRE11A, MSH2/EPCAM, MSH6, MUTYH, PALB2, PIK3CA, PMS2, PTCH1, PTCH2, PTEN, RAD50, RAD51C, STK11, SUFU* et *TP53.*

Dans le syndrome héréditaire sein-ovaire, des mutations délétères de *BRCA* ont été caractérisées dans 14,4% des cas et une mutation incidente dans 6,2%. La fréquence des mutations délétères de *PALB2* et d'*ATM* est significativement plus importante dans le groupe étudié que dans le groupe contrôle, respectivement de 1,2 vs 0,0% (p=0,01) et de 1,9 vs 0,4% (p=0,02). L'odds ratio d'*ATM* est de 4,9 (IC95%=[1,1;20,8]). Par ailleurs, les mutations de *PALB2* et d'*ATM* ne sont pas strictement exclusives des mutations *BRCA*. De plus, un score de Manchester élevé est corrélé à une détection augmentée du taux de mutations de *BRCA* mais pas de *PALB2* ni d'*ATM*. Une association significative entre les mutations d'*ATM* et une histoire familiale de cancers du pancréas a été mise en évidence.

Ces résultats valident la contribution de *PALB2* et d'*ATM* dans les cancers héréditaires du sein et de l'ovaire. Il conviendrait de mener une étude sur une plus large population afin de mettre en évidence une association statistiquement significative pour d'autres gènes, comme *CHEK2* ainsi que pour obtenir d'autres odds ratios afin d'évaluer les risques tumoraux.

MOTS-CLÉS

Prédispositions héréditaires aux cancers – cancer du sein – cancer de l'ovaire – NGS – Mutations incidentes – *PALB2* – *ATM* – score de Manchester

Institut Bergonié, 229 Cours de l'Argonne, 33000 Bordeaux

Unité d'Oncogénétique – Laboratoire de Génétique Moléculaire