

# Targeted NGS : What Else ?

JOURNAL MARIH 2019



# **Notre organisation au défi de la Génétique haut débit?**

JOURNÉE MARIH 2019

# En 2019...Génétique et Complexité

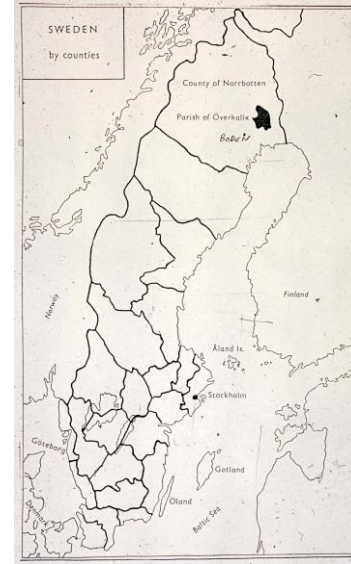
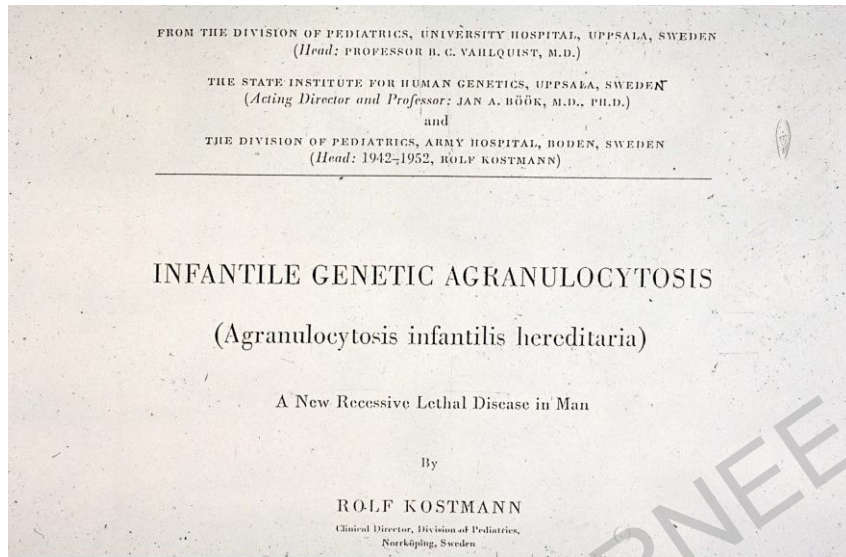
- Il y a des situations « simples » en génétique et dans les maladies rares
- 1 maladie = 1 gène = 1 mutation
  - Drépanocytose =  $\beta$  globine [1977]
- 1 maladie = 1 gène - plusieurs mutations
  - Mucoviscidose = gène CFTR

# Coté Hémato...Au temps ancien..

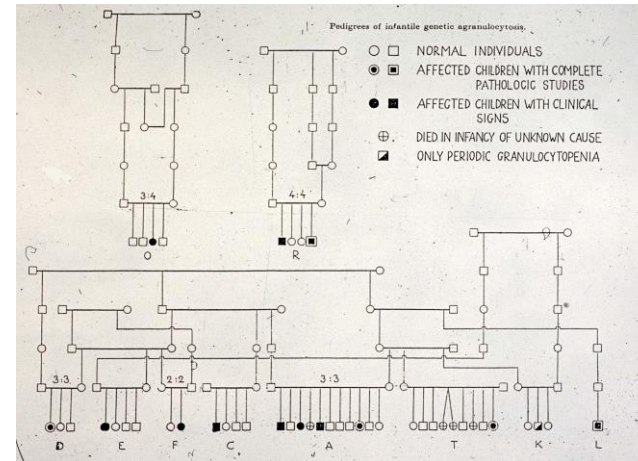
- Quelques patients... une maladie – un nom ...un gène ?

JOURNEE MARIH 2015

# Maladie de Kostmann

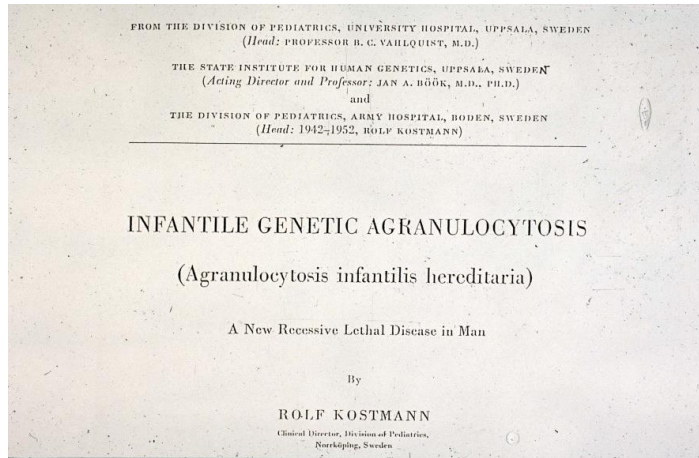


1956

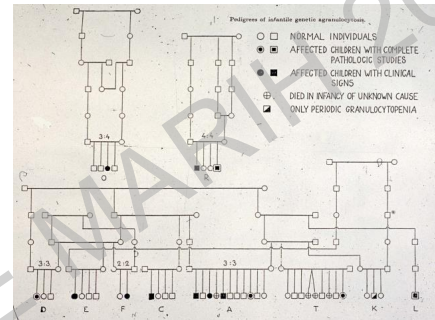


**Pour des années...  
toutes les neutropénies  
congénitales ont  
baptisé « Kostmann »**

# Maladie de Kostmann



1956



HAX1 deficiency causes autosomal recessive severe congenital neutropenia (Kostmann disease)

2007

Christoph Klein<sup>1</sup>, Magda Grudzien<sup>2</sup>, Giridharan Appaswamy<sup>1</sup>, Manuela Germeshausen<sup>1</sup>, Inga Sandrock<sup>1</sup>, Alejandro A Schäffer<sup>3</sup>, Chozhavendan Rathinam<sup>1</sup>, Kaan Boztug<sup>1</sup>, Beate Schwinger<sup>1</sup>, Nima Rezaei<sup>4</sup>, Georg Bohn<sup>1</sup>, Malin Melin<sup>5</sup>, Göran Carlsson<sup>6</sup>, Bengt Fadeel<sup>7</sup>, Niklas Dahl<sup>5</sup>, Jan Palmblad<sup>8</sup>, Jan-Inge Henter<sup>6</sup>, Cornelia Zeidler<sup>1</sup>, Bodo Grimbacher<sup>2,9,10</sup> & Karl Welte<sup>1,10</sup>

# Maladie de Kostmann

HAX1 = 2 % des neutropénies congénitales

HAX1 : atteinte hématologique ET  
**neurologique**

JOURNÉE MAPHI 2019



# Neutropénies congénitales

Le terme Kostmann' n'est plus qu'une entité mineure et syndromique...

Près de 30 gènes impliqués dans les neutropénies congénitales

Pas plus de 5 neutropénies 'pures' et près de 25 syndromiques

# MARIH

- 12 centres de références
  - Entre 7000 et 10 000 patients
  - Environ 500 'entités génétiques'
    - Une majorité d'origine génétique 'constitutionnelle'
    - Une minorité d'origine acquise 'somatique'
    - X gènes à découvrir (probablement < 500)
  - **Dans tous les cas, la génétique constitutionnelle ET somatique est un outil majeur**

# MARIH

- ~ 500 gènes
- La seule façon de gérer la complexité génétique... :
  - Génétique haut débit (Targeted NGS – ou Whole exome.. )
  - ET
  - Coopération

# Besoins en analyse génétique et CRMR /MARIH

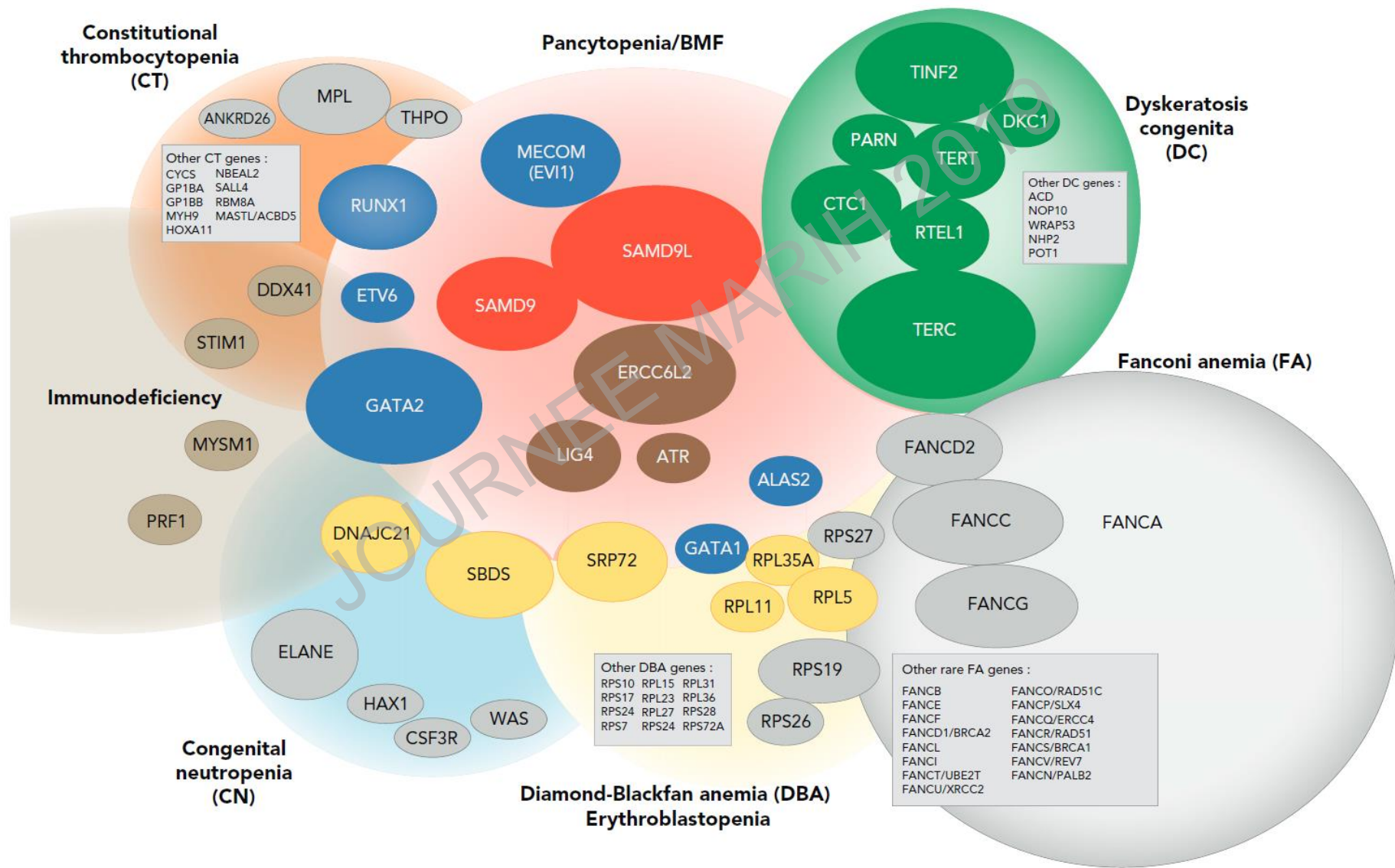
CRMR	nb de gènes	
	Germline	Somatique
Aplasia DBA FA DKC	120	50
Angio Oedeme	5	
CEREDIH	400	
Neutropénies	35	50
Histiocytoses	4	40
Mastocytose		5
Eosinophilie		5
Amylose	5	
MAT	20	
Evans Ped Enfant	50	
Castelman		4

# Pourquoi une réflexion 'Filière'

JOURNEE MARIH 2019

# A landscape of germ line mutations in a cohort of inherited bone marrow failure patients

Olivier Bluteau,<sup>1,3,\*</sup> Marie Sebert,<sup>2,3,\*</sup> Thierry Leblanc,<sup>4</sup> Régis Peffault de Latour,<sup>2,5,7</sup> Samuel Quentin,<sup>1</sup> Elodie Lainey,<sup>8</sup> Lucie Hernandez,<sup>2,3</sup> Jean-Hugues Dalle,<sup>2,4</sup> Flore Sicre de Fontbrune,<sup>6</sup> Etienne Lengline,<sup>9</sup> Raphael Itzykson,<sup>2,3,5,9</sup> Emmanuelle Clappier,<sup>1,3</sup> Nicolas Boissel,<sup>2,5,9</sup> Nadia Vasquez,<sup>1</sup> Mélanie Da Costa,<sup>1</sup> Julien Macliah-Blanchon,<sup>3</sup> Wendy Cuccini,<sup>1</sup> Anna Raimbault,<sup>1,3</sup> Louis De Jager,<sup>3</sup> Lionel Adès,<sup>2,9</sup>



# Classification VERTICALE 1 maladie 1 phénotype 1 gène

JOURNEE MARIH 2019



~~Classification VERTICALE 1 maladie 1 phénotype 1 gène~~

JOURNÉE MARIH 2019





JOURNEE MARIH 2019

# Intersections permanentes...

- Cliniques
- Génétiques

JOURNEE MARIH 2019

# Laboratoires offrant des études génétiques

	Constitutionnel	Somatique		MARIH
Necker CEDI				
Pitié Neutropénie				
Curie FA				
Bichat TERT				
R Debré 1 DBA GR				
R Debré 2 Cavé				
HEGP Complément				
Béclère / willebrant				
Trousseau Plaq				
Saint Antoine/ Hemato				
Lille / Hémato				
Lyon / Hémato				
Toulouse / Hémato				
Strasbourg				
Dijon				
St Etienne				
IGR				
Ambroise Paré				
St Louis				

**Le NGS a-t-il tué  
l'expertise clinique ?**

JOURNÉE MARCHÉ 2019

# NON !

- La génétique ne sera jamais univoque...

JOURNEE MARIH 2019

# Variant + ou - Pathogène

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

Sue Richards, PhD<sup>1</sup>, Nazneen Aziz, PhD<sup>2,16</sup>, Sherri Bale, PhD<sup>3</sup>, David Bick, MD<sup>4</sup>, Soma Das, PhD<sup>5</sup>, Julie Gastier-Foster, PhD<sup>6,7,8</sup>, Wayne W. Grody, MD, PhD<sup>9,10,11</sup>, Madhuri Hegde, PhD<sup>12</sup>, Elaine Lyon, PhD<sup>13</sup>, Elaine Spector, PhD<sup>14</sup>, Karl Voelkerding, MD<sup>13</sup> and Heidi L. Rehm, PhD<sup>15</sup>; on behalf of the ACMG Laboratory Quality Assurance Committee

## Human Genome Variation Society nomenclature

<b>5</b>	<b>Pathogène certain</b>
<b>4</b>	<b>Probablement pathogène</b>
<b>3</b>	<b>VSI Variant Signification Inconnue</b>
<b>2</b>	<b>Probablement bénin</b>
<b>1</b>	<b>Bénin</b>

# Somatique vs germline ...

Exemple CXCR4

Mutation CXCR4 germline

WHIM

Mutation CXCR4 acquise:

Waldenstrom....

- GATA2
- RUNX1
- STAT3
- P53
- BRAF .....

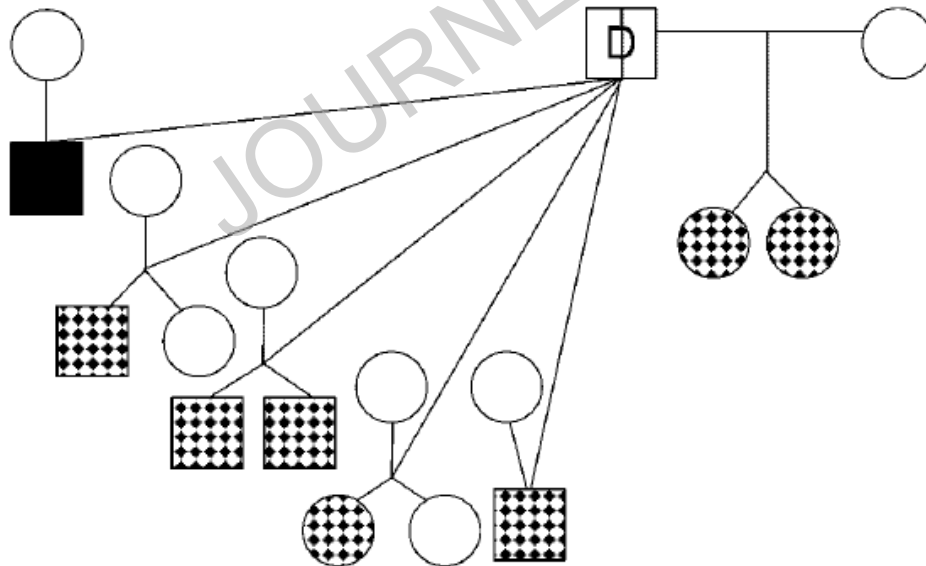
# Mosaicisme

- Mosaïque germinale

Pediatr Blood Cancer 2010;55:314–317

**Cyclic Neutropenia and Severe Congenital Neutropenia in Patients With a Shared ELANE Mutation and Paternal Haplotype: Evidence for Phenotype Determination by Modifying Genes**

Peter E. Newburger, MD,<sup>1\*</sup> Talia N. Pindyck, MD,<sup>1</sup> Zhiqing Zhu, MS,<sup>1</sup> Audrey Anna Bolyard, RN,<sup>2</sup> Andrew A.G. Aprikyan, PhD,<sup>2</sup> David C. Dale, MD,<sup>2</sup> Gary D. Smith, MD,<sup>3</sup> and Laurence A. Boxer, MD<sup>4</sup>





# Somatic genetic rescue

## REVIEWS

### Somatic genetic rescue in Mendelian haematopoietic diseases

Patrick Revy<sup>1,2\*</sup>, Caroline Kannengiesser<sup>3,4</sup> and Alain Fischer<sup>2,5,6,7</sup>

Abstract | Somatic mutations occur spontaneously in normal individuals and accumulate throughout life. These genetic modifications contribute to progressive ageing phenotypes and are directly involved in cancer development. However, a growing number of studies of Mendelian haematopoietic disorders indicate that somatic genetic events can offset the pathogenic effect of germline mutations at the cellular level, leading to genetic mosaicism and, in some cases, resulting in a milder disease phenotype. Notably, spontaneous genetic events that confer a positive effect on cells do not always benefit the individual, for whom the effects can be neutral or even clinically detrimental. These somatic genetic rescue events have important diagnostic, therapeutic and clinical consequences and constitute valuable models for studying the differentiation and/or homeostasis of haematopoietic lineages.

# L'expertise clinique n'est pas morte...

- Identifier les indications
- On rentre dans un panel par une sélection...
- Argumenter l'interprétation
- Identifier les situations 'recherche'
- Rendu du résultat au patient et à sa famille
- Soigner ! Targeted NGS → Targeted therapy

**Le NGS a-t-il tué les  
cohortes ?**

JOURNÉE MARCHÉ 2019

# Les registres et cohortes n'ont pas dit leur dernier mot..

- Le 'sens' émerge d'études NON biaisées et les plus nombreuses possibles.
- Ce sont les outils – les seuls ! - pour 'corréler' une information génétique avec une expression clinique

# Exemple: Braf et Histiocytose

- 2010: Mise en évidence d'une mutation récurrente B RAF V600E dans l'histiocytose langerhansienne (n=61)
- De 2010 à 2016: valeur pronostique discutée / fréquence discutée / petits effectifs

315 pts

Non biaisés  
Vs 1800 pts

## *BRAF* Mutation Correlates With High-Risk Langerhans Cell Histiocytosis and Increased Resistance to First-Line Therapy

Sébastien Héritier, Jean-François Emile, Mohamed-Aziz Barkaoui, Caroline Thomas, Sylvie Fraitag, Sabah Boudjemaa, Florence Renaud, Anne Moreau, Michel Peuchmaur, Catherine Chassagne-Clément, Frédérique Dijoud, Valérie Rigau, Despina Moshous, Anne Lambilliotte, Françoise Mazingue, Kamila Kebaili, Jean Miron, Eric Jeziorski, Geneviève Plat, Nathalie Aladjidi, Alina Ferster, Hélène Pacquement, Claire Galambrun, Laurence Brugières, Guy Leverger, Ludovic Mansuy, Catherine Paillard, Anne Deville, Corinne Armari-Alla, Anne Lutun, Marion Gillibert-Yvert, Jean-Louis Stephan, Fleur Cohen-Aubart, Julien Haroche, Isabelle Pellier, Frédéric Millot, Brigitte Lescoeur, Virginie Gandemer, Christine Bodemer, Roger Lacave, Zofia Hélias-Rodzewicz, Valérie Taly, Frédéric Geissmann, and Jean Donadieu

\*55 % des LCH chez l'enfant *BRAF*<sup>V600E</sup>

\* *BRAF*<sup>V600E</sup> associé à une LCH de haut risque

Age < 1 an

Organes à risque

Etat réfractaire

100% Braf si  
Hémato+Peau

\* *BRAF*<sup>V600E</sup> associé à une inflammation

• *BRAF*<sup>V600E</sup> associé aux séquelles

**Buenos aires/ 25 janvier 2019 .... Un mail**



### **Congenital LCH consultation**

female full-term newborn that at birth presents multiple hemorrhagic papules distributed in whole body. **A skin biopsy was performed and diagnosis LCH** was done with CD1a positive in infiltrate of histiocytic cells. No bone lesions were found

**At birth presented normal blood count, but them bicytopenia appears few days after, requiring transfusions of Red Cells and Platelets Concentrate.**

The patient has **hepatomegaly** and it was confirmed by abdominal ultrasound

A Chest CT revealed multiple cystic images in pulmonary parenchyma.

It started with treatment with Intravenous Dexamethasone on January 21th (equivalent dose to Prednisone 40mg/m<sup>2</sup>)

From the clinical aspects the patient was assisted at birth with mechanical ventilation.

**B RAF non faisable....**

-> Recos: ANTI BRAF / ZELBORAF



Janvier 2019



Juin 2019





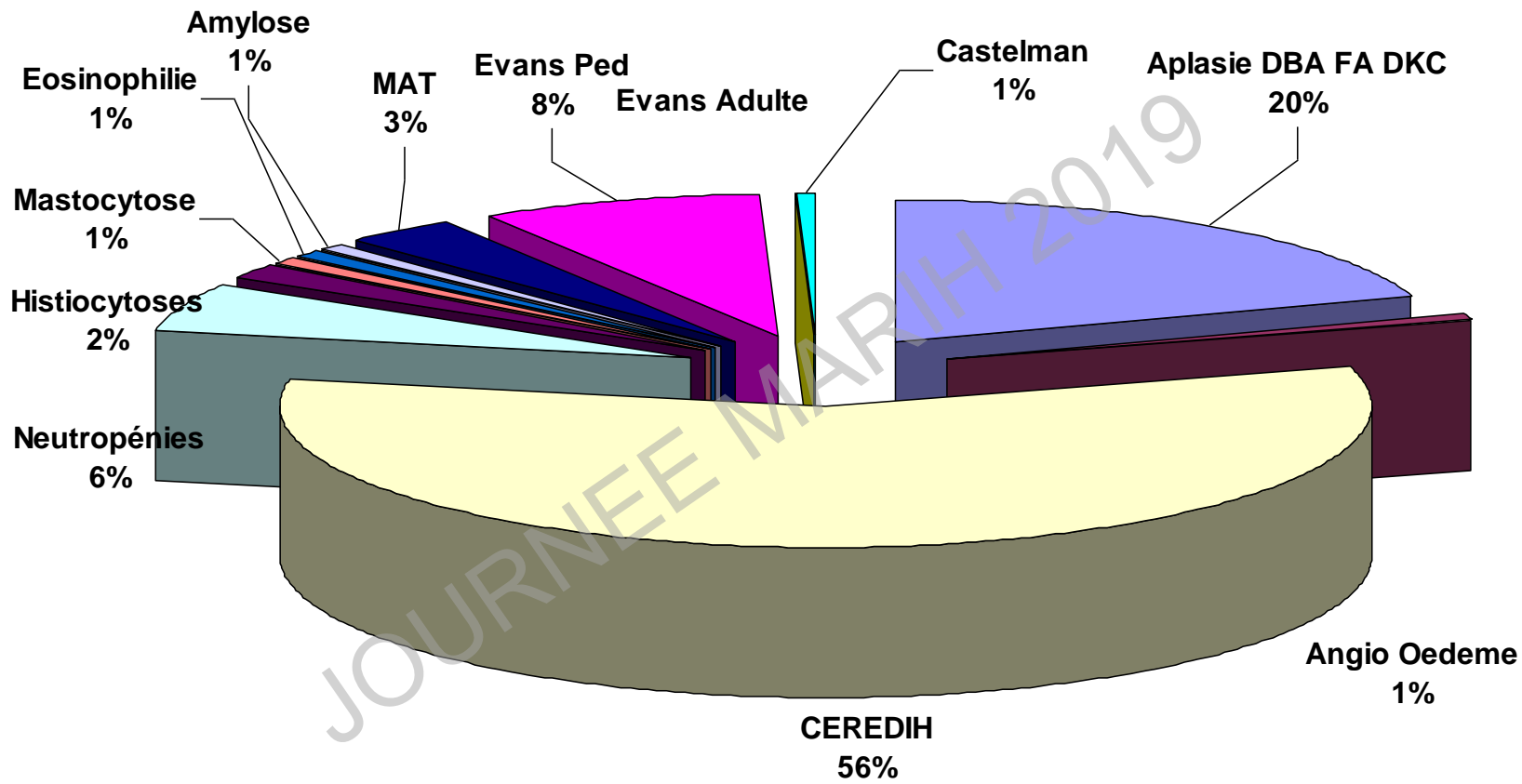
# Génétique et MARIH

- La Génétique: une couche de savoir en plus de l'expertise clinique
- Approfondir la coopération entre Labos !
- Approfondir les liens LABO – Registre

# Les devises Shadok



IL VAUT MIEUX POMPER MÊME S'IL NE SE PASSE  
RIEN QUE RISQUER QU'IL SE PASSE QUELQUE CHOSE  
DE PIRE EN NE POMPANT PAS.



Toutes les équipes peuvent faire  
toutes les analyses ?

JOURNÉE MARIH 2019

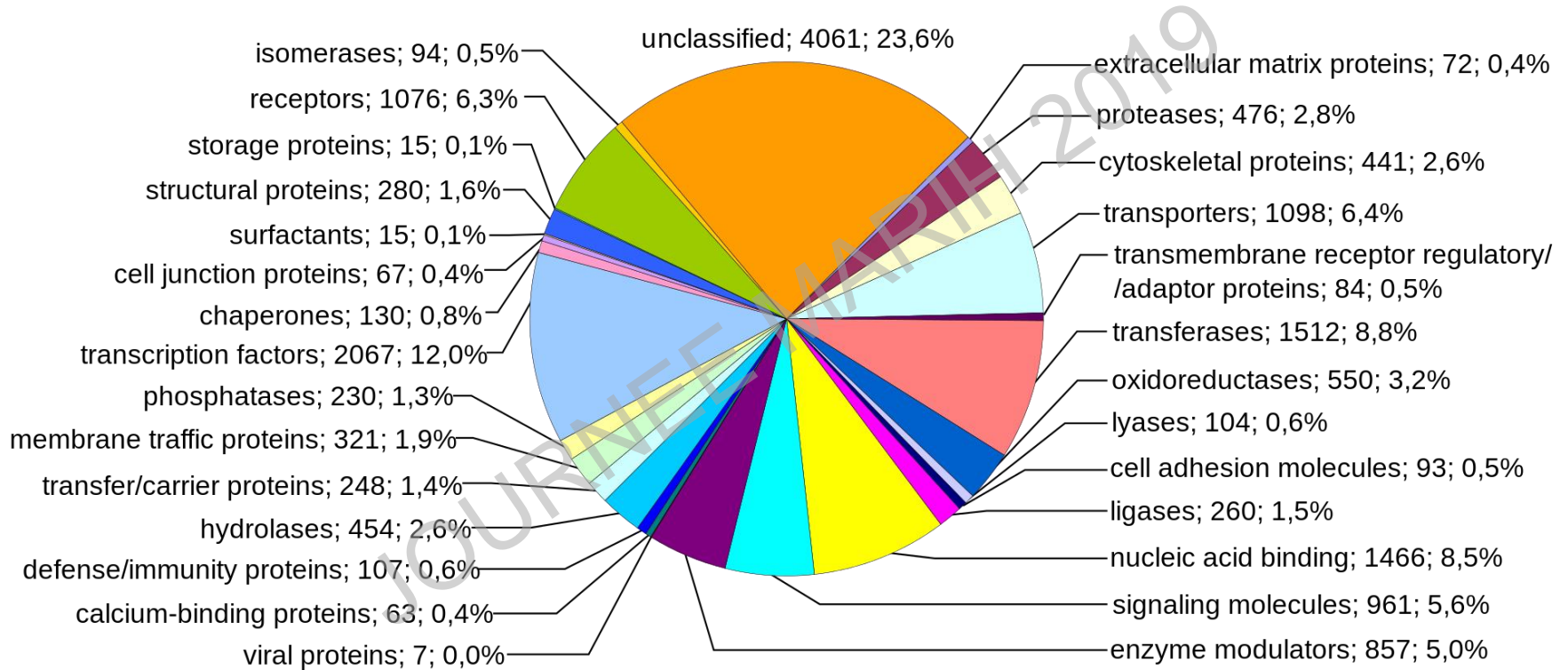
# Big NGS big Data ?

JOURNEE MARIH 2019

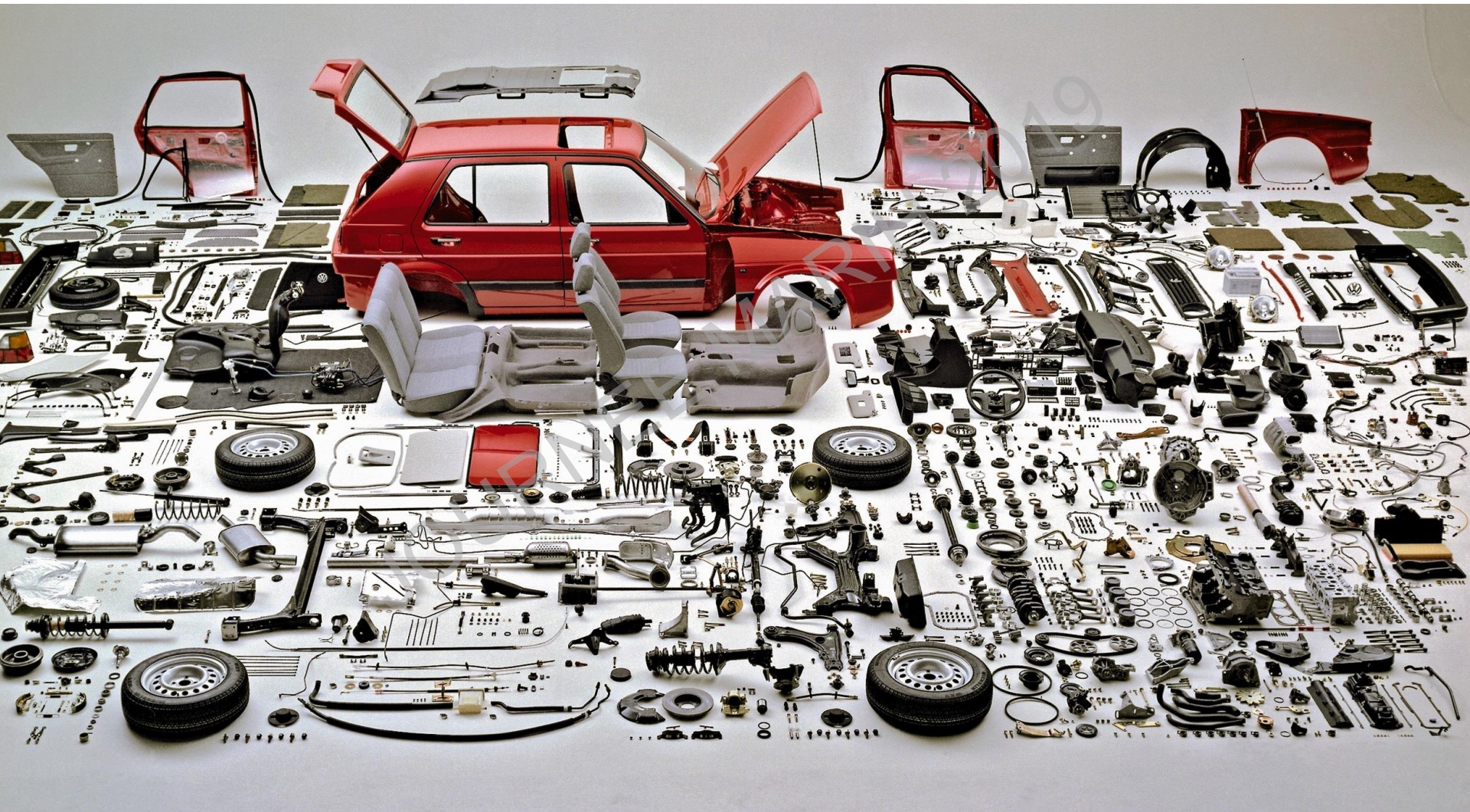
# Quelles portes d'entrée ?

- Des labo spécialisés sur prolifération 'cancéreuse'
- Des labo spécialisés par pathologie
- Filtres d'entrée + ou - larges

# Human genome: 21 000 genes

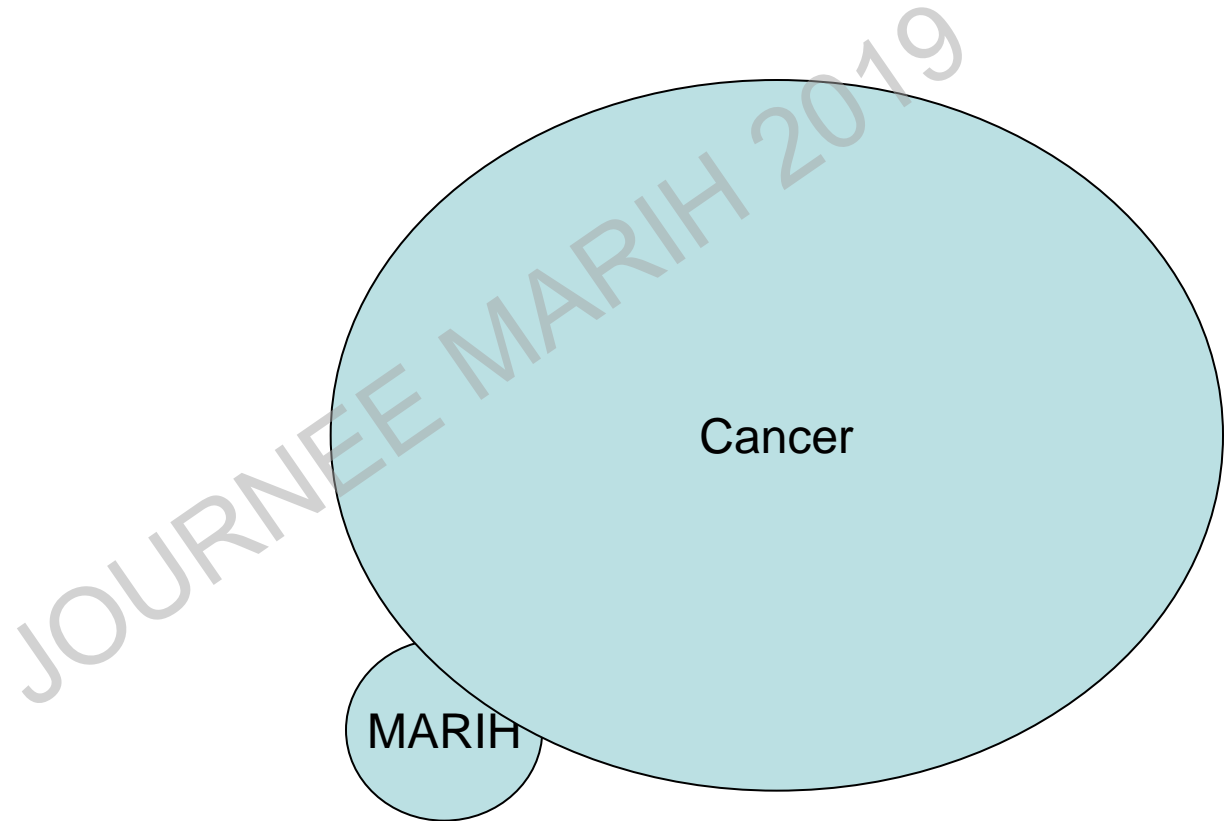








# Le domaine de l'immuno hémato (MARIH).....



# Le domaine de l'immuno hémato (Euro Blood net)....

- Environ 1000 pathologies
  - Une majorité d'origine génétique
  - Une très grosse minorité acquise
- Mais toujours complexes...

JOURNEE MARIE 2019

# Le targeted NGS a-t-il tué l'expertise clinique

Le targeted NGS a-t-il tué l'expertise clinique

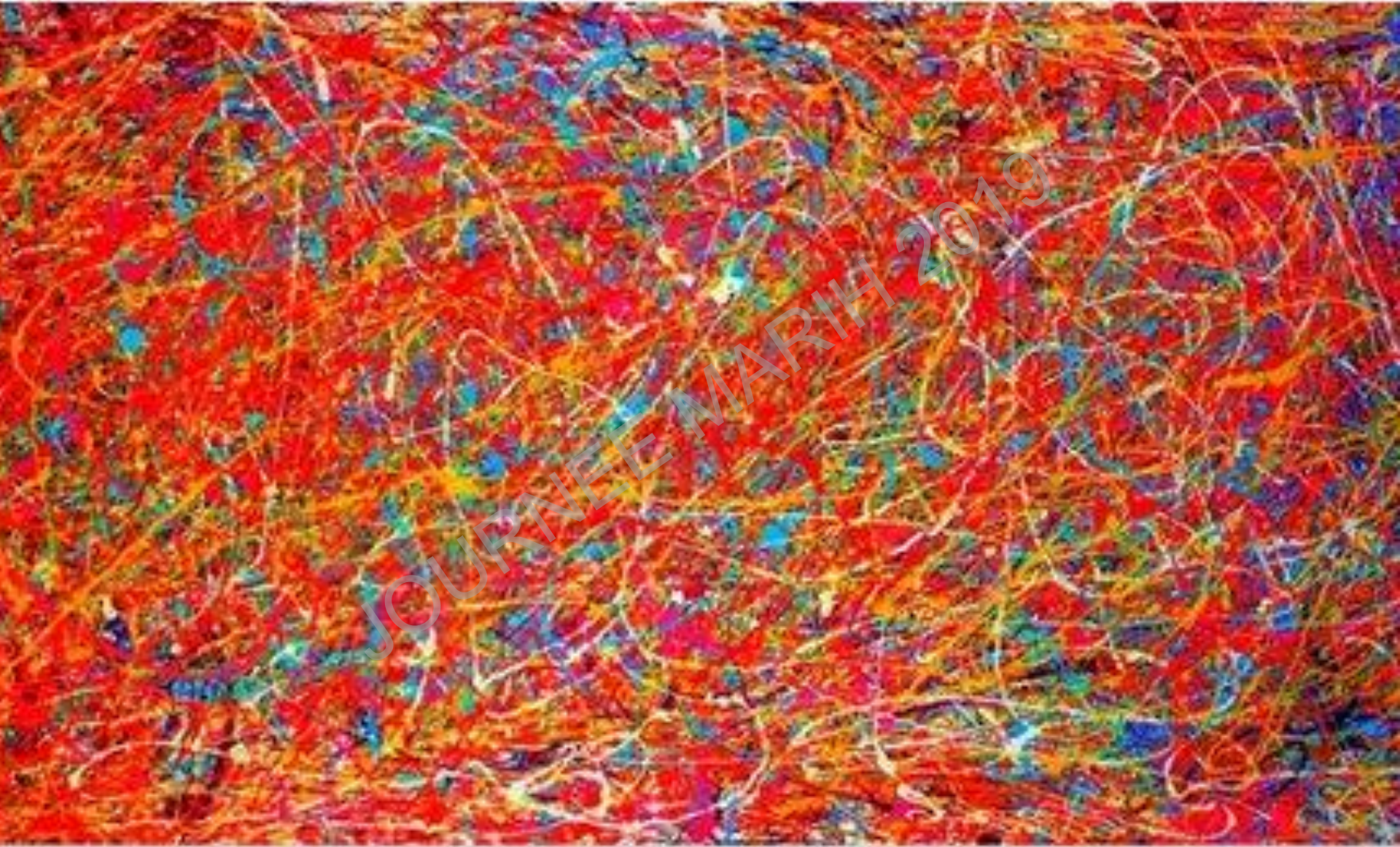
JOURNÉE MARIH 2019

# WHOLE exome vs targeted NGS ?

- WHOLE exome vs targeted NGS ?

JOURNEE MARIH 2019

# LE CHAOS.....





# Classification VERTICALE 1 maladie 1 phénotype 1 gène

JOURNÉE MARIH 2019



# La classification des maladies au défi de la Génétique haut débit?

- Le NGS a-t-il tué l'expertise clinique ?
- Le NGS a-t-il tué les bases de données ?

JOURNÉE MAPIH 2019