

CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE PAR PUCE À ADN D'UNE DÉLÉTION TERMINALE 3PTER FAMILIALE À PHÉNOTYPE NORMAL

Lohmann L.⁽¹⁾, Courel K.⁽¹⁾, Costa JM.⁽¹⁾, Diallo C.⁽²⁾,
Kleinfinger P.⁽¹⁾, Montagnon M.⁽¹⁾, Trost D.⁽¹⁾, Bazin A.⁽¹⁾

⁽¹⁾ Département de Cytogénétique et Biologie Moléculaire, Laboratoire Cerba - Saint-Ouen l'Aumône, France
⁽²⁾ Service de Gynécologie obstétrique, CH de Saint-Brieuc - Saint-Brieuc, France

INTRODUCTION

Le syndrome 3p- en rapport avec une délétion terminale 3p25-pter est caractéristique dans la grande majorité des cas et associe le plus souvent une hypotrophie néonatale, une dysmorphie faciale à type de micro-brachycéphalie, trigonocéphalie, ptosis, télécanthus, blépharophimosis, des fentes palpébrales obliques vers le bas, micrognathie, long philtrum, ainsi qu'une hypotonie néonatale et un retard psychomoteur (Phipps et al., 1994). Dans la plupart des cas, ces délétions surviennent de novo avec un point de cassure qui se situe en 3p25.3 (Cargile et al., 2002). Cependant, de rares cas de délétions 3p terminales à phénotype strictement normal ou modéré sans retard psychomoteur sévère à transmission familiale fréquente ont aussi été rapportés (Tazelaar et al., 1991 ; Knight et al., 1995 ; Sklower-Brooks et al., 2002 ; Rivera et al., 2006 ; Takagishi et al., 2006 ; Shrimpton et al., 2006, Shuib et al., 2009).

Nous rapportons le cas d'un patient à phénotype normal avec une délétion 3p25.3 terminale identifiée par cytogénétique conventionnelle, moléculaire par hybridation in situ, par MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) puis par puce à ADN, dans un contexte de bilan d'échecs de la reproduction. La délétion de notre patient est comparée à celles précédemment décrites dans la littérature et nous discutons des gènes candidats potentiellement responsables des différents phénotypes observés chez des patients ayant une délétion 3p terminale.

OBSERVATION

Monsieur JM, âgé de 30 ans, est adressé pour un caryotype sanguin en raison de 3 fausses couches précoces de sa compagne. Il ne présente aucune dysmorphie et aucune déficience mentale, son cursus scolaire a été tout à fait habituel. Le caryotype montre en bandes RHG une délétion terminale du bras court d'un chromosome 3 (fig.1), confirmée par cytogénétique moléculaire (fig.2) à l'aide de sondes issues de BACs (provenant de l'Institut Sanger et marqués par nick-translation) et par MLPA des régions subtélomériques (Salsa MLPA Kit P036 Human Telomer et Salsa MLPA Kit P07 – MRC Holland). Afin de caractériser plus précisément le remaniement chromosomique, une puce à ADN a été réalisée (Affymetrix Cytogenetics Whole Genome 2.7) (voir tableau).

La formule chromosomique est la suivante :

46,XY,del(3)(p25.3).ish del(3)(p25.3)(D3S4559-, RP11-202A21-, RP11-115G3+, RP11-356I4+).arr 3p25.3(35,402-8,894,309)x1.

La taille de la délétion en 3p25.3 est confirmée par puce à ADN et représente une perte de 8,86 Mb (version CHAS NetAffx Build 29(hg18)). Après enquête familiale, deux des sœurs du patient, elles aussi sans histoire développementale notable, sont également porteuses de la même délétion, ce qui nous a permis de confirmer le caractère hérité de cette délétion familiale.

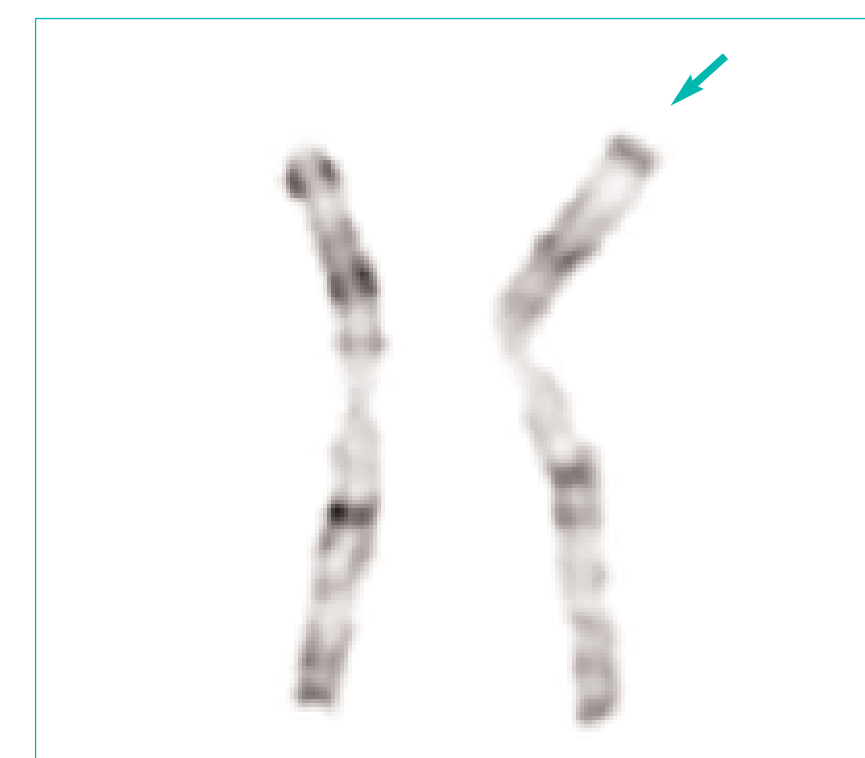


Fig. 1 :
Chromosomes 3 en RHG de notre patient montrant la délétion 3p terminale.

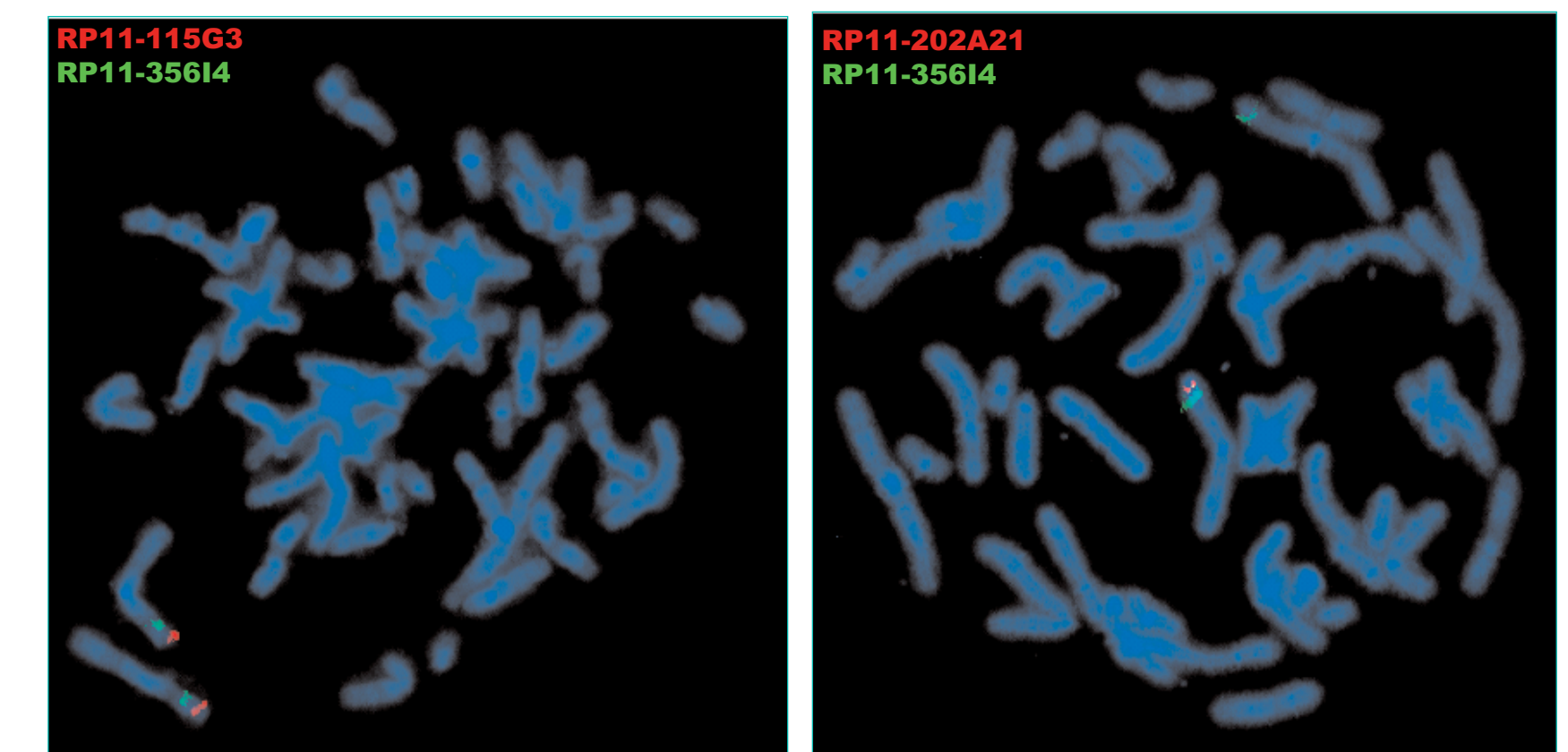


Fig. 2 :
Hybridations in situ avec les sondes BACs réalisées chez notre patient.

DISCUSSION

Variabilité phénotypique

La variabilité phénotypique de ce syndrome de délétion 3p terminale est importante puisqu'elle varie d'un phénotype strictement normal à un phénotype sévère avec dysmorphie faciale et retard psychomoteur. Le plus souvent, celui-ci est associé à des délétions de novo tandis que les phénotypes normaux ou modérés décrits sont plutôt associés à une transmission familiale (Pohjola et al., 2010, Cuoco et al., 2011). Il existe par ailleurs une variabilité phénotypique inter individuelle au sein d'une même famille comme Tazelaar et al. qui relatent le cas d'une transmission familiale mère fils d'une délétion 3p25 terminale avec un phénotype plus sévère chez le fils que chez la mère. Différentes hypothèses peuvent expliquer cette variation phénotypique, telles que le biais de recrutement, la non pénétrance chromosomique, ou des modifications géniques (Barber, 2008). Girirajan et al. suggère le modèle « two-hit » impliquant l'existence d'un second remaniement responsable du phénotype anormal ou « aggravant » le phénotype, ce qui expliquerait la variabilité inter individuelle au sein d'une famille.

Corrélations génotype-phénotype

Le point de cassure de la délétion de notre famille en 3p25.3 est celui classiquement décrit dans le syndrome 3p terminal typique (Cargile et al., 2002). Cependant, les analyses moléculaires des différentes études montrent aussi une variation des points de cassure (Phipps et al., 1994 ; Drumheller et al., 1996). Dans les origines parentales, les délétions sont aussi bien d'origine maternelle que paternelle, et il n'a pas été démontré d'effet d'empreinte pour aucun gène candidat (Pohjola et al., 2010). En 2002, la plus petite délétion décrite chez un patient avec un phénotype de délétion 3p « terminale » est une délétion interstitielle del(3)(p25.3p26.2) de 4.5 Mb (Cargile et al., 2002). En 2006, Dijkhuizen et al. mettent en évidence une région critique encore plus petite de 1.5 Mb partant du premier point de cassure décrit par Cargile et al.. La variation phénotypique n'est pas en rapport avec la taille de la délétion comme on avait pu le penser au départ, car de larges délétions ont été décrites chez des patients à phénotype normal ou modéré (Takagishi et al., 2006 ; Barber, 2005 et 2008). Dans notre cas, la délétion est une des plus larges décrites, proche de 9 Mb et le phénotype normal de notre fratrie corrobore cette observation.

Les dernières études moléculaires réalisées suggèrent 4 gènes qui pourraient être impliqués dans le retard mental de ce syndrome (figure 5). D'une part, l'étude de Dijkhuizen et al. suggère qu'une région critique de 1.5 Mb comprenant 2 gènes, CRBN et CNTN4, suffit à expliquer le phénotype commun. D'autres auteurs suggèrent que le gène CHL1 contribue au développement mental, notamment au niveau des fonctions cognitives (Shrimpton et al., 2006). Enfin, Endris et al. ont confirmé chez leurs 9 patients atteints une délétion d'un allèle du gène SGRAP3, qui pourrait être responsable du retard mental par haploinsuffisance. Cette hypothèse a été confirmée par Shuib et al. qui décrivent SGRAP3 comme un déterminant majeur dans le retard mental de la délétion 3p terminale : SGRAP3 est délété chez leurs 13 patients avec retard mental et présent chez leur seul patient à phénotype normal. Il semblerait qu'une toute petite délétion terminale en 3p26 ne comprenant que la région contenant CHL1 n'implique pas de dysmorphie faciale ni de retard psychomoteur important, mais peut être responsable d'un phénotype modéré (Dijkhuizen et al., 2006 ; Shrimpton et al., 2006) ou d'un phénotype strictement normal (Hoo et al., 2008). Tous ces gènes s'expriment dans le cerveau, la plupart d'entre eux appartiennent à des familles de molécules d'adhésion cellulaire (L1CAM, AxCAMs). Certains ont un rôle confirmé dans la formation et le maintien des fonctions neuronales (CNTN4), tandis que CHL1 aurait un rôle sur la fonction cognitive. Il n'a pour l'instant, pas été établi précisément de gènes directement en cause par rapport aux différents signes cliniques de ce « syndrome », mais il existe une forte présomption pour que le gène SGRAP3 soit un facteur majeur du retard mental décrit dans la délétion 3p terminale (Gunnarsson et al., 2009). Dans notre famille, la large délétion inclue les gènes CHL1, CRBN et CNTN4 (voir tableau), mais ne comprend pas le gène SGRAP3, ce qui confirmerait l'hypothèse actuellement reconnue par la plupart des auteurs que SGRAP3 serait bien un facteur majeur responsable de retard mental dans ce syndrome. En effet, seule l'haploinsuffisance en SGRAP3 a pu être unanimement décrite comme étant un facteur majeur du retard mental dans la délétion 3p par différents auteurs, contrairement à l'implication de CHL1, CRBN et CNTN4. Des gènes candidats pour les anomalies cardiaques décrites dans ce syndrome n'ont pas pu être confirmés à ce jour par l'ensemble des auteurs (Phipps et al., 1994 ; Cargile et al., 2002).

Cuoco et al., décrit une famille dans laquelle le père et ses deux fils ont la même délétion 3p terminale inférieure à 1 Mb, le père ayant un phénotype strictement normal et les fils un retard mental modéré. Une étude moléculaire par puce à ADN met en évidence une délétion isolée chez le père, tandis que chez les deux fils, la délétion est associée à une duplication de 696 Kb en 1q44, d'origine maternelle, parfaitement neutre chez la mère. Ce double remaniement chromosomique pourrait expliquer la variabilité phénotypique intrafamiliale de cette famille, ce qui rejoint le modèle « two-hit » de Girirajan et al.,

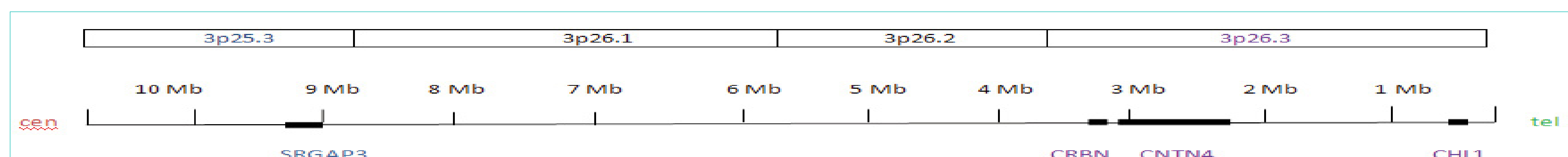


Fig. 5 :
Localisation schématique de quelques gènes entre 3p25.3 et 3p26.3 pouvant être impliqués dans le retard mental de la délétion 3p terminale (d'après Pohjola et al., 2010).

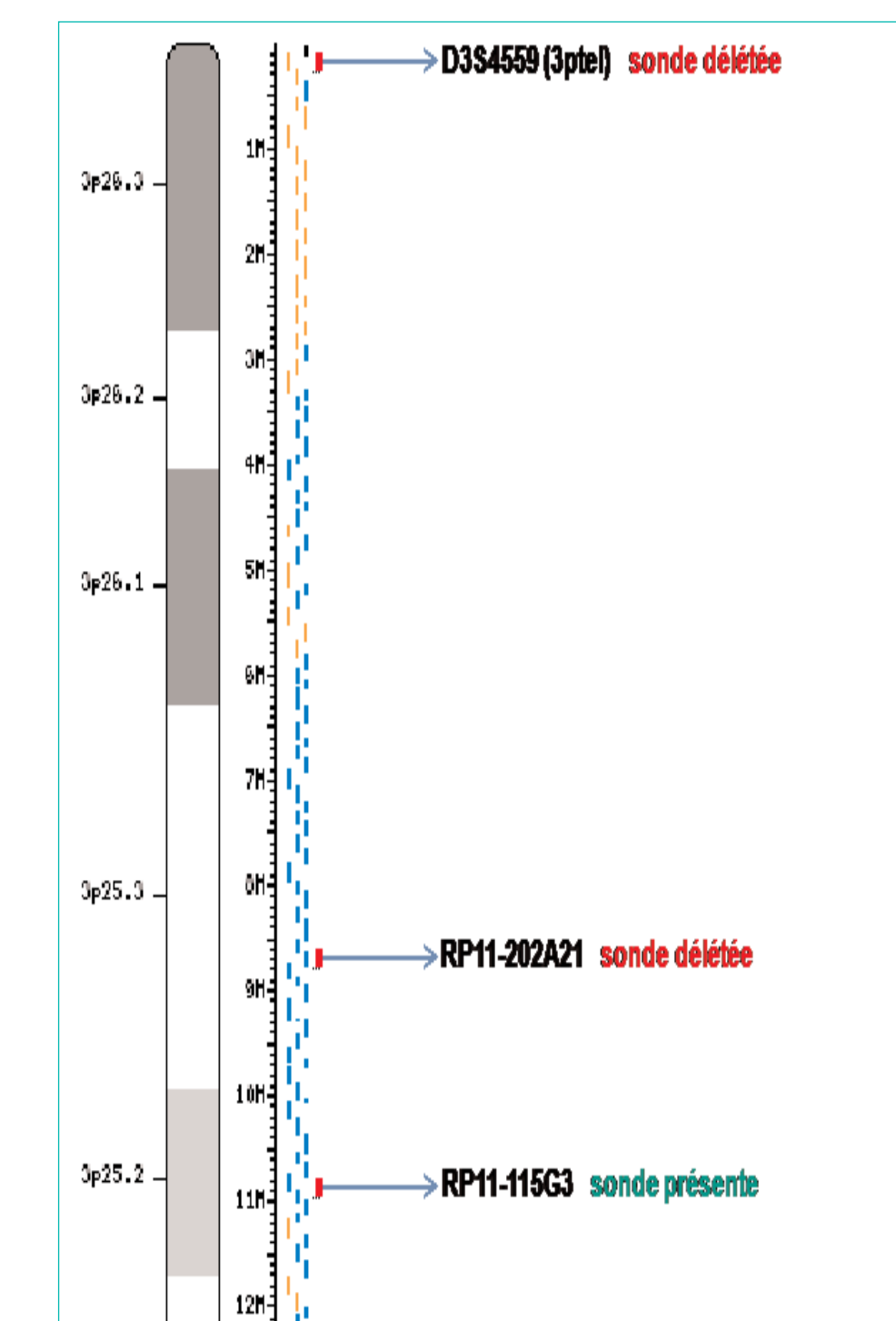


Fig. 3 :
Localisation des sondes utilisées en hybridation in situ pour notre patient.

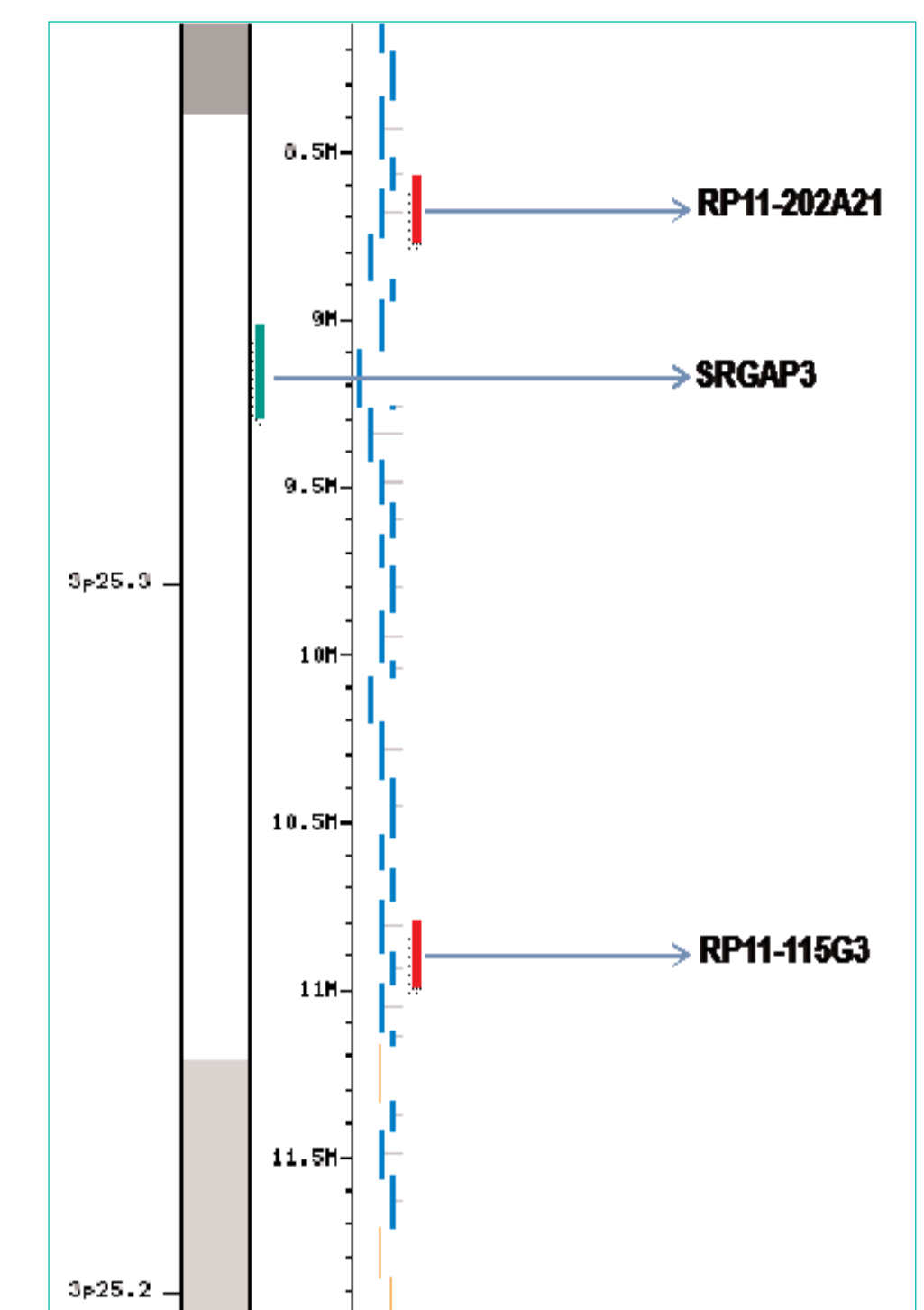


Fig. 4 :
Estimation de la taille de la délétion chez notre patient et localisation du gène SGRAP3.

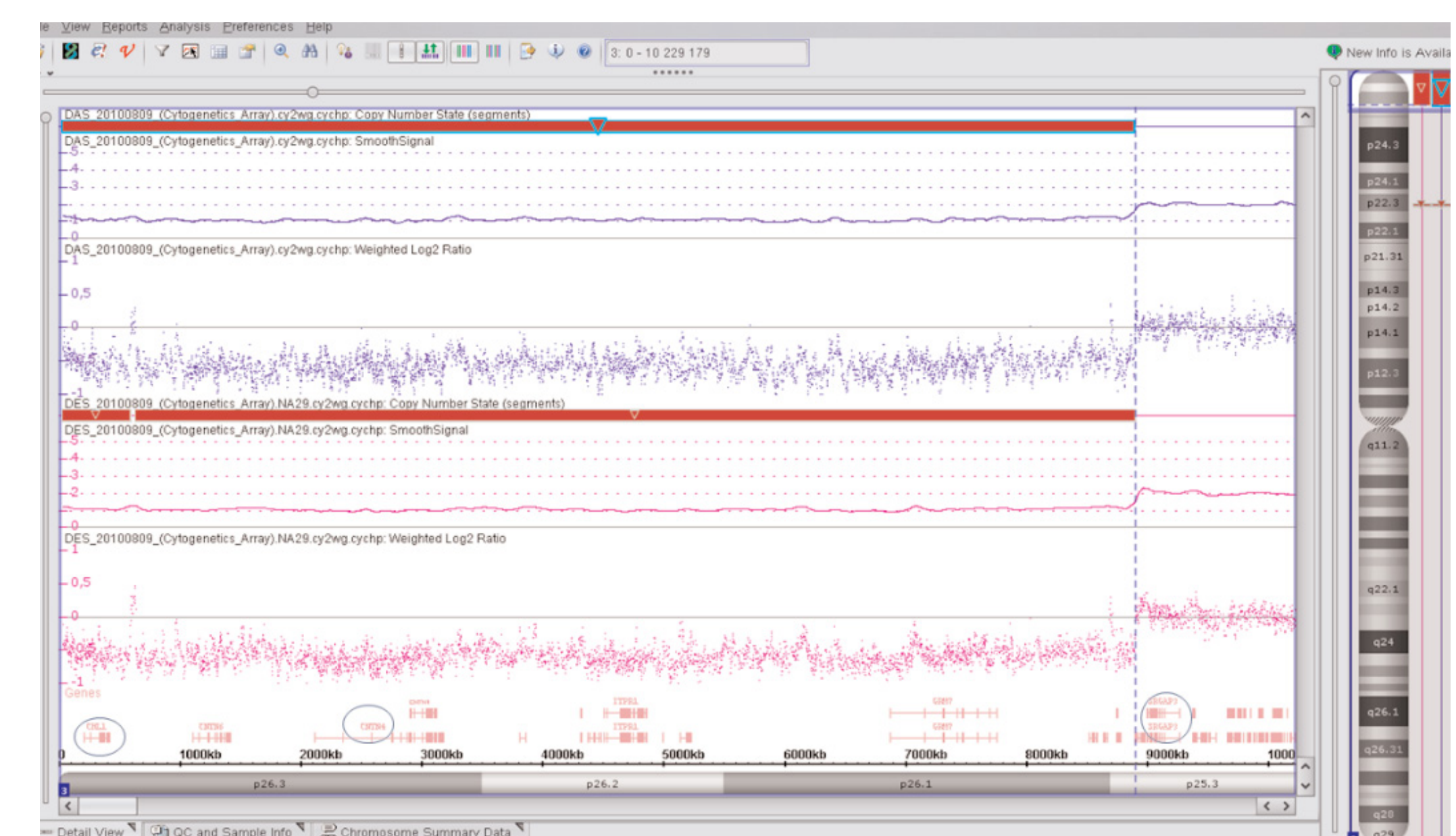


Tableau : Profil moléculaire de la délétion 3p avec la puce à ADN de notre patient (en violet) et une de ses sœurs (en rose). La délétion est délimitée à 8,86 Mb. Les principaux gènes impliqués dans le retard mental de la délétion 3p terminale sont délétés (CHL1, CNTN4 et CRBN non représentés ci-dessus), sauf SGRAP3 qui est présent, à la limite de la délétion.

CONCLUSION

L'analyse cytogénétique et moléculaire du remaniement chromosomique de notre famille s'est avérée informative dans l'exploration moléculaire à la recherche des gènes impliqués dans le retard mental du syndrome de délétion terminale 3pter. La pénétrance variable de cette délétion rend le conseil génétique difficile, malgré l'introduction de la puce à ADN qui peut expliquer, dans certains cas, le phénotype anormal en mettant en évidence d'autres remaniements génomiques associés à la délétion 3p héritée.

BIBLIOGRAPHIE

- Barber JC. Directly transmitted unbalanced chromosome abnormalities and euchromatic variants. *J Med Genet* 2005 ; 42 : 609-629.
- Barber JC. Terminal 3p deletions: phenotypic variability, chromosomal non-penetrance, or gene modification ? *Am J Med Genet* 2008 ; 146A : 1899-1901.
- Cargile CB, Goh DL, Goodman BK, Chen XN, Korenberg JR, Semenza GL, Thomas GH. Molecular cytogenetic characterization of a subtle interstitial del(3)(p25.3p26.2) in a patient with deletion 3p syndrome. *Am J Med Genet* 2002 ; 109/2 : 133-138.
- Cuoco C, Ronchetto P, Gimelli S, Béna F, Divizia MT, Lerone M, et al. Microarray based analysis of an inherited terminal 3p26.3 deletion, containing only the CHL1 gene, from a normal father to his two affected children. *Orphanet J Rare Dis* 2011 ; 6 : 12.
- Dijkhuizen T, van Essen T, van der Vlies P, Verheij JB, Sikkema-Raddatz B, van der Veen AY et al. FISH and array-CGH analysis of a complex chromosome 3 aberration suggests that loss of CNTN4 and CRBN contributes to mental retardation in 3pter deletions. *Am J Med Genet* 2006 ; 140A/22 : 2482-2787.
- Drumheller T, McGillivray BC, Behrner D, MacLeod P, McFadden DE, Roberson J et al. Precise localisation of 3p25 breakpoints in four patients with the 3p- syndrome. *J Med Genet* 1996 ; 33/10 : 842-847.
- Endris V, Wogatzky B, Leimer U, Bartsch D, Zatyka M, Latif F et al. The novel Rho-GTPase activating gene MEGAP/SRGRAP3 has a putative role in severe mental retardation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002 ; 99/18 : 11754-11759.
- Girirajan S, Rosenfeld JA, Cooper JM, Antonacci F, Siswara P, Itsara A, et al. A recurrent 16p12.1 microdeletion supports a two-hit model for severe developmental delay. *Nat Genet* 2010 ; 42/3 : 203-209.
- Gunnarsson C, Foyen Bruun C. Molecular characterization and clinical features of a patient with an interstitial deletion of 3p25.3-p26.1. *Am J Med Genet A* 2010 ; 152A/12 : 3110-3114.
- Hoo JJ, Shrimpton AE. Distal 3p deletion is not necessarily associated with dysmorphic features or psychomotor delay. *Am J Med Genet* 2008 ; 146A/4 : 538.
- Knight LA, Yong MH, Tan M, Ng ISL. Del(3)(p25.3) without phenotypic effect. *J Med Genet* 1995 ; 32/12 : 994-995.
- Phipps ME, Latif F, Prowse A, Payne SJ, Dietz-Band J, Leversha M et al. Molecular genetic analysis of the 3p- syndrome. *Hum Mol Genet* 1994 ; 3/6 : 903-908.
- Pohjola P, de Leeuw N, Penttinen M, Kääriäinen H. Terminal 3p deletions in two families—correlation between molecular karyotype and phenotype. *Am J Med Genet* 2010 ; 152A/2 : 441-446.
- Shrimpton AE, Jensen KA, Hoo JJ. Karyotype-phenotype analysis and molecular delineation of a 3p26 deletion/8q24.3 duplication case with a virtually normal phenotype and mild cognitive deficit. *Am J Med Genet* 2006 ; 140/4 : 388-391.
- Shuib S, McMullan D, Rattenberry E, Barber RM, Rahman F, Zatyka M, et al. Microarray based analysis of 3p25-p26 deletions (3p-syndrome). *Am J Med Genet* 2009 ; 149B/10 : 2099-2105.
- Takagishi J, Rauert KA, Drumheller T, Kousseff B, Sutcliffe M. Chromosome 3p25 deletion in mother and daughter with minimal phenotypic effect. *Am J Med Genet* 2006 ; 140/14 : 1587-1593.
- Tazelaar J, Roberson J, Van Dyke DL, Babu VR, Weiss L. Mother and son deletion of 3p25-ter. *Am J Med Genet* 1991 ; 39/2 : 130-132.