



LYON
5-7 AVRIL 2018
CENTRE DES CONGRÈS

3^e JOURNÉES FRANCOPHONES
DE LA MUCOVISCIDOSE

vaincrelamuco.org

federation-crcm.org



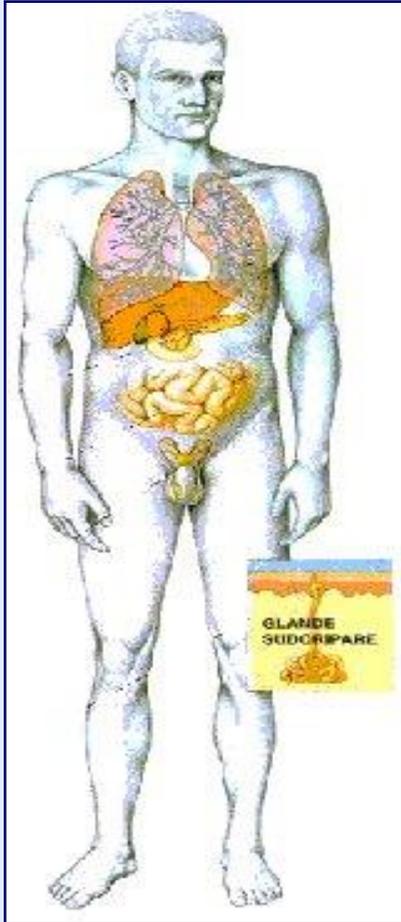
Mucoviscidose et Génétique: du dépistage aux thérapies ciblées

Professeur Claude FEREC



UMR1078
Génétique, Génomique
Fonctionnelle et Biotechnologies

Mucoviscidose & Génétique



- Aspects cliniques
 - Anomalies de sécrétion des glandes exocrines
 - Bronchopathie chronique obstructive(infections récurrentes)
 - Insuffisance pancréatique exocrine (85% des patients)
- Aspects biologiques
 - Test de la sueur ≥ 60 mEq/L

Source : Welsh MJ Et Smith A. La mucoviscidose.
Pour la Science 1996, 220 : 66-74)

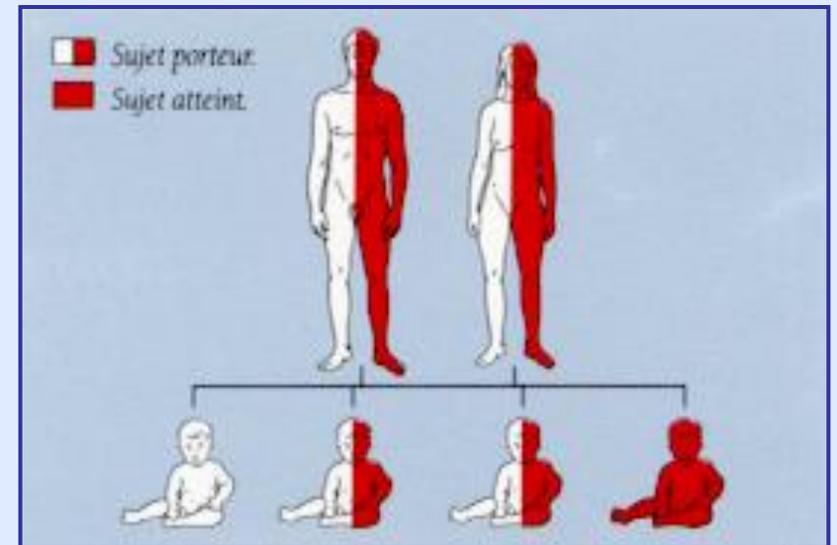
Mucoviscidose & Génétique

■ Epidémiologie

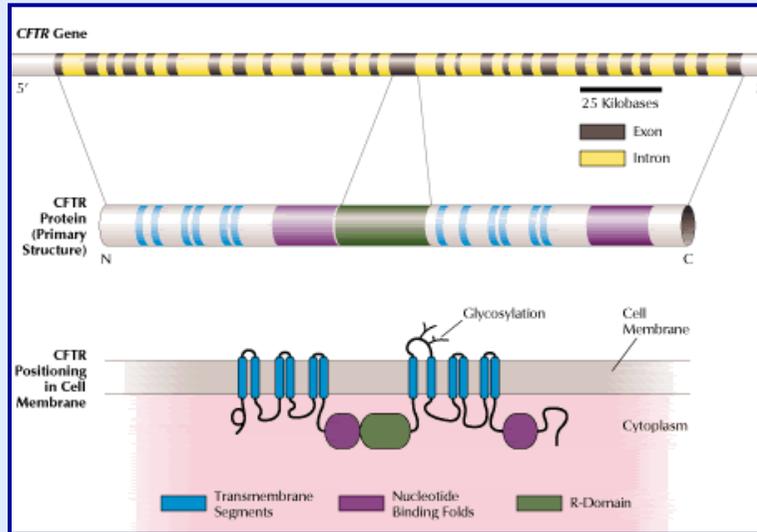
- La plus fréquente des maladies génétiques graves de l'enfant dans la population caucasienne
- Incidence: 1/ 4500 naissances en France
- Médiane de vie : 35 années

■ Aspects génétiques

- Transmission récessive
- Pénétrance complète



Mucoviscidose & Génétique

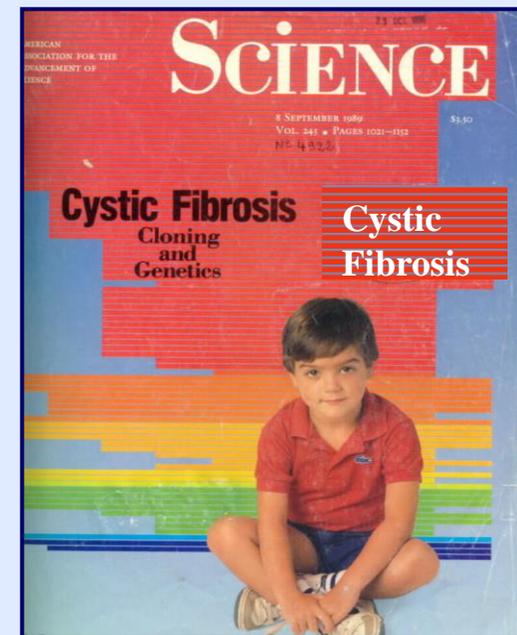


Source : Tsui LC et Durie P. Genotype and Phenotype in Cystic Fibrosis; <http://www.hosprract.com/genetics/9706gen.htm>

- Le gène *CFTR*
 - 27 exons
 - 180 000 paires de bases
 - More than 2000 mutations

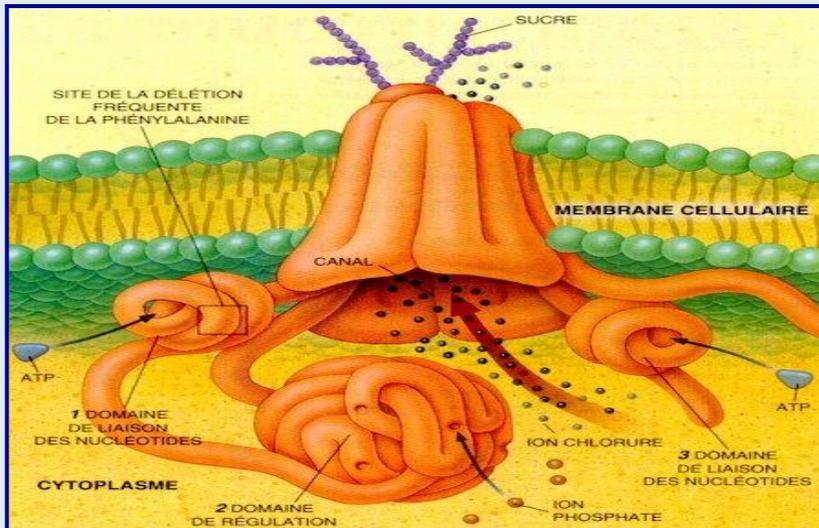
Clonage et séquençage
du gène *CFTR*
en septembre 1989

Science 1989, 245:1059-1080

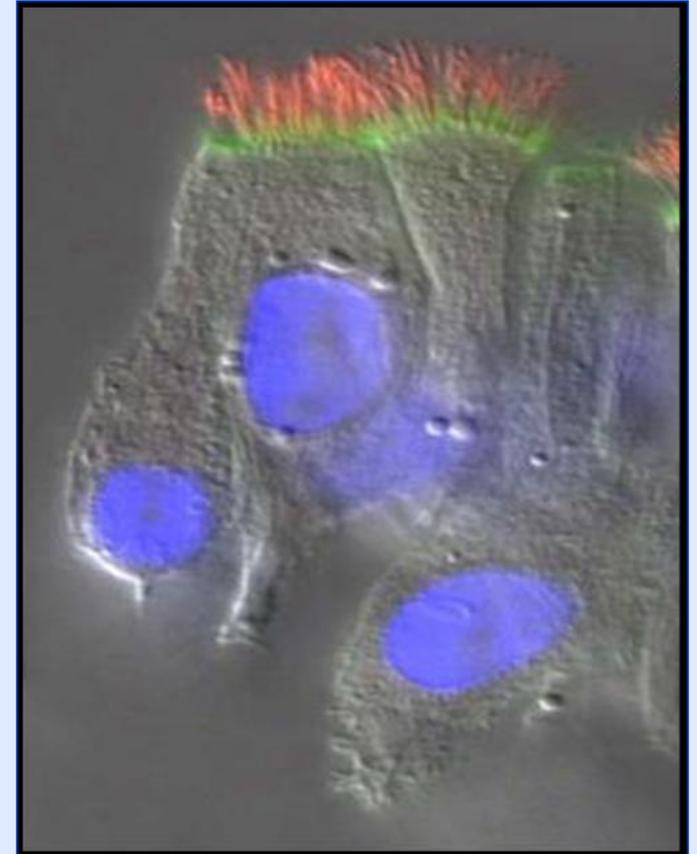


Mucoviscidose & Génétique

- CFTR protéine
 - Canal chlorure
 - Membrane cellulaire
 - Différents domaines
 - Maturation dépendante de la température

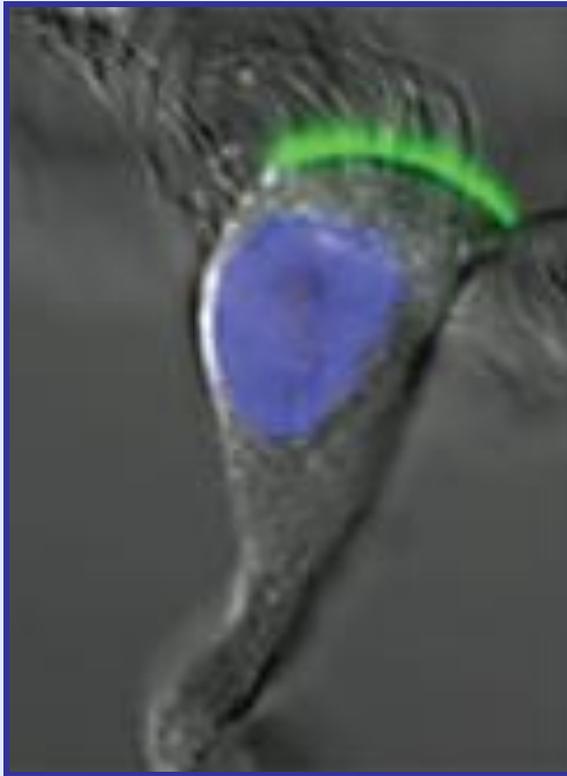


Source : Welsh MJ et Smith A. La mucoviscidose. Pour la Science 1996, 220 : 66-74)

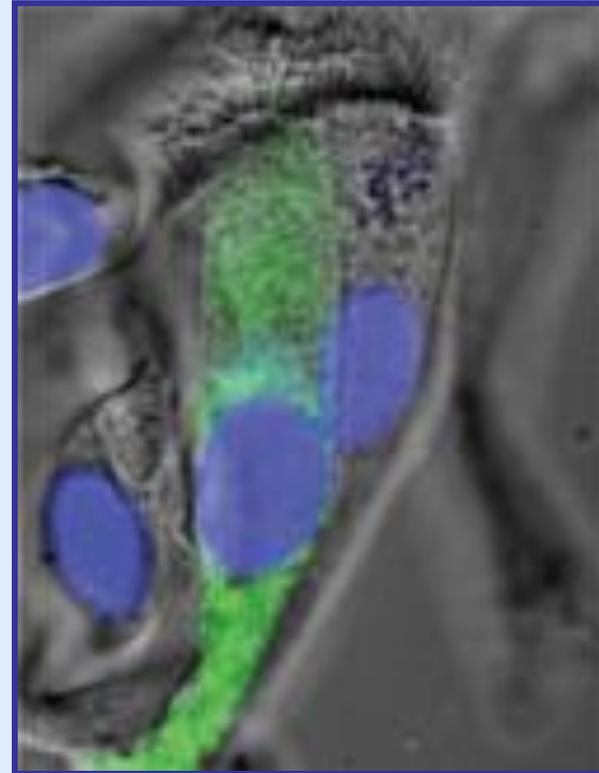


Source : Kreda, Mol. Biol. Cell (2005), 16; 2154-2167.

Mucoviscidose & Génétique



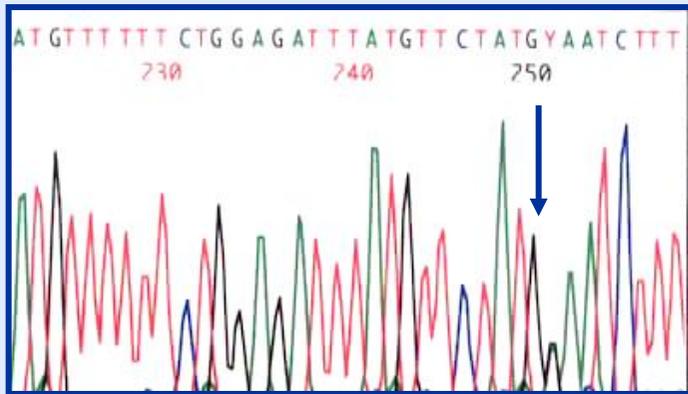
CFTR



F508del

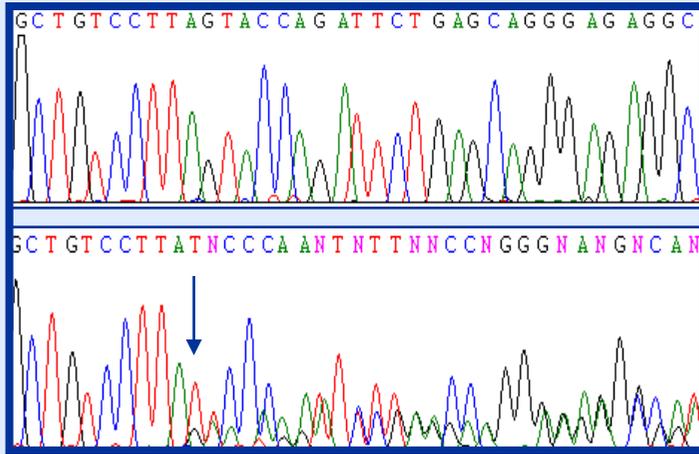
Source : John R. RIORDAN - Annu. Rev. Biochem. 2008.

Mucoviscidose & Génétique



- Consortium International d'Etude des mutations du gène
 - LC TSUI <http://www.genet.sickkids.on.ca>
 - Plus de 2000 mutations rapportées
- La mutation F508 del
 - 66% des allèles mutés
 - variation locorégionale
 - gradient de distribution Nord-->Sud en Europ
- Registre français-VLM et mutation database:CFTR France)

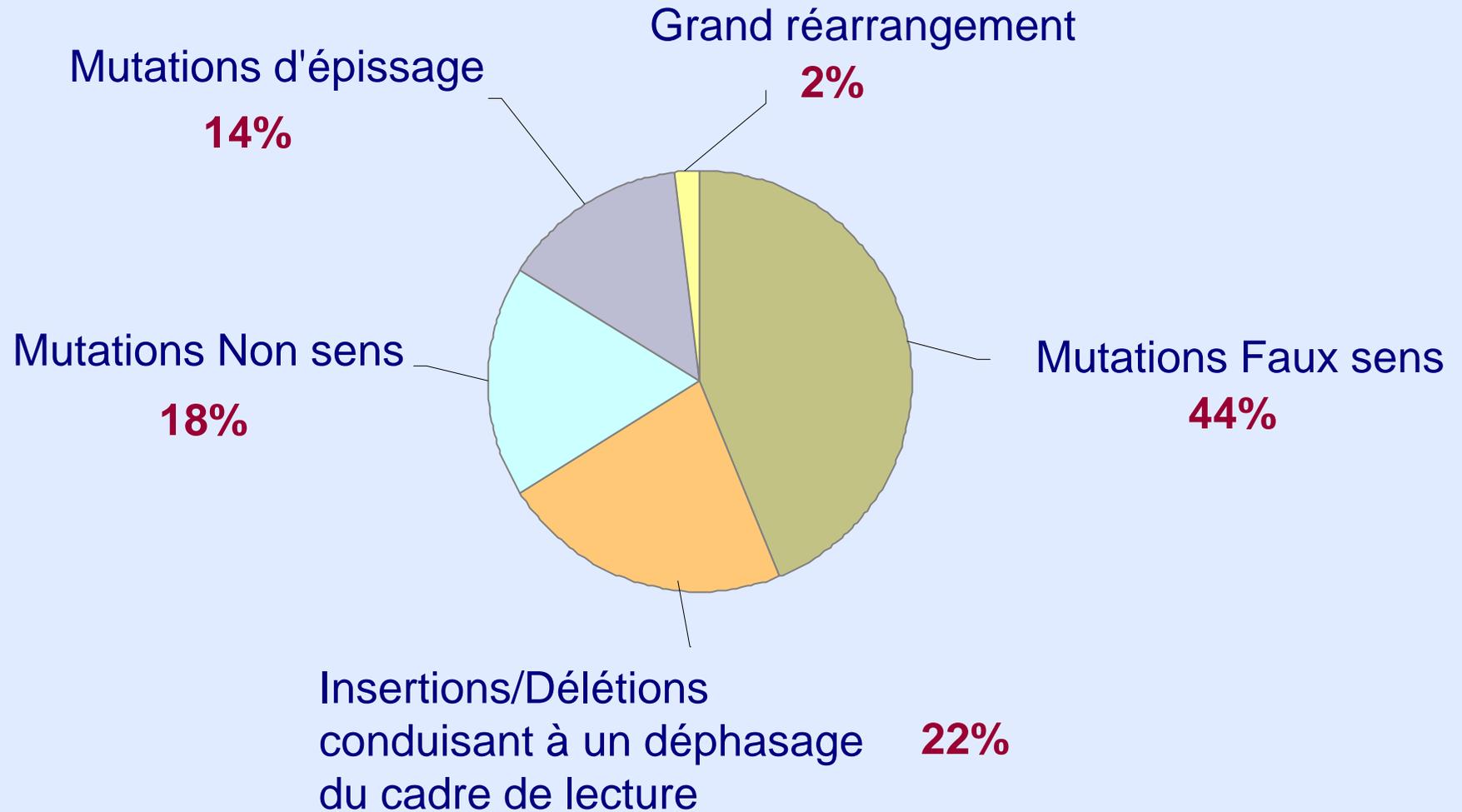
Mucoviscidose & Génétique



- Cinq mutations associées à plus de 1% des chromosomes
 - G542X (5.4%)
 - 2789+5 G/A (2.5%)
 - G551D (1.6%)
 - N1303K (4.2%)
 - W1282X (1.4%)

- Stratégies d'étude du gène CFTR
 - Recherche des 30 mutations les plus fréquentes
 - (Kit de test génétique, labo de niveau 1)
 - Balayage (scanning) de tout le gène
 - Identification des 2000 mutations et des mutations privées
 - Techniques : DHPLC/séquençage aujourd'hui NGS
 - Hybridation génomique comparative (CGH array) .Recherche des grands réarrangements (délétions, duplications)

Mucoviscidose & Génétique



- Recommandations européennes pour le diagnostic et la prise charge de la mucoviscidose :
 - Quand, comment ?
 - Démarche d'homogénéisation des pratiques
 - Objectif accréditation européenne

European Journal of Human Genetics (2009) 17, 51–65
© 2009 Macmillan Publishers Limited. All rights reserved 1018-4813/09 \$32.00
www.nature.com/ejhg



Best practice guidelines for molecular genetic diagnosis of cystic fibrosis and CFTR-related disorders – updated European recommendations

Els Dequeker¹, Manfred Stuhmann², Michael A Morris³, Teresa Casals⁴, Carlo Castellani⁵, Mireille Claustres⁶, Harry Cuppens¹, Marie des Georges⁶, Claude Ferec⁷, Milan Macek⁸, Pier-Franco Pignatti⁹, Hans Scheffer¹⁰, Marianne Schwartz¹¹, Michal Witt¹², Martin Schwarz¹³ and Emmanuelle Girodon^{*,14}

■ Genotype/phenotype correlation

- L'association entre le génotype *CFTR* et la fonction pancréatique exocrine a été trouvée plus importante que l'association entre le génotype et la fonction pulmonaire
- Le phénotype pulmonaire est très variable même chez des patients qui partagent le même génotype.

**THE RELATION BETWEEN GENOTYPE AND PHENOTYPE IN CYSTIC FIBROSIS —
ANALYSIS OF THE MOST COMMON MUTATION (ΔF_{508})**

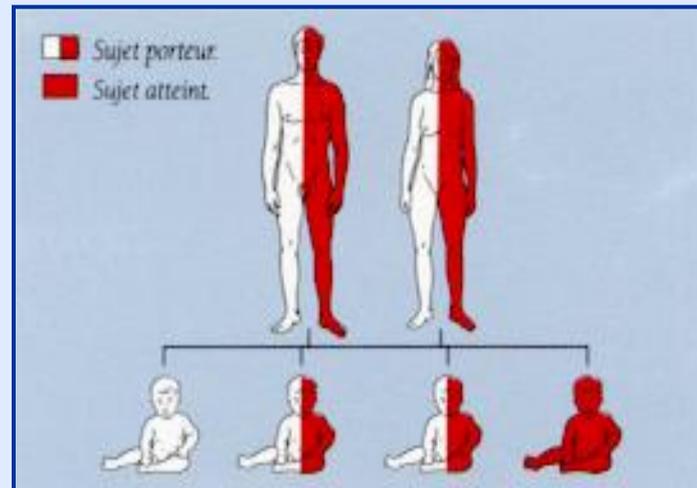
EITAN KEREM, M.D., MARY COREY, M.Sc., BAT-SHEVA KEREM, Ph.D., JOHANNA ROMMENS, Ph.D.,
DANUTA MARKIEWICZ, M.Sc., HENRY LEVISON, M.D., LAP-CHEE TSUI, Ph.D.,
AND PETER DURIE, M.D.



The NEW ENGLAND
JOURNAL of MEDICINE

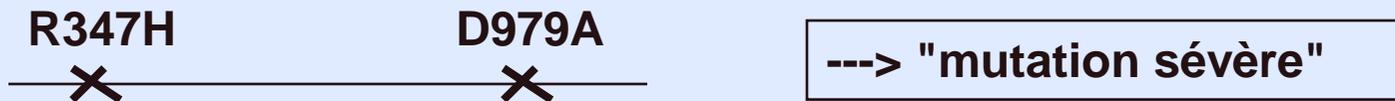
Mucoviscidose & Génétique

- La suffisance pancréatique (PS) est génétiquement déterminée
- Les sujets homozygotes F508del ont un phénotype “sévère” (colonisation précoce par *P. aeruginosa*, insuffisance pancréatique)



Mucoviscidose & Génétique

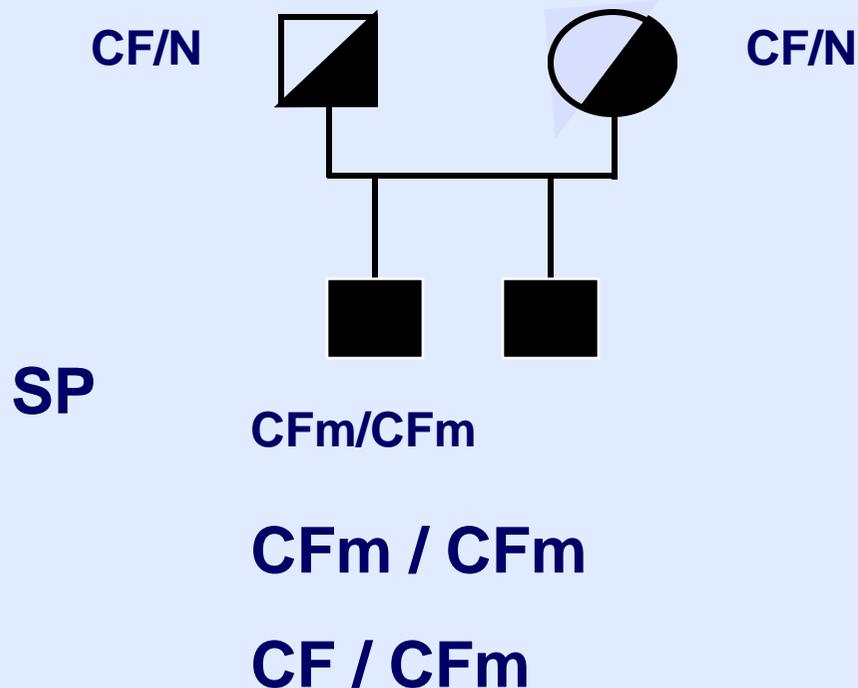
- Les haplotypes complexes
- R347H --> activité diminuée du canal chlorure
- D979A --> diminution de la maturation



Action concertée en cis de deux mutants Mild pour conduire à une mutation sévère

Mucoviscidose & Génétique

- Les mutations associées à une suffisance pancréatique



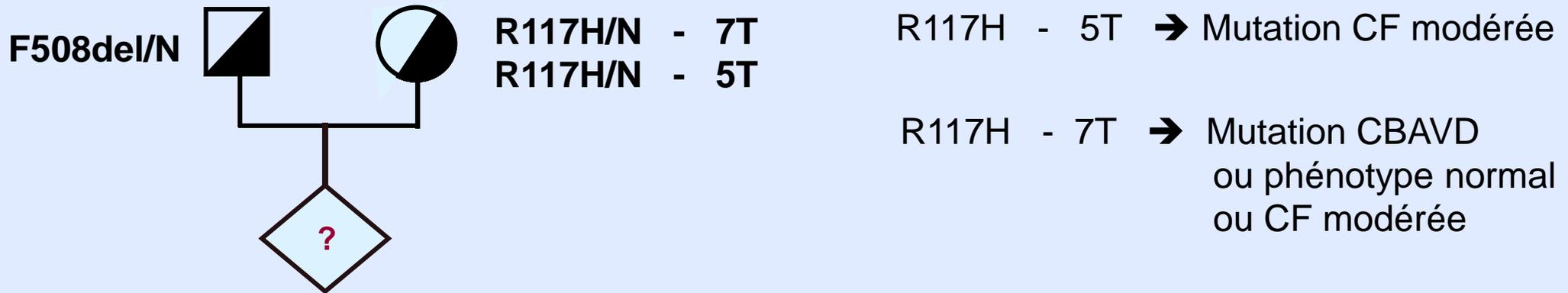
25% des mutations sont CFm
(classes IV ou V)

--> colonisation plus tardive par P.A.

--> fonction pancréatique exocrine
conservée

Mucoviscidose & Génétique

- Mutation associée à un phénotype variable



PEDIATRICS
OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS

Immunoreactive Trypsin/DNA Newborn Screening for Cystic Fibrosis: Should the R117H Variant Be Included in *CFTR* Mutation Panels?

Virginie Scotet, PhD^a, Marie-Pierre Audrézet, PhD^{a,b}, Michel Roussey, MD, PhD^c, Gilles Rault, MD^d, Anne Dirou-Prigent, MD^d, Hubert Journel, MD^e, Valérie Moisan-Petit, MD^e, Véronique Storni, MD^e, Claude Férec, MD, PhD^{a,b}

- Relation génotype/phénotype
 - Evidence de mutations «mild» dans les formes de l'adulte
 - En général des mutations faux sens situées dans les régions transmembranaires
 - Formes de l'adulte associées à une suffisance pancréatique

© 1993 Oxford University Press

Human Molecular Genetics, 1993, Vol. 2, No. 10 1557–1560

Genotype analysis of adult cystic fibrosis patients

Claude Férec*, Claudine Verlingue, Hervé Guillermit, Isabelle Quéré, Odile Raguénès, Jean Feigelson¹, Marie-Pierre Audrézet, Philippe Moullier and Bernard Mercier

Centre de Biogénétique, Centre Départemental de Transfusion Sanguine, 46 rue Félix Le Dantec, BP 454, 29275 Brest Cedex and ¹153 rue de Saussure, 75017 Paris, France

Received June 28, 1993; Revised and Accepted August 12, 1993

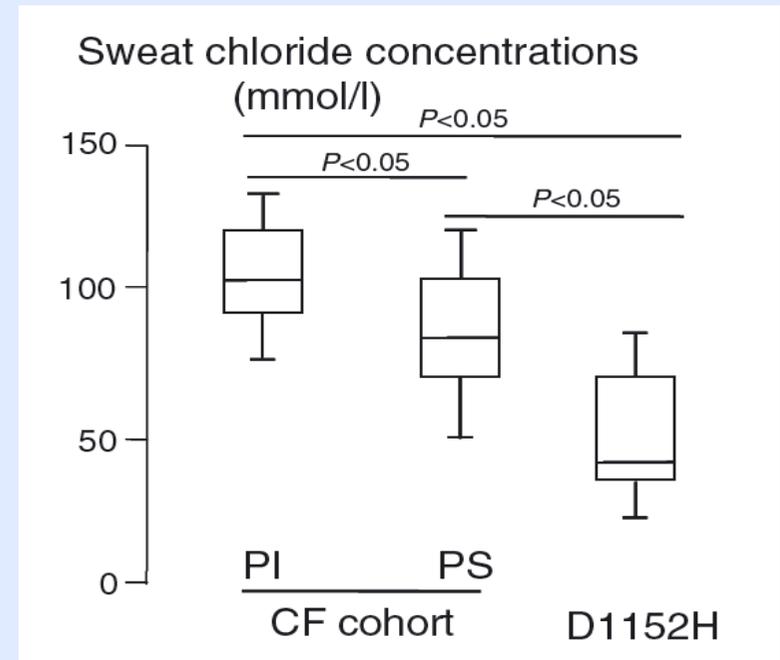
mutations à large spectre: exemple D1152H

Non-classic cystic fibrosis associated with D1152H CFTR mutation

Burgel P-R, *et al.*, 2010, Clin Genet



- **Données du registre français :**
 - Patients porteurs de la mutation D1152H en trans avec une mutation F508del (p.F508del)
 - La fréquence de la mutation D1152H est basse dans la population caucasienne mais représente but 12% dans la population Ashkenase.



Sweat chloride concentrations in CF cohort and in D1152H subjects

mutations à large spectre: exemple D1152H

Characteristics	No	Means (sd)	Range [min - max]
Age (y.)	57	37.8 (19.7)	[2.4 - 80.5]
Age at diagnosis (y.)			
All patients	52	30.9 (19.1)	[0 - 74.7]
≥ 1 year	44	36.4 (15.1)	[3.0 - 74.7]
Sweat test (mmol/L)			
All patients	43	44.5 (20.9)	[13.0 - 100.0]
≥ 1 year	34	46.1 (22.7)	[13.0 - 100.0]
FEV ₁ (%)	47	78.1 (24.9)	[30.0 - 118.0]
BMI ≥ 18 years (kg/m ²)	43	23.0 (3.5)	[17.0 - 33.2]

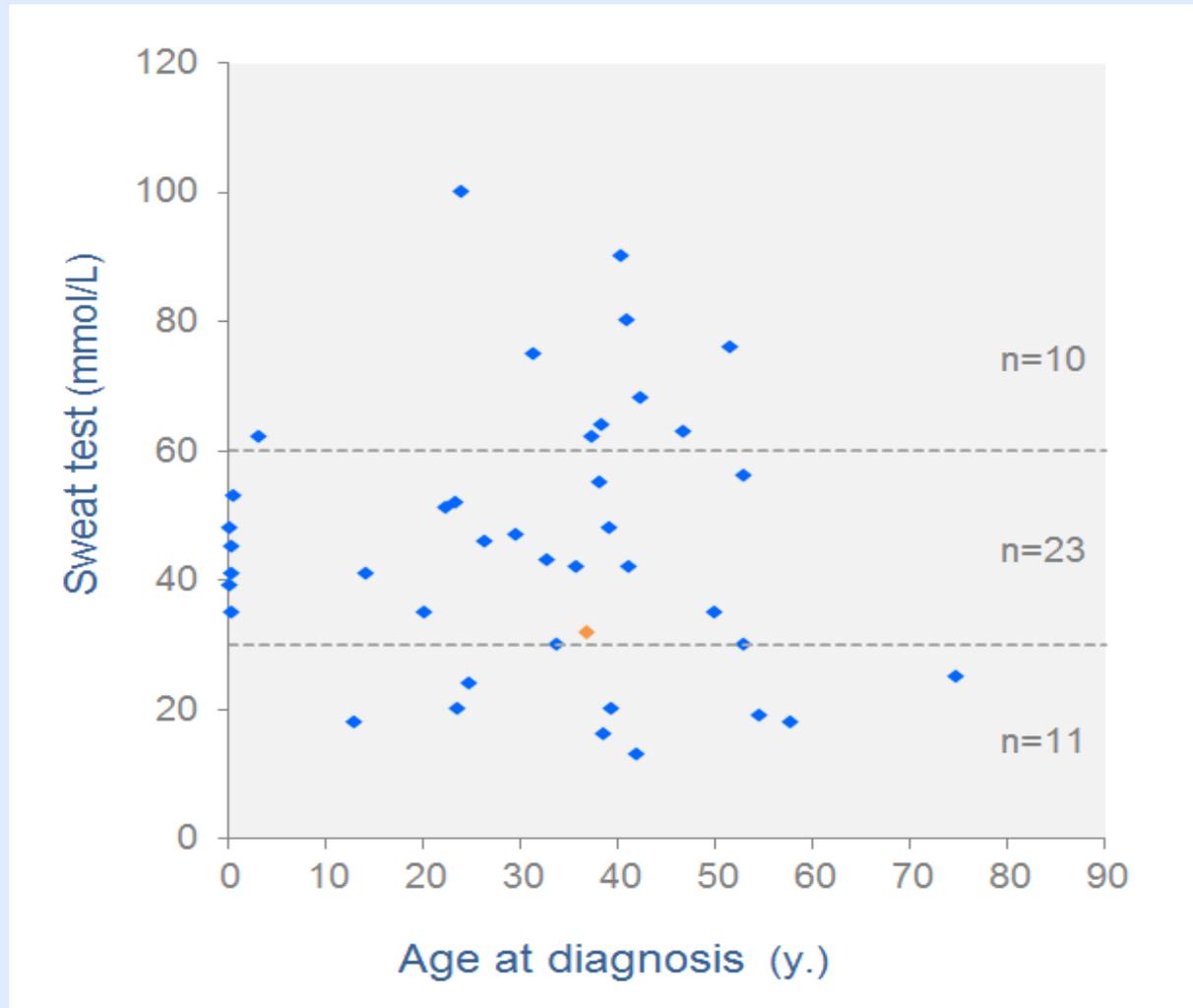
- Porte d'entrée au diagnostic :

- Maladie pulmonaire chronique (60%)
- CBAVD(30%)
- ▶ Pancreatite

Microbiology	No	Frequency (%)
<i>Aspergillus</i>	7 / 30	23.3%
<i>Staphylococcus</i>	20 / 30	66.7%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13 / 31	41.9%
<i>Burkholderia cepacia</i>	0 / 21	0.0%

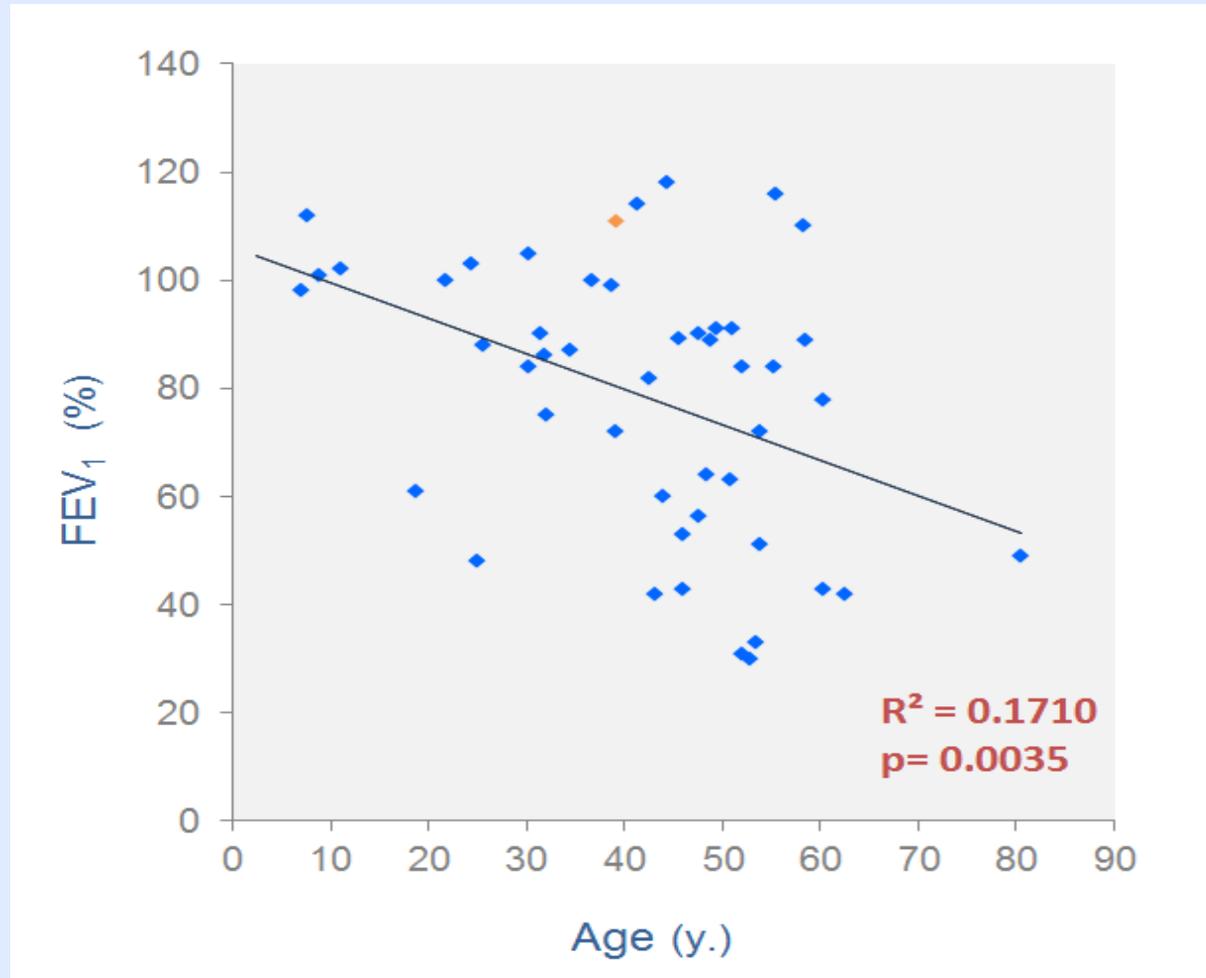
mutations à large spectre: exemple D1152H

- Corrélation test de la sueur/âge au diagnostic

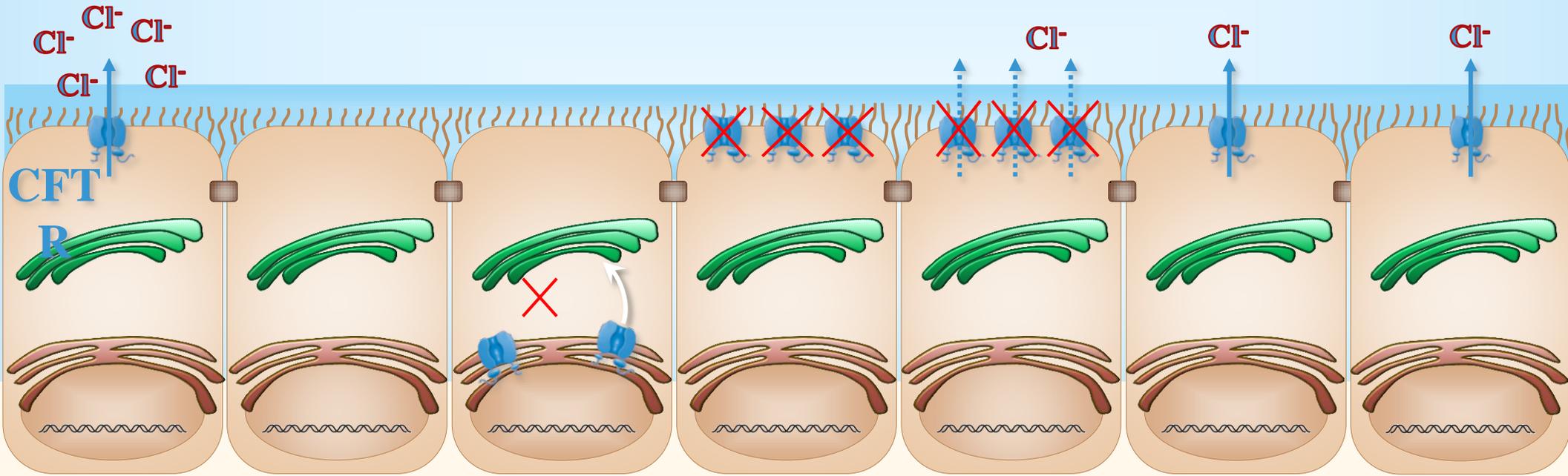


mutations à large spectre: exemple D1152H

- Corrélation VEMS / age



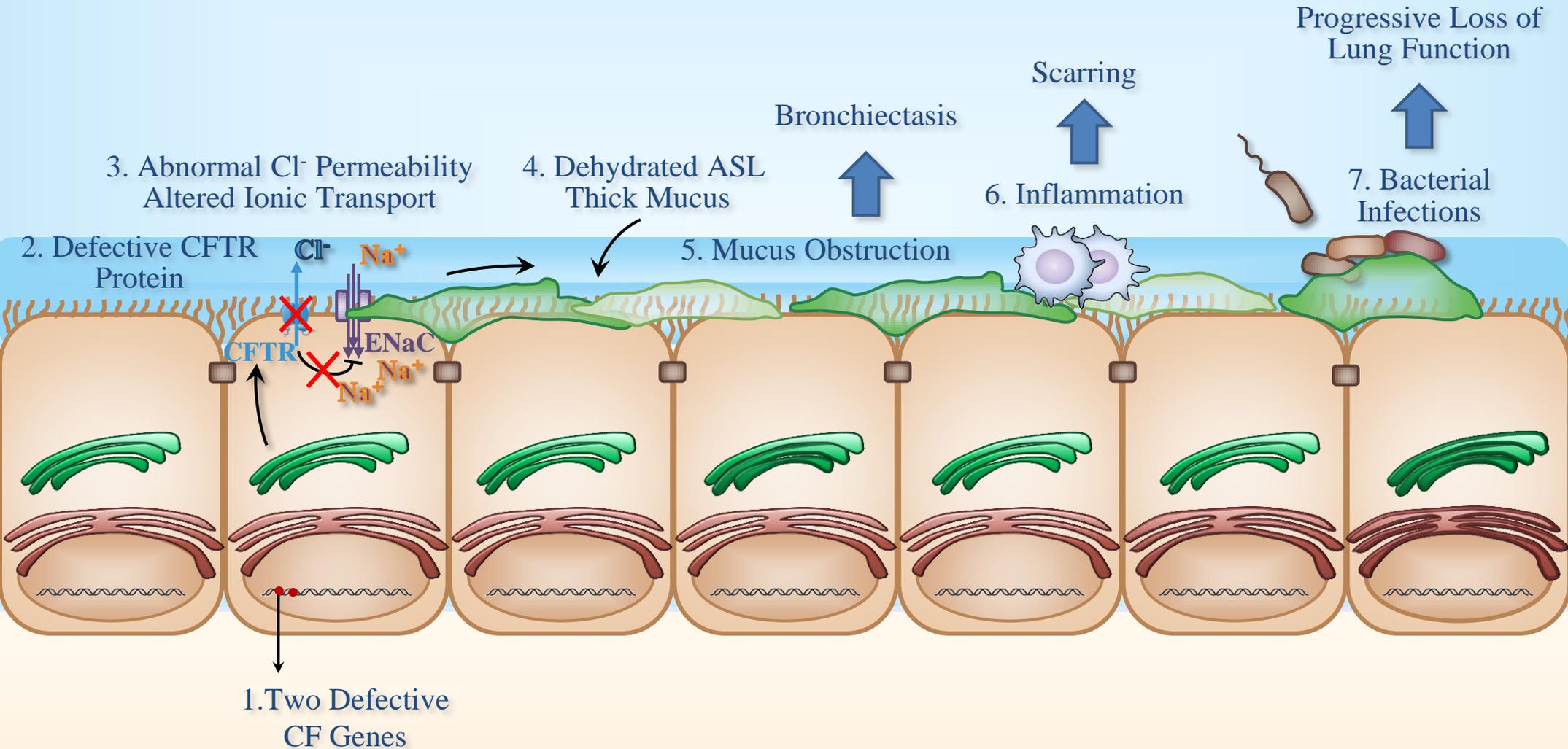
Les différentes classes de mutations du gène CFTR



wt-CFTR

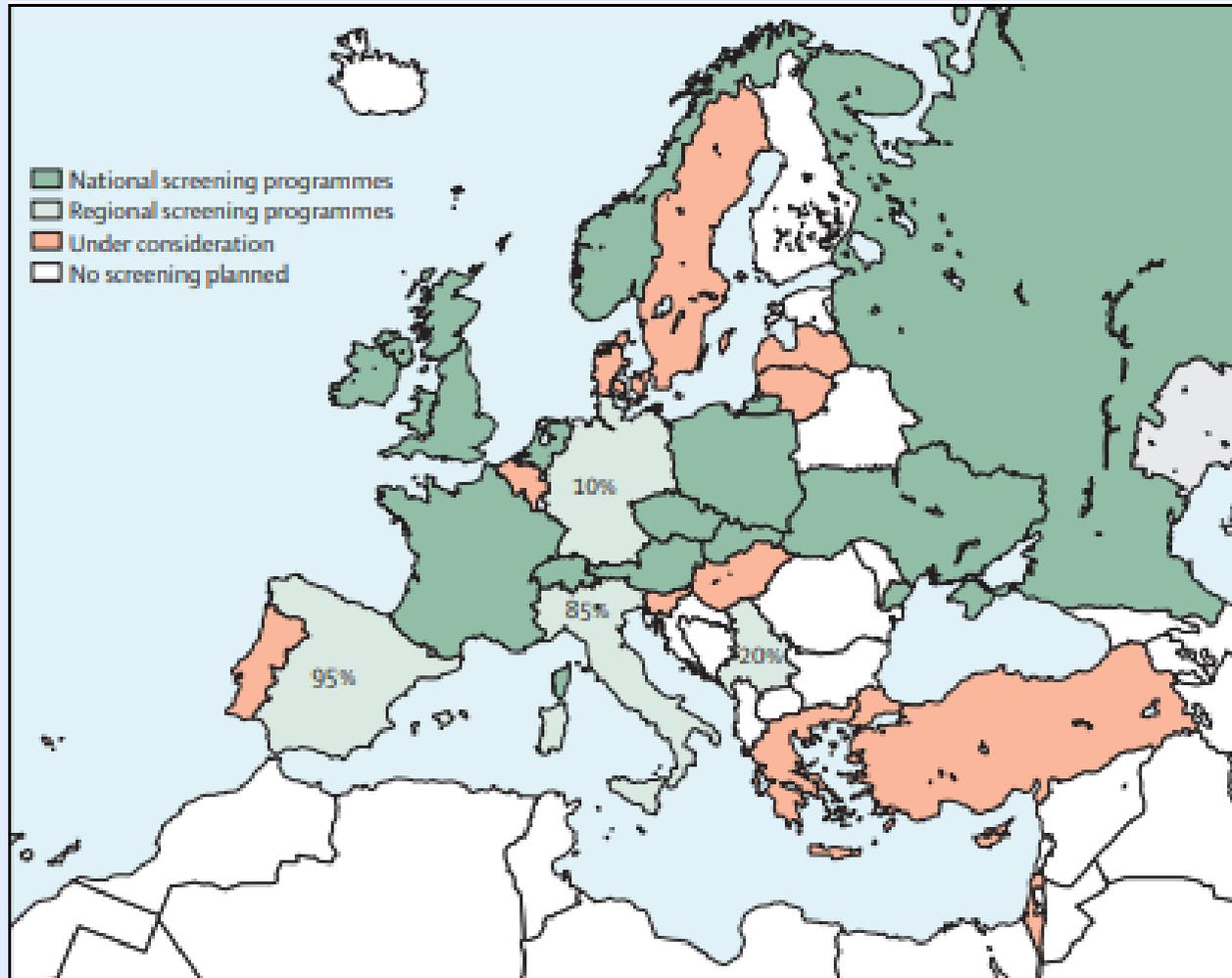
I	II	III	IV	V	VI
No protein	No traffic	No Function	Less Function	Less Protein	Less Stable
G542X (a) 394delTT (a) 1717-1G>A (b)	R1066C A561E F508del	G551D S549R G1349D	R117H R334W	A455E 3272-26A>G 3849 + 10 kb C >T	c.120del23 A455E rF508del

La cascade physiopathologique



- Le dépistage néo natal de la mucoviscidose
 - Mis en place dans la grande majorité des pays où l'incidence est élevée (Europe, US, Australie)
 - Les tests : TIR/DNA, TIR/TIR, PAP
 - Diagnostic précoce, prise en charge rapide

Mucoviscidose & Génétique

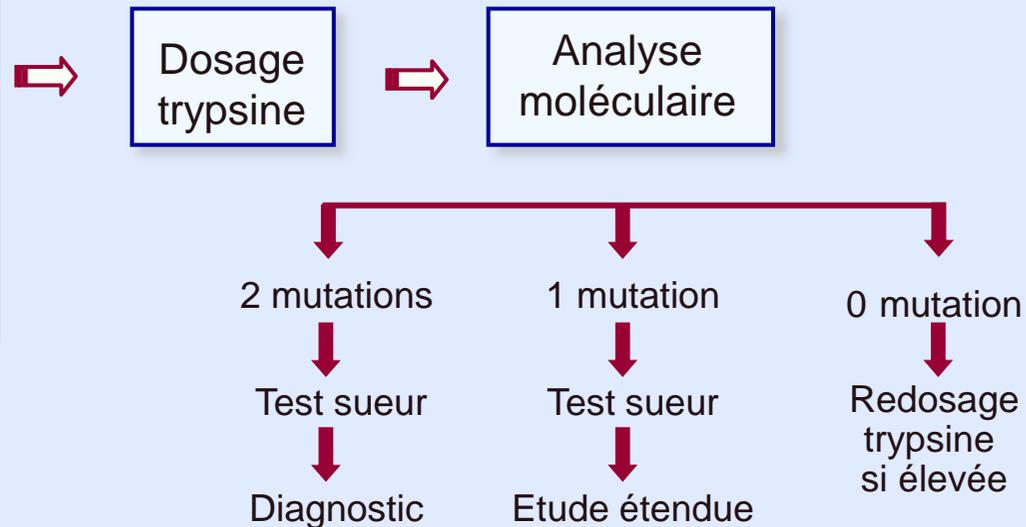
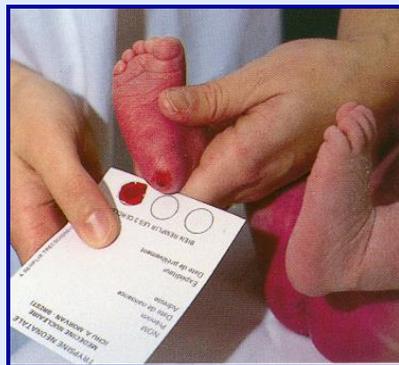


New born screening programmes in Europe, 2014

Source : Dr Kevin Southern

Mucoviscidose & Génétique

- Expérience « pilote » de dépistage néonatal
 - «Rationnel» pour la mise en place du dépistage en France
 - Utilisation d'un test génétique dans un dépistage de masse



Conseil génétique et mucoviscidose

- **Quand proposer un conseil génétique :**
 - Idéalement avant une grossesse (temps pour examens complémentaires, accompagnement psychologique)
 - Lorsque l'ATCD familial concerne le premier enfant du couple, la chronologie est difficile à établir (ni trop tôt, ni trop tard).
 - Au cours de la grossesse (découverte de signes à l'échographie). Le couple à cette période est vulnérable. Un soutien psychologique est souhaitable.

Conseil génétique et mucoviscidose

- Les principes :
 - A qui s'adresse le conseil génétique ?
 - Couples : après la naissance d'un premier enfant atteint
 - Antécédents familial plus lointain
 - L'un des conjoints est atteint et souhaite connaître son risque de transmission à sa descendance
 - Questions en vue d'un diagnostic prénatal ou préimplantatoire

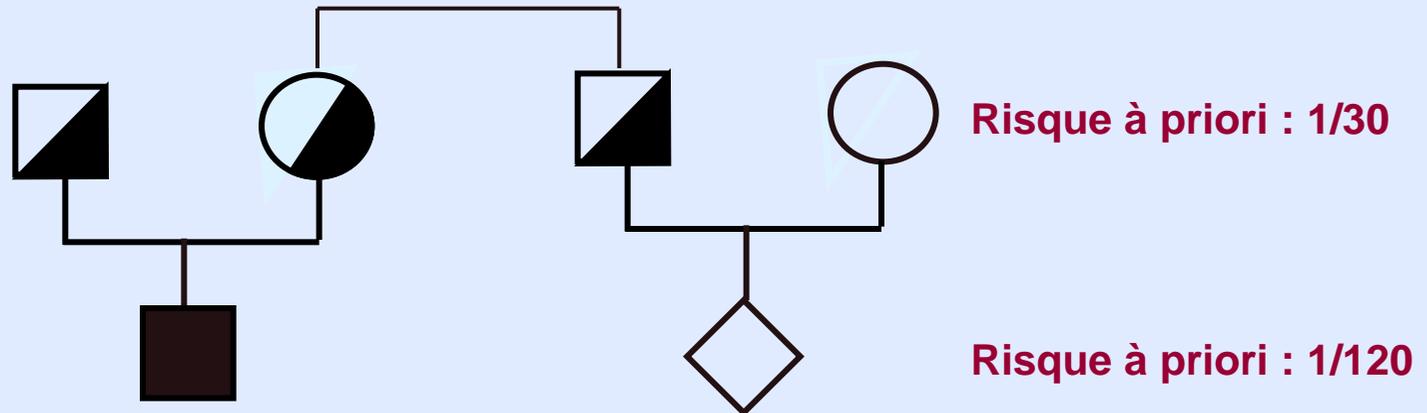
- **Forme classique**
 - Taux de porteur dans la population
 - 1/30 dans la population blanche
 - 1/100 dans les populations noires
 - Probablement inférieure dans la population asiatique
 - Probabilités conditionnelles (risque bayésien)
 - Risque à priori ...risque à postérieur

Mucoviscidose & Génétique

- Prise en charge du risque génétique
 - Couples à risque de $\frac{1}{4}$
 - Couples à risque de $\frac{1}{2}$
 - Couples à risque de $\frac{1}{120}$
 - Découverte in utero d'un intestin hyperéchogène

Mucoviscidose & Génétique

- Prise en charge des couples à risque de 1/120 (conjoint d'hétérozygote)
 - Circonstances de découverte
 - Dépistage familial en cascade
 - Dépistage néonatal
 - Dépistage systématique des porteurs en population

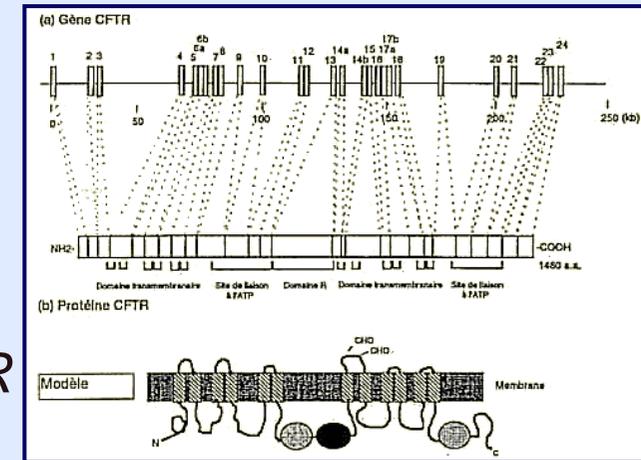


- Les autres pathologies du gène *CFTR* (CFTR-RD)
 - ABCD (absence bilatérale des canaux déférents)
 - Dilatation des bronches
 - Pancréatites chroniques

Mucoviscidose & Génétique

■ Le gène *CFTR* et l'infertilité masculine

- **1989** : clonage du gène *CFTR*
- **1990** : implication des mutations de gène *CFTR* dans ABCD (*Dumur et al, Lancet 1990*)
- L'absence ou l'atrésie bilatérale des canaux déférents (ACD) est une affection de transmission autosomique récessive
 - Affecte 1 homme sur 1 000 environ
 - Représente 6 à 8% des cas d'azoospermie obstructive



■ Conclusion

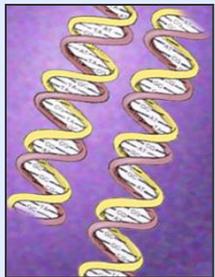
- Diagnostic de mucoviscidose: conseil génétique
- Prise en charge des couples à risque de 1/4
- Information des apparentés
- Prise en charge des formes frontières (CFTR-RD)
- D'une maladie mendélienne à une maladie complexe

Mucoviscidose & Génétique

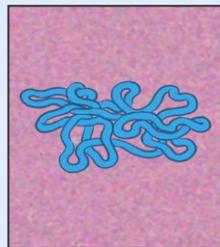
- Les approches thérapeutiques de la mucoviscidose:
 - Les traitements symptomatiques
 - Les traitements spécifiques

Vers une thérapeutique de la mucoviscidose

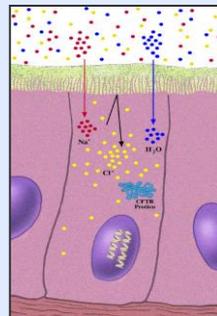
Mutation dans le gène CFTR



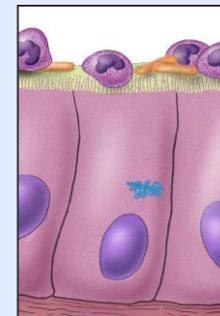
Protéine anormale



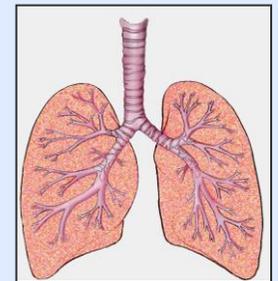
Transport d'ions altérés
Sécrétion anormale de mucus



Infection & Inflammation
Destruction des tissus



Difficultés Respiratoires
Destruction des poumons



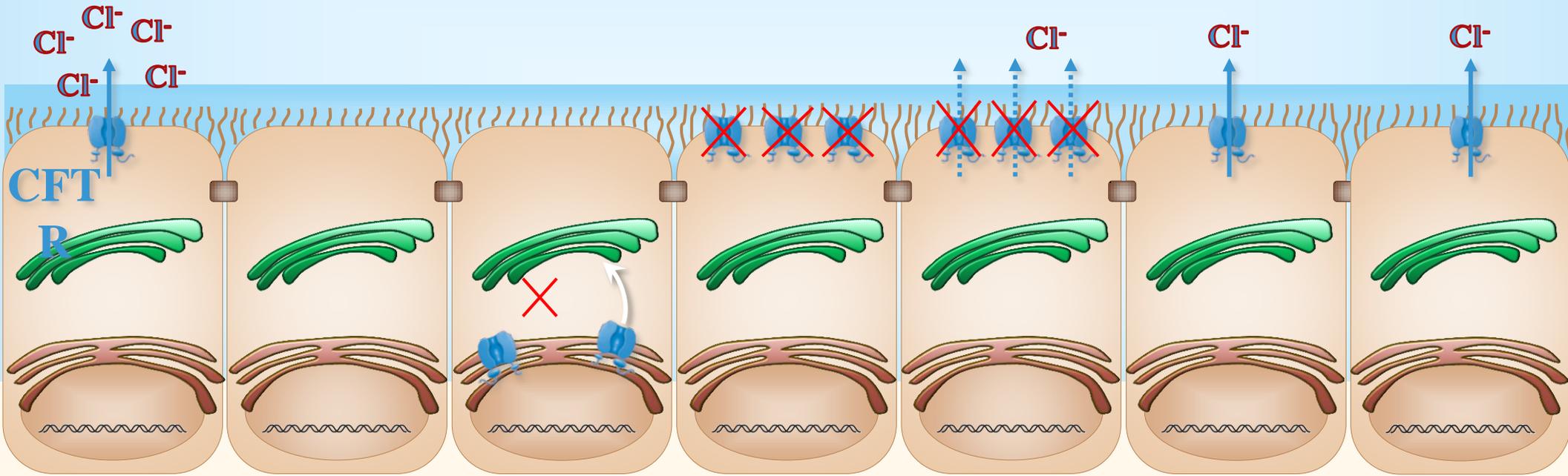
Thérapie Génique

Etude de CFTR et Pharmacologie

Inflammation
Infection

Transplantation

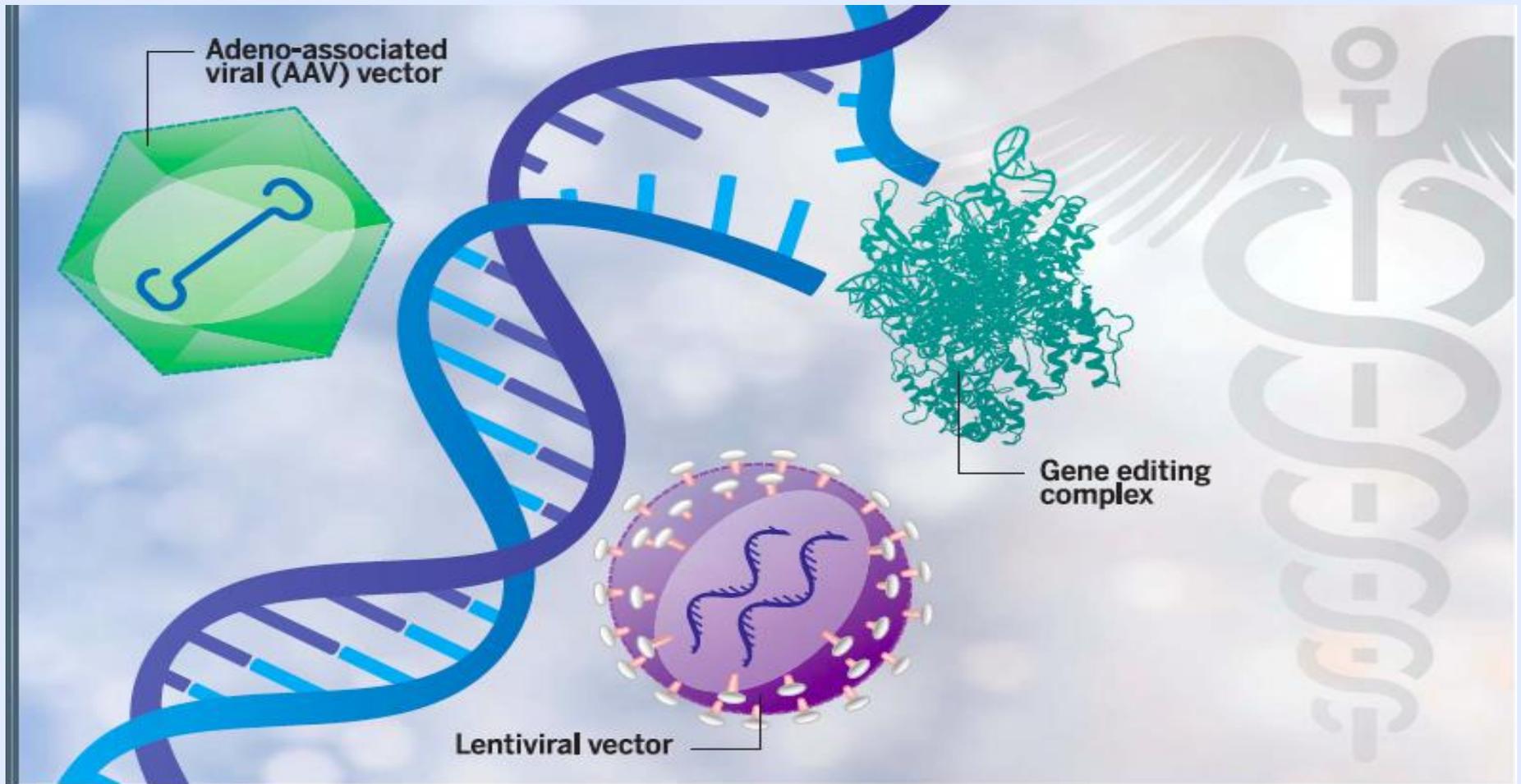
Les différentes classes de mutations du gène CFTR



wt-CFTR

I	II	III	IV	V	VI
No protein	No traffic	No Function	Less Function	Less Protein	Less Stable
G542X (a) 394delTT (a) 1717-1G>A (b)	R1066C A561E F508del	G551D S549R G1349D	R117H R334W	A455E 3272-26A>G 3849 + 10 kb C > T	c.120del23 A455E rF508del

Mucoviscidose & Génétique

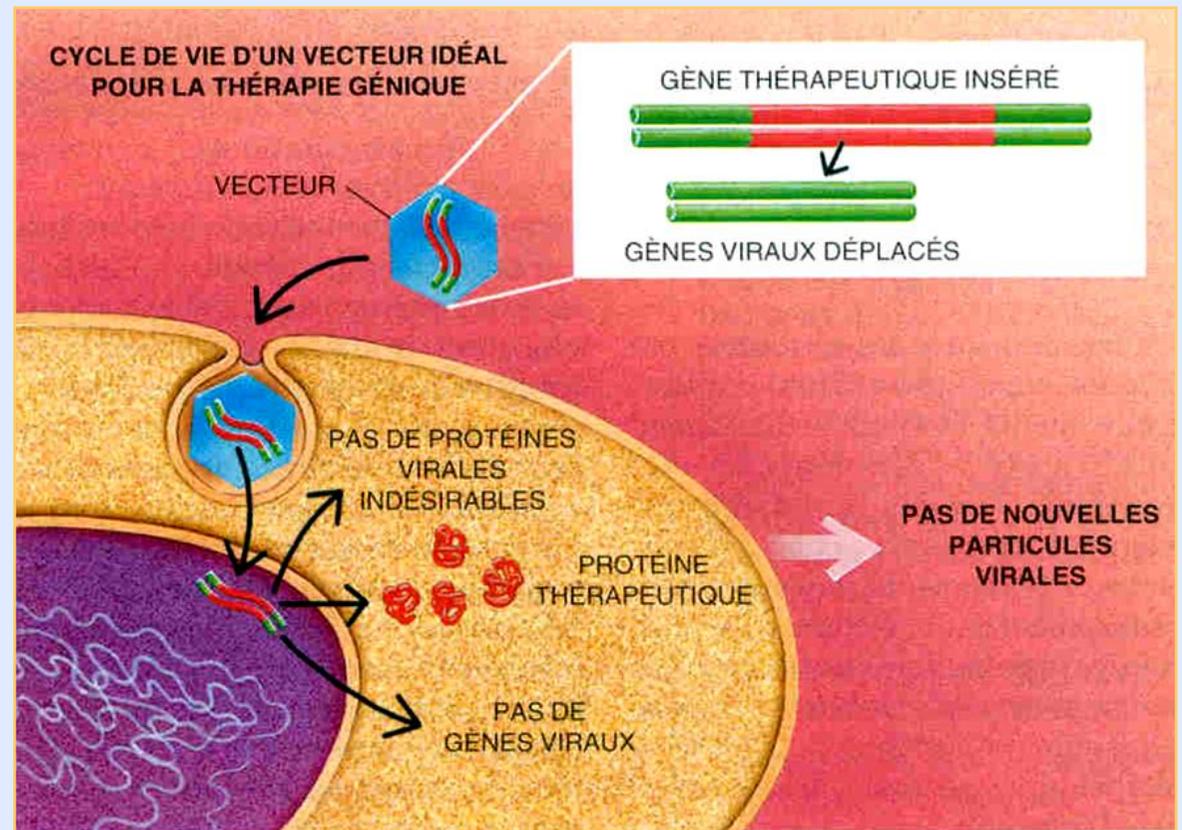


Three essential tools for human gene therapy. AAV and lentiviral vectors are the basis of several recently approved gene therapies. Gene editing technologies are in their translational and clinical infancy but are expected to play an increasing role in the field.

La Thérapie Génique

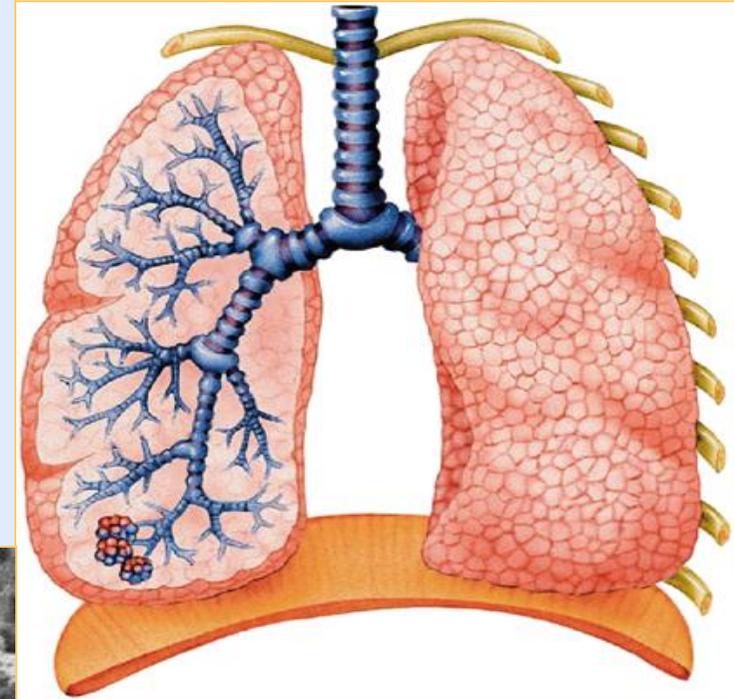
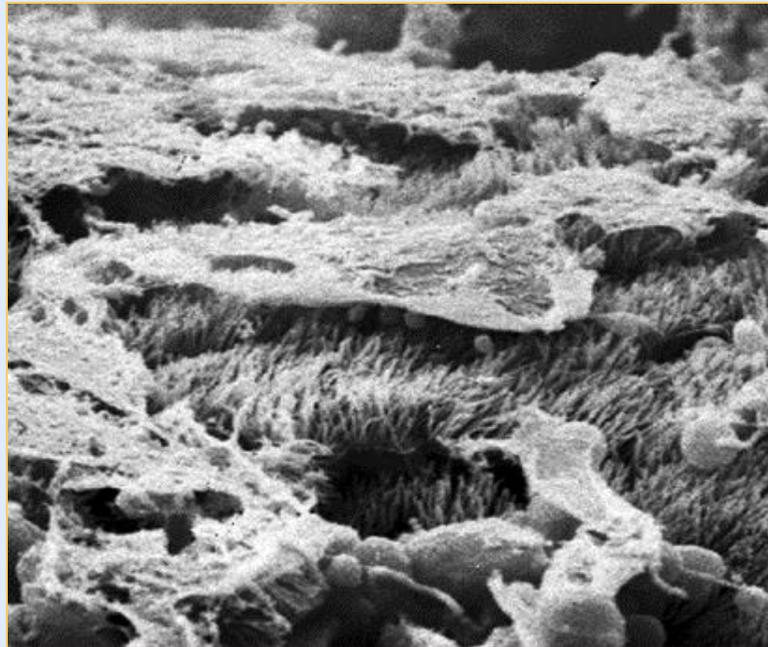
Les partenaires de la thérapie génique

- Les vecteurs
- Les cellules cibles
- Le gène



Thérapie génique

- Les barrières
- Les vecteurs



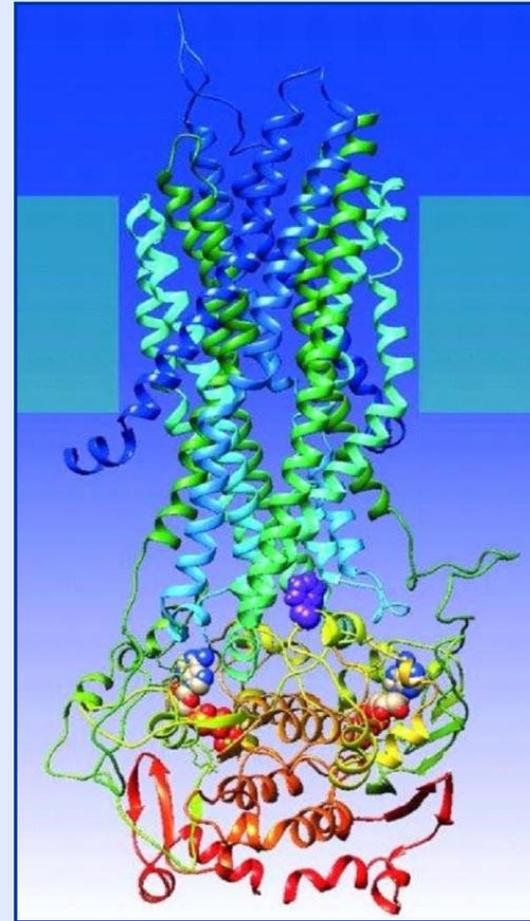
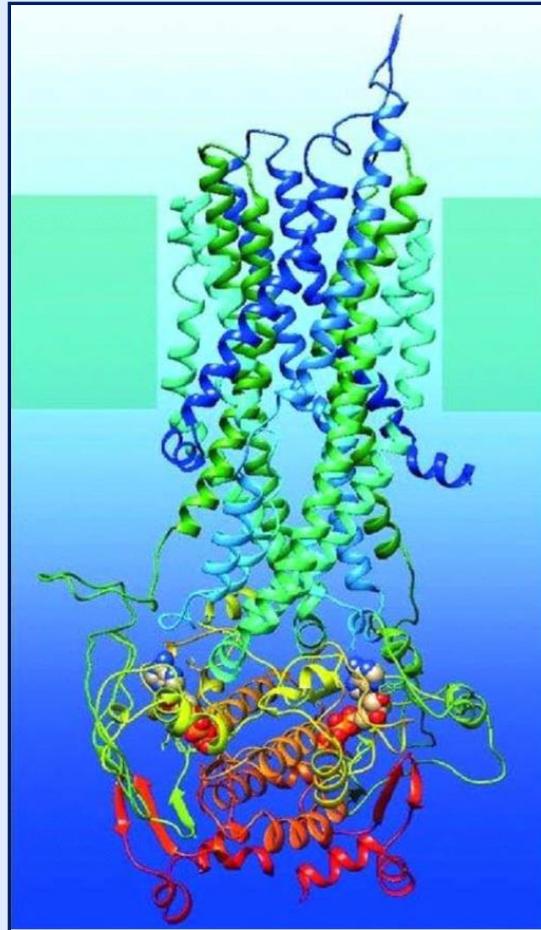
Thérapie génique de la mucoviscidose

- Un peu plus de trente protocoles cliniques ont été achevés ou sont encore en cours
 - 64 % des essais réalisés ont utilisé des vecteurs viraux
 - 30 % des vecteurs de synthèse

Mucoviscidose & Génétique

Modélisation de la protéine CFTR

Protéine sauvage et protéine mutée p.Phe508del



Adaptée de Mornon et al. (2015) Cell Mol Life Sci 72 :1377-403.

■ Les thérapies ciblées de la protéine CFTR :

■ Classe 1

- antibiotiques (eg gentamycine);Ataluren (PTC124) ;saut du codon stop permettant à la traduction d'être poursuivie

■ Classe 2

- ce sont des molécules chaperonnes qui vont agir sur le repliement de la protéine pour échapper à la destruction dans le RE et atteindre la surface de la cellule. Ces composés ont été appelés des correcteurs. Le correcteur VX-809 s'est montré très efficace *in vitro* (Van Goor,2011) il est actuellement utilisé en combinaison avec le potentiateur Ivacaftor (Orkambi). Les résultats sont modestes pour les patients homozygotes F508del.

- Les thérapies ciblées de la protéine CFTR
 - Classe 3
 - Les activateurs des canaux CFTR qui sont appelés des potentiateurs comme le VX-770 (Ivacaftor) qui s'est montré efficace in vitro et in vivo et qui a bénéficié d'une rapide mise sur le marché (FDA,EMA) pour les patients ayant au moins une mutation G551D. Le panel des mutations ciblées a été étendu pour y inclure 8 mutations « gating ».
 - Classe 4
 - L'objectif est ici d'augmenter le nombre de molécules à la membrane à l'aide de correcteurs ou bien alors d'augmenter le niveau d'activation des canaux (action attendue des potentiateurs).

- Les thérapies ciblées de la protéine CFTR :
 - Classe 5
 - Ces mutations diminuent de façon significative la quantité de protéine CFTR à la membrane en affectant l'épissage et en générant des transcrits aberrant. Des oligonucléotides anti-sens semblent prometteurs pour corriger des épissages aberrants
 - Classe 6
 - Il s'agit de trouver des molécules qui facilitent l'adhésion de CFTR à la membrane.

Conclusion

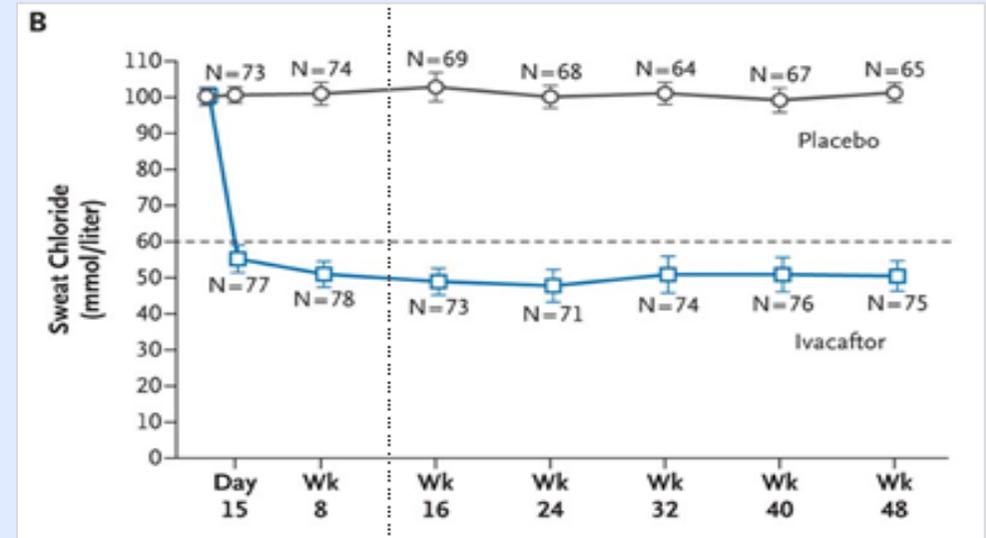
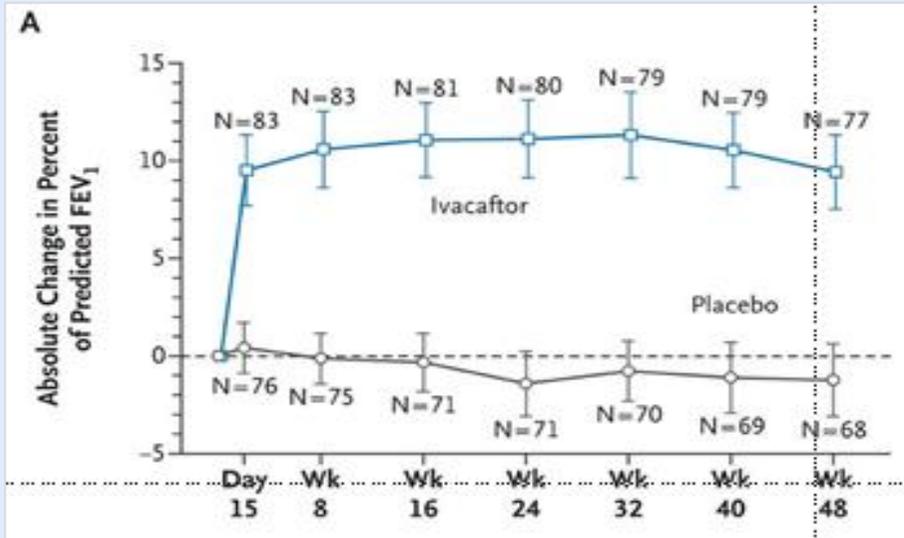


The NEW ENGLAND
JOURNAL of MEDICINE

A CFTR Potentiator in Patients with Cystic Fibrosis and the *G551D* Mutation

Bonnie W. Ramsey, M.D., Jane Davies, M.D., M.B., Ch.B., N. Gerard McElvaney, M.D., Elizabeth Tullis, M.D., Scott C. Bell, M.B., B.S., M.D., Pavel Dřevínek, M.D., Matthias Griese, M.D., Edward F. McKone, M.D., Claire E. Wainwright, M.D., M.B., B.S., Michael W. Konstan, M.D., Richard Moss, M.D., Felix Ratjen, M.D., Ph.D., Isabelle Sermet-Gaudelus, M.D., Ph.D., Steven M. Rowe, M.D., M.S.P.H., Qunming Dong, Ph.D., Sally Rodriguez, M.S., Karl Yen, M.D., Claudia Ordoñez, M.D., J. Stuart Elborn, M.D., for the VX08-770-102 Study Group

N Engl J Med, 2011, 365(18):1663-1672



Conclusion

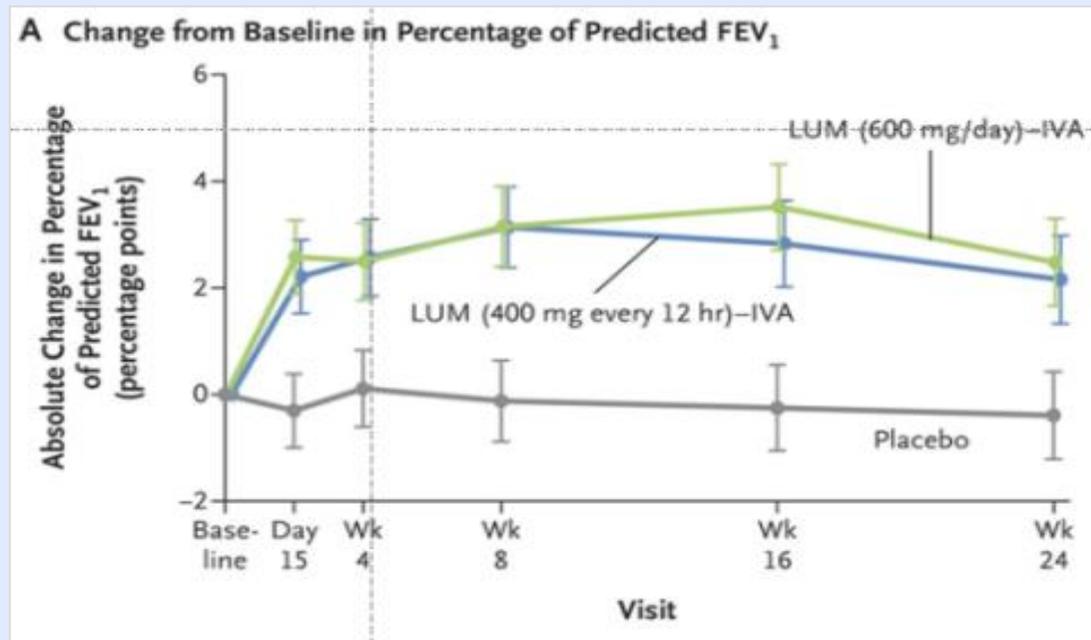


The NEW ENGLAND
JOURNAL of MEDICINE

Lumacaftor–Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del *CFTR*

Claire E. Wainwright, M.B., B.S., M.D., J. Stuart Elborn, M.D., Bonnie W. Ramsey, M.D., Gautham Marigowda, M.D., Xiaohong Huang, Ph.D., Marco Cipolli, M.D., Carla Colombo, M.D., Jane C. Davies, M.D., Kris De Boeck, M.D., Patrick A. Flume, M.D., Michael W. Konstan, M.D., Susanna A. McColley, M.D., Karen McCoy, M.D., Edward F. McKone, M.D., Anne Munck, M.D., Felix Ratjen, M.D., Steven M. Rowe, M.D., M.S.P.H., David Waltz, M.D., Michael P. Boyle, M.D., for the TRAFFIC and TRANSPORT Study Groups

N Engl J Med, 2015, 373(3):220-231



The **NEW ENGLAND**
JOURNAL of MEDICINE

ESTABLISHED IN 1812

NOVEMBER 23, 2017

VOL. 377 NO. 21

**Tezacaftor–Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis
Homozygous for Phe508del**

Jennifer L. Taylor-Cousar, M.D., Anne Munck, M.D., Edward F. McKone, M.D., Cornelis K. van der Ent, M.D., Ph.D., Alexander Moeller, M.D., Christopher Simard, M.D., Linda T. Wang, M.D., Edward P. Ingenito, M.D., Ph.D., Charlotte McKee, M.D., Yimeng Lu, Ph.D., Julie Lekstrom-Himes, M.D., and J. Stuart Elborn, M.D.

- Tezacaftor (VX-661) and Ivacaftor (VX-770) ont été choisis pour cibler la protéine CFTR chez des patients atteints de mucoviscidose.
- Phase 3, randomisée, double aveugle, multi centrique, contre placebo, essai en parallèle,
- Patients choisis au hasard ratio 1:1 pour recevoir 100mg de tezacaftor une fois par jour et 150 mg of ivacaftor deux fois par jour ou un placebo pendant 24 semaines.

- Le questionnement éthique
 - Le diagnostic anté natal et préimplantatoire à l'heure des thérapies ciblées
 - Le diagnostic des porteurs (en cascade ,en population?)
 - Les inclusions dans les essais thérapeutiques
 - La mucoviscidose en 2018 : une maladie de l'adulte ,une maladie chronique

- La mucoviscidose: de la génétique à la génomique
 - Une maladie mendélienne
 - Une maladie complexe
 - Un modèle pour la « médecine dite de précision » (4P)
 - Des questions éthiques....

LYON

5-7 AVRIL 2018

CENTRE DES CONGRÈS

3^e JOURNÉES
FRANCOPHONES DE
LA MUCOVISCIDOSE



TOUS SOLIDAIRES
POUR VAINCRE !

Merci pour
votre
attention !