

Systematic Screening of ADTKD-*MUC1* 27dupC Pathogenic Variant through Exome Sequencing

Ilias Bensouna, Thomas Robert, Xavier Vanhoye, Marine Dancer, Laure Raymond, Pierre Delaugère, Pascale Hilbert, Hugues Richard, Laurent Mesnard

J Am Soc Nephrol. 2024 Sep 26. doi: 10.1681/ASN.0000000503.

Publication :

https://journals.lww.com/jasn/abstract/9900/systematic_screening_of_adtkd_muc1_27dupc.426.aspx

PMID: 39325540 - DOI: 10.1681/ASN.0000000503

Mots-clés : Néphropathie tubulointerstitielle autosomique dominante - Néphrogénétique – Maladie rénale chronique

Introduction

Bien que les méthodes de séquençage de nouvelle génération (NGS) permettent une analyse pangénomique des patients pour lesquels une origine génétique de leur néphropathie est suspectée, certaines limitations persistent, notamment dans l'analyse de régions hautement répétées.

MUC1 est l'un des gènes responsables de la néphropathie tubulointerstitielle autosomique dominante (NTIAD). Il est difficilement résolu par les méthodes classiques d'analyse en NGS qui reposent sur l'alignement de lectures courtes sur un génome de référence en raison de la présence d'un variable number tandem repeat (VNTR). La variation pathogène rencontrée dans plus de 80% des cas est la variation « 27dupC », qui se situe au sein de ce VNTR.

Dans cette étude est proposé un pipeline reposant sur un outil utilisant l'approche k-mer permettant d'identifier le variant 27dupC de la région du VNTR codant du gène *MUC1*, adapté au séquençage d'exome (qui sauf exception n'est classiquement pas en mesure de détecter les variations pathogènes dans le gène *MUC1* en raison du VNTR).

Méthodes

2 outils sont utilisés : Shark® qui cible la région du gène *MUC1*, permettant ainsi de réduire le temps de traitement des données, et VNtyper® utilisant l'approche k-mers pour l'appel de variant. Ces outils avaient vocation à être validés puis utilisés sur des données d'exome, avec une profondeur de lecture moyenne de 80X.

Les performances du pipeline SharkVNTyper pour la détection de la 27dupC ont d'abord été évalués sur 33 échantillons contrôle positifs (pour lesquels une Snapshot PCR ciblant spécifiquement la 27dupC, méthode de référence pour ce variant qui repose sur la présence d'un site de restriction spécifique à cette position, avait déjà mis en évidence la présence de ce variant), et 54 échantillons contrôle négatifs (pour lesquels la Snapshot PCR est négative).

Après validation, SharkVNTyper a été utilisé :

- Rétrospectivement sur 3512 patients adultes pour lesquels un exome a été prescrit pour néphropathie indéterminée entre janvier 2019 et octobre 2023 avec suspicion d'origine génétique (âge < 45 ans, antécédents familiaux, atteinte multikystique ou syndromique)
- Puis prospectivement entre octobre et décembre 2023 sur 825 patients supplémentaires.

La Snapshot PCR ciblant spécifiquement la 27dupC a servi de méthode confirmatoire.

Résultats

SharkVNTyper retrouve la présence du variant chez 32/33 contrôles positifs (sensibilité de 97%). Aucun variant n'a été détecté chez les 54 contrôles négatifs (spécificité de 100%).

L'application de Shark a réduit le temps de calcul par échantillon de 10 heures en moyenne lorsque VNTyper était utilisé seul, et à moins de 10 minutes en utilisant le pipeline complet SharkVNTyper.

Sur les 4337 patients de la cohorte rétrospective et prospective, SharkVNTyper a détecté un variant frameshift chez 36 patients pour lesquels nous n'avions pas encore de diagnostic moléculaire. La présence de la 27dupC a été confirmée par Snapshot PCR chez 30 de ces patients, permettant d'établir un diagnostic de NTIAD-*MUC1* encore méconnu chez eux.

En considérant que l'ensemble des patients avec une Snapshot PCR confirmatoire négative sont bien des faux positifs de SharkVNTyper, l'évaluation la plus péjorative du nombre de faux positifs parmi les 36 échantillons positifs mène à une valeur prédictive positive de l'outil de 83%.

Parmi les patients pour lesquels le variant 27dupC a été mis en évidence, 35 patients dont 24 cas index suivis à Sorbonne Université à Paris ou à l'Hôpital de la Conception à Marseille ont constitué une cohorte permettant une description phénotypique de la NTIAD-*MUC1*. L'âge médian de survenue d'insuffisance rénale chronique terminale était de 51 ans [40 – 68]. 38% présentaient une multikystose bilatérale, 8% un antécédent de crise de goutte avant l'âge de 45 ans, et 58% une hypertension artérielle. 88% des patients ont rapporté au moins un antécédent familial au premier degré de maladie rénale chronique.

Certains patients présentaient des atypies dans leur phénotype. En effet, parmi les 24 cas index, seuls 14 patients étaient initialement suspectés d'avoir une NTIAD. Seuls 6/10 patients avec une ponction biopsie rénale avaient des lésions tubulointerstitielles.

De plus, 4/24 patients avaient un deuxième variant pathogène dans un autre gène, expliquant un phénotype complexe associant deux néphropathies familiales chez 2/24 patients (*PDK1*, *COL4A3*), ou d'intérêt pour le conseil génétique chez 2/24 patients (*BRCA1*, *CFTR*).

Points forts

- Outil validé pour l'utilisation en routine, intégré dans l'analyse diagnostique en NGS sans utilisation de technique complémentaire.
- Analyse en partie prospective, sur une large cohorte de patients.
- Etude démontrant la diversité phénotypique des patients atteints de NTIAD.

Points faibles

- Outil validé uniquement pour la détection du variant 27dupC du gène *MUC1*.
- Petite perte de sensibilité en utilisant Shark + VNType, potentiellement due à la grande variabilité des motifs au sein du VNTR, et motivant l'actualisation au fur et à mesure du dictionnaire de motifs utilisé par Shark.
- Outil SharkVNType non validé pour utilisation à partir de données de génomes avec une profondeur de 30X.

Conclusion

SharkVNType constitue un outil bioinformatique qui permet de mettre en évidence la présence du variant pathogène 27dupC, décrit dans plus de 80% des cas de NTIAD associée à *MUC1*, sans avoir recours à l'alignement des lectures, en se basant sur le profil de distribution des k-mers.

Cet outil permet de réaliser sur des données de séquençage d'exome à la fois une recherche systématique rétrospective du variant à grande échelle, ainsi qu'un dépistage prospectif également systématique sans réalisation d'une technique supplémentaire, ouvrant de nouvelles perspectives dans l'identification des patients porteur de variants dans le gène *MUC1*.

Ilias Bensouna pour la commission de Néphrologie Clinique de la SFNDT