

UNIVERSITE LILLE 2 DROIT ET SANTE
FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG

Année : 2016

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Contribution des gènes *AXIN2*, *POLE*, *POLD1*, *GREM1* et *NTHL1* dans
les suspicions de prédisposition au cancer colorectal**

Présentée et soutenue publiquement le 4 octobre 2016 à 18h
au Pôle Formation

Par Afane BRAHIMI

JURY

Président :

Madame le Professeur Sylvie MANOUVRIER

Assesseurs :

Madame le Professeur Nicole PORCHET

Madame le Docteur Sophie LEJEUNE

Directeur de Thèse :

Madame le Professeur Marie-Pierre BUISINE

Avertissement

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
BER	Base-excision repair = réparation par excision de bases
CGHarray	Comparative genomic hybridization array = puce d'hybridation génomique comparative
CCR	Cancer Colorectal
HAS	Haute Autorité de Santé
INCa	Institut national du cancer
kb	Kilobase = 1 000 bases
Mb	Mégabase = 1 000 000 bases
MMR	MisMatch-Repair = réparation des mésappariements
MAP	<i>MUTYH</i> -related adenomatous polyposis = polypose liée à <i>MUTYH</i>
NMD	Nonsense-mediated decay
PAF	Polypose adénomateuse familiale
PCR	Polymerase Chain Reaction

Table des matières

Abréviations

Table des matières

Résumé

Introduction.....	1
I. Généralités sur le cancer colorectal.....	2
II. Prédisposition monogénique au cancer colorectal.....	4
III. Nouveaux gènes de prédisposition au cancer colorectal.....	9
IV. Objectif du travail.....	14
Matériels et méthodes.....	15
I. Choix des patients.....	15
II. Analyses moléculaires.....	17
A. <i>POLE</i> et <i>POLD1</i>	17
B. <i>AXIN2</i>	20
C. <i>GREM1</i>	21
D. <i>NTHL1</i>	23
Résultats.....	24
I. Analyse des gènes <i>POLE</i> et <i>POLD1</i>	24
II. Analyse du gène <i>AXIN2</i>	26
III. Recherche de la duplication récurrente de <i>GREM1</i>	27
IV. Analyse du gène <i>NTHL1</i>	28

Discussion.....	31
I. Patient P08.14.....	31
II. Patients mutés <i>POLE</i> identifiés à Lille.....	34
III. Contribution globale des nouveaux gènes.....	36
IV. Interprétation des VSI.....	38
V. Part génétique non expliquée.....	40
Conclusion.....	41

Références bibliographiques

Annexe 1 : Stratégie diagnostic du syndrome de Lynch

Annexe 2 : Indications d'analyse du gène *MUTYH*

Résumé

Contexte : L'identification de prédisposition génétique au cancer colorectal (CCR) chez un patient permet de lui proposer une surveillance adaptée, ainsi qu'à ses apparentés. De nombreux cas où une prédisposition est suspectée restent non élucidés après la recherche des syndromes de prédisposition les plus fréquents. Récemment, il a été décrit de nouveaux gènes de prédisposition au CCR, mais leur contribution n'est pas connue.

Méthode : Les analyses suivantes ont été réalisées chez des patients adressés pour suspicion de prédisposition au CCR pour lesquelles les analyses de routine étaient négatives : recherche des mutations récurrentes de *NTHL1*, *POLE* et *POLD1*, recherche de la duplication récurrente de *GREM1*, recherche de mutations du gène *AXIN2*.

Résultats : Deux mutations délétères de *NTHL1* ont été mises en évidence chez un sujet porteur de polypose adénomateuse, ce qui est compatible avec le mode de transmission autosomique récessif de cette prédisposition. Aucune mutation des autres gènes n'a été mise en évidence.

Conclusion : Les nouveaux gènes de prédisposition ont une contribution probablement modérée, mais il est important de les rechercher. Une stratégie de séquençage en panel pourrait avoir un intérêt.

INTRODUCTION

Le cancer est une maladie liée à l'altération du programme génétique d'une cellule. Ces altérations peuvent être liées à des modifications génétiques (mutations ponctuelles, réarrangements géniques...) ou épigénétiques (méthylation de l'ADN, modifications des histones...) (1). Elles ont pour conséquence l'acquisition de plusieurs propriétés comme un potentiel de réplication illimité, la stimulation de l'angiogénèse, l'échappement à l'apoptose et le potentiel d'envahissement des tissus environnants (1). Ces modifications sont rendus possibles notamment par l'apparition dans ces cellules d'une instabilité génétique, en raison de l'inactivation de systèmes de réparation de l'ADN (1).

Le cancer est une maladie d'origine multifactorielle, dans la majorité des cas, il est de survenue sporadique avec une contribution génétique faible (2). Dans certains cas, des facteurs génétiques de susceptibilité de faible pénétrance contribuent à leur survenue. Dans environ 5 % des cas, il existe une prédisposition génétique monogénique de forte pénétrance. Il est alors important d'identifier cette prédisposition afin d'adapter la surveillance du patient et de proposer un conseil génétique aux apparentés.

I. Généralités sur le cancer colorectal

A. Épidémiologie

Le cancer du colorectal (CCR) est le troisième en terme d'incidence en France, avec 42 152 nouveaux cas diagnostiqués en 2012. Il est au deuxième rang en terme de mortalité, avec 17 722 décès. L'âge moyen au diagnostic est de 70 ans pour les hommes et de 73 ans pour femmes (3). Le type histologique le plus fréquent est l'adénocarcinome liberkühnien. Cette pathologie évolue souvent de manière asymptomatique pendant plusieurs années ce qui conduit à des diagnostics tardifs, parfois au stade métastatique, associés à une mortalité élevée (4).

B. Carcinogénèse

La transformation d'un épithélium colique sain en adénocarcinome est un processus long et nécessitant la survenue successive de plusieurs événements. Dans la population générale, la séquence adénome→adénocarcinome dure environ 8 à 9 ans. Ces événements surviennent du fait d'une instabilité génétique. Le mécanisme le plus fréquent est dit CIN pour Chromosomal INstability (5) : les premières étapes impliquent une activation constitutive de la voie Wnt, par inactivation bi-allélique du gène suppresseur de tumeur *APC*. puis activation de la voie RAS/MAP-kinase par activation d'un proto-oncogène de cette voie, le plus souvent *KRAS*. L'inactivation du gène *TP53*, « gardien du génome », est un événement tardif.

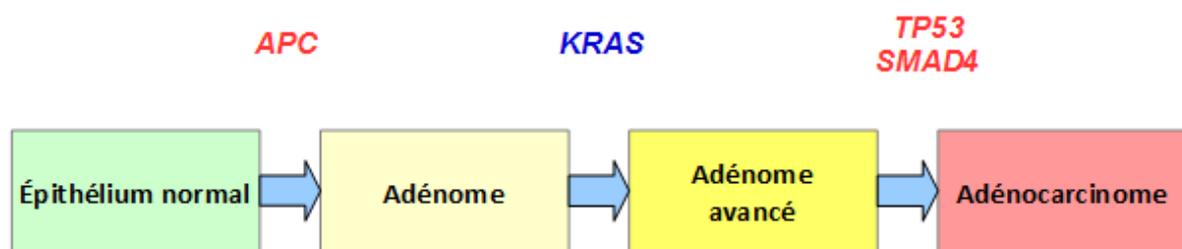


Figure 1 : Cancérogénèse via la voie CIN. D'après Grady, *et al.* (5)

C. Prévention du cancer colorectal

Un dépistage est proposé dans la population générale à partir de 50 ans par recherche de traces de sang dans les selles, à renouveler tous les 2 ans (6). Bien que ce dépistage ait prouvé son efficacité en terme de diminution de la mortalité, il n'est pas adapté aux populations à risque élevé ou très élevé de cancer car sa sensibilité est insuffisante (7).

Pour les populations à risque élevé de cancer colorectal, telles que définies par la Haute Autorité de Santé dans ses recommandations de juin 2013, une surveillance par coloscopie est indiquée tous les 5 ans (6). C'est par exemple le cas des personnes ayant un antécédent familial au 1^e degré de cancer colorectal avant l'âge de 65 ans. La surveillance doit être débutée à partir de l'âge de 45 ans ou 5 ans avant l'âge du diagnostic du cas index familial. Cette surveillance permet la détection et l'ablation des adénomes avant leur transformation en carcinome (8). Cependant, la coloscopie est un examen réalisé sous anesthésie générale et comporte des risques notamment de perforation (9). Il est donc nécessaire de restreindre cette surveillance uniquement aux situations où elle est justifiée.

Pour les populations à risque très élevé, ce qui concerne principalement celles où une prédisposition génétique de forte pénétrance est identifiée, la surveillance par coloscopie tous les 5 ans est elle aussi insuffisante. En effet, dans ces prédispositions, la carcinogénèse peut être plus rapide, conduisant à un risque élevé de cancer d'intervalle (10) ou le nombre d'adénomes peut être trop important pour permettre une ablation endoscopique (11). Dans ces situations, une prise en charge spécifique est proposée, basée par exemple sur des coloscopies avec chromo-endoscopie à un rythme plus fréquent (10), voire une colectomie prophylactique (11).

II. Prédisposition monogénique au cancer colorectal

A. Syndrome de Lynch

Le syndrome de Lynch est le plus fréquent des syndromes de prédisposition au cancer colorectal, avec une prévalence estimée comprise entre 1/660 et 1/2000 (12). Il est responsable de 1 à 6 % des cancers colorectaux (12,13). Il est associé à d'autres risques tumoraux, en particulier le cancer de l'endomètre, mais aussi d'autres cancers plus rares comme ceux des voies urinaires et biliaires. Il s'agit d'un syndrome sans polypose.

Le syndrome de Lynch est de transmission autosomique dominante, il est lié aux mutations inactivant l'un des 4 gènes indispensables au fonctionnement du système MMR : *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* et *PMS2* (14). Le système MMR intervient notamment dans la correction des erreurs de réplication de l'ADN en détectant et corrigeant les mésappariements des brins de la double-hélice qui résultent de ces erreurs (14).

Le diagnostic de syndrome de Lynch reposait à l'origine sur des critères cliniques, les critères d'Amsterdam : au moins trois membres de la famille atteints de cancer du spectre, dont un apparenté au premier degré par rapport aux autres, deux générations atteintes, un des cancers diagnostiqué avant l'âge de 50 ans et absence de polypose colique dans la famille. Cependant, ces critères sont peu sensibles car moins de la moitié des familles où un syndrome de Lynch est confirmé sur le plan moléculaire remplissent ces critères (15).

Les analyses somatiques réalisées sur les tumeurs des patients sont à l'heure actuelle au premier plan dans le diagnostic de syndrome de Lynch (Voir Annexe 1). Les microsatellites sont des séquences répétées pour lesquelles l'ADN polymérase a tendance à « déraper », augmentant ou diminuant le nombre de répétitions. Dans une cellule où le système MMR fonctionne, ces erreurs sont corrigées. En revanche, dans les tumeurs liées au syndrome de Lynch, on observe une instabilité des microsatellites du fait de l'absence de correction de ces erreurs (16). Une analyse immuno-histochimique peut également être réalisée pour vérifier l'expression des

protéines MMR au niveau tumoral. L'absence de perte d'expression combinée à une absence d'instabilité des microsatellites permet d'exclure un syndrome de Lynch avec une sensibilité très élevée (17).

La surveillance des patients atteints de syndrome de Lynch repose sur la coloscopie avec chromo-endoscopie tous les 2 ans. En effet, l'utilisation d'une coloration lors de la coloscopie permet la détection d'un plus grand nombre de polypes, en particulier, les polypes plans (18).

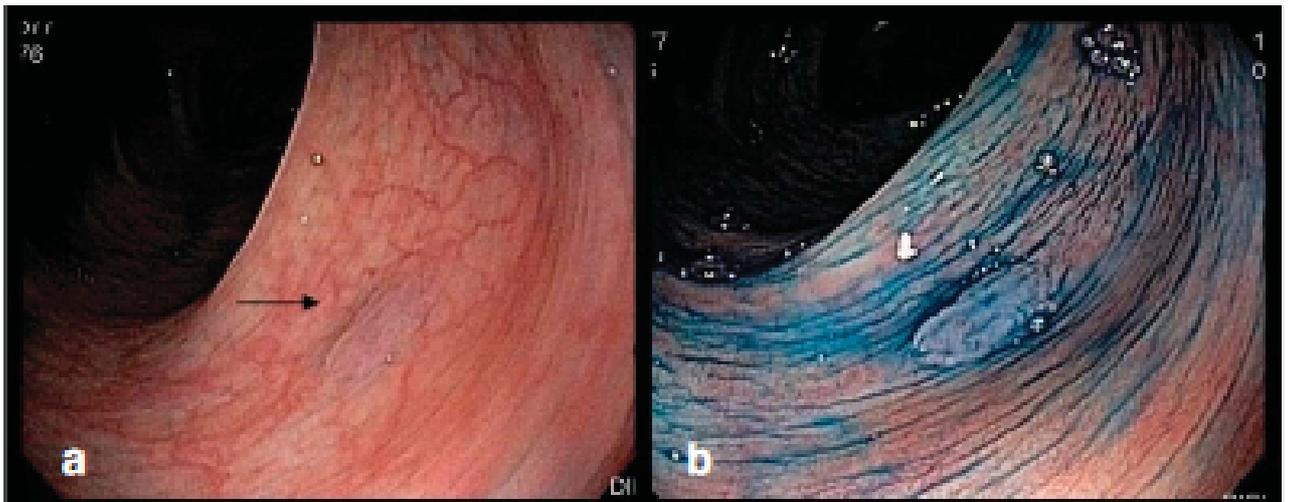


Figure 2 : Exemple d'un adénome chez un sujet atteint de syndrome de Lynch peu visible en coloscopie classique (a), dont la visibilité est nettement augmentée après utilisation d'indigo carmin (b) D'après Rahmi *et al*, 2007 (18)

B. Polypose Adénomateuse Familiale (PAF)

Dans sa forme classique, la Polypose Adénomateuse Familiale est un syndrome de prédisposition au cancer colorectal lié au développement de centaines de polypes coliques adénomateux, qui commencent à apparaître autour de l'adolescence (19). En l'absence de prise en charge, l'évolution vers le cancer colorectal est certaine. La prévalence de ce syndrome est d'environ 1/10 000 (19). Il peut également exister des formes atténuées, avec un nombre d'adénomes compris entre 10 et 100.

Le nombre d'adénomes rend la surveillance coloscopique rapidement insuffisante dans la forme classique car elle ne permet pas l'ablation de toutes les

lésions. Il est donc recommandé de recourir à la colectomie prophylactique afin de diminuer le risque lié au cancer colorectal (11).

La PAF est liée à des mutations du gène *APC*. Il s'agit d'un syndrome de transmission autosomique dominante avec un taux élevé de mutation *de novo*, d'environ 25 % (20). *APC* est un gène suppresseur de tumeur qui code une protéine dont l'un des nombreux rôles est d'inhiber la voie Wnt en favorisant la dégradation de la β -caténine. Chez les sujets porteurs d'une mutation constitutionnelle d'*APC*, la perte de l'allèle normal de ce gène dans des cellules coliques conduit à l'activation constitutive de la voie Wnt et donc au développement de nombreux adénomes.

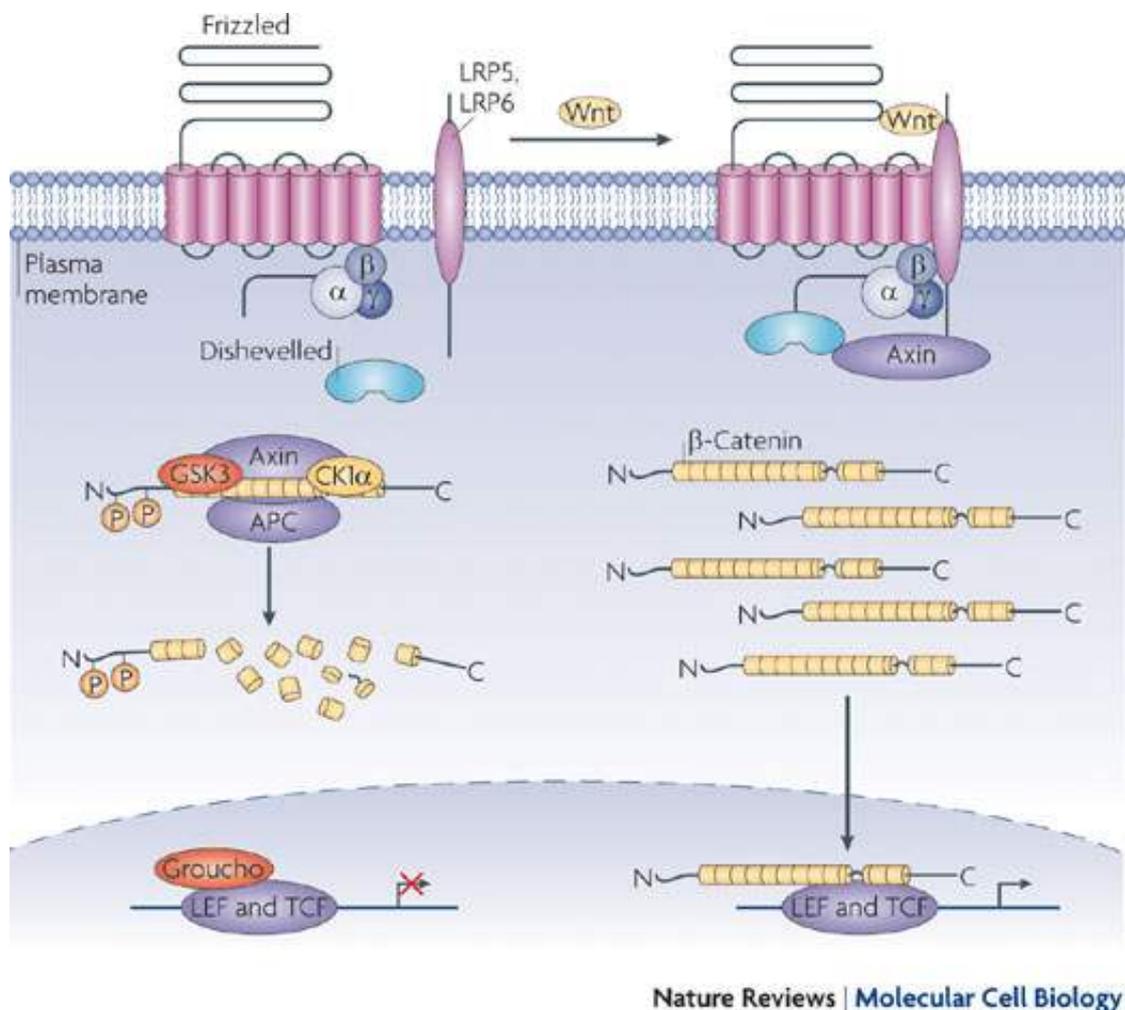


Figure 3 : Voie Wnt inactivée à gauche : la β -caténine est phosphorylée puis dégradée par le complexe qui comprend les protéines APC et AXIN. Voie Wnt activée à droite : la fixation du ligand Wnt entraîne un recrutement de protéines à la membrane qui empêche la formation du complexe de dégradation de la β -caténine. Cette protéine s'accumule et migre dans le noyau où elle permet la transcription de gènes, jouant notamment un rôle dans la prolifération cellulaire. D'après Angers *et al*, 2009 (21)

C. Polypose Adénomateuse liée à *MUTYH* (MAP)

La polypose adénomateuse liée à *MUTYH* est un syndrome de prédisposition au cancer colorectal lié au développement d'un nombre d'adénomes moins important que dans la PAF classique, souvent compris entre 10 et 100, avec en règle générale plus de 10 adénomes avant 60 ans (22). Des critères d'indication d'analyse à la recherche de ce syndrome en fonction de l'âge, du nombre d'adénomes et de la survenue d'un cancer colorectal ont été établis (Voir Annexe 2).

Il est recommandé chez les porteurs de mutations bi-alléliques de *MUTYH* de réaliser une coloscopie avec chromo-endoscopie à l'indigo carmin à 20 ans, à répéter à 25 et 30 ans si ces premières coloscopies sont normales, puis tous les 2 ans à partir de 30 ans (23). En cas de cancer colorectal, une colectomie complète est recommandée d'emblée, avec préservation du rectum si cela est possible (23).

Il s'agit d'une prédisposition de transmission autosomique récessive liée à des mutations perte de fonction du gène *MUTYH* qui code une protéine impliquée dans la réparation par excision de bases de l'ADN en détectant les adénines qui sont anormalement appariées aux 8-oxo-guanines. La perte de cette fonction entraîne donc la survenue de mutations G:C>T:A, responsable d'une instabilité génétique favorisant la survenue d'adénomes (24).

D. Autres prédispositions

D'autres syndromes de prédispositions au cancer colorectal ont été décrits, comme la polypose juvénile (25), le syndrome de Peutz-Jeghers (26) et le syndrome de Cowden (27). Il s'agit de syndromes avec des présentations spécifiques, notamment le développement de polypes d'histologie particulière et des signes extra-digestifs.

En cas de suspicion de prédisposition au cancer colorectal dans une famille, ces prédispositions ne sont recherchées que dans les cas où des signes spécifiques sont évocateurs, comme la présence de lentigines péribuccales et de polypes d'histologie caractéristique pour le syndrome de Peutz-Jeghers, ou une macrocéphalie et de signes cutanés pour la maladie de Cowden.

III. Nouveaux gènes de prédisposition au cancer colorectal

A. *POLE* et *POLD1*

En 2013, Palles *et al* (28) utilisent une stratégie de séquençage complet du génome de 15 familles suspectes de prédisposition au cancer colorectal pour lesquelles les analyses des gènes *MMR*, *MUTYH* et *APC* n'avaient pas mis en évidence de mutation délétère. Il était mis en évidence la mutation c.1270C>G (p.Leu424Val) du gène *POLE* (NM_006231) dans une famille et la mutation c.1433G>A (p.Ser478Asn) de *POLD1* (NM_002691) dans 2 familles. Ces mutations étaient ensuite recherchées dans une cohorte de 3805 patients ayant présenté un cancer colorectal, enrichie en formes précoces, familiales ou accompagnées d'adénomes multiples. Les mutations étaient identifiées dans 12 familles supplémentaires pour *POLE* et 1 famille supplémentaire pour *POLD1*.

Les présentations familiales des sujets porteurs d'une mutation étaient évocatrices d'une prédisposition de transmission autosomique dominante. La plupart des sujets porteurs présentaient des adénomes coliques, mais leur nombre était variable, allant de 4 après 60 ans à plusieurs dizaines avant 40 ans. Les cancers colorectaux étaient fréquents, parfois multiples chez le même individu. Plusieurs cas de cancers colorectaux extrêmement précoces, avant 30 ans, étaient rapportés. Dans quelques familles étaient rapportés des cas de tumeurs extra-coliques, en particulier des astrocytomes et des cancers de l'endomètre. Il était également décrit plusieurs cas de cancers présentant une instabilité microstellaire (29). Cette instabilité résultait de mutations somatiques bialléliques des gènes du système *MMR*. Les mutations des gènes *POLE* et *POLD1* constituent donc un diagnostic différentiel du syndrome de Lynch.

POLE code la sous-unité catalytique de l'ADN polymérase Epsilon, dont le rôle est de synthétiser le brin précoce d'ADN lors de la réplication. *POLD1* code la sous-unité catalytique de l'ADN polymérase Delta, qui a le même rôle pour le brin tardif. La structure des protéines *POLE* et *POLD1* est très proche : elles comportent un

domaine en "paume" qui fixe le brin d'ADN matrice, 4 "doigts" qui permettent l'incorporation d'un nucléotide sur le brin néosynthétisé quand il est complémentaire du nucléotide du brin matrice, 1 "pouce" qui permet l'avancement le long du brin matrice et un domaine exonucléase qui détecte les erreurs de réplication et les corrige (30).

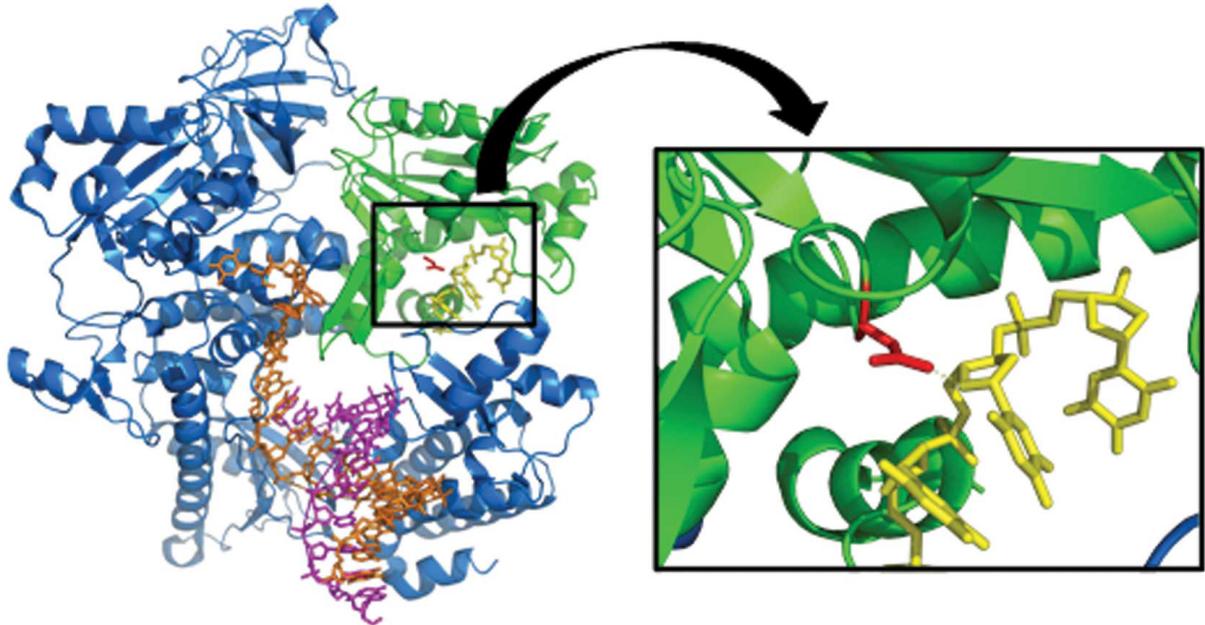


Figure 4 : Représentation de la polymérase ϵ en bleu. Le domaine exonucléase est en vert. L'ADN double-brin qui sert de matrice à la réplication est en orange et violet. Le brin néosynthétisé est en jaune. La Leucine en position 424 est représentée en rouge. Elle joue un rôle important dans l'interaction du domaine exonucléase avec le brin néosynthétisé. D'après Rohlin *et al*, 2014 (31)

Le taux d'erreur d'incorporation est faible, avec une erreur tous les 10^4 à 10^7 nucléotides, après action de l'endonucléase, le taux résiduel d'erreur est de l'ordre d'une tous les 10^6 à 10^{11} nucléotides (32). Ces erreurs résiduelles sont corrigées par le système MMR ce qui explique la très haute fidélité de réplication de l'ADN. Cependant, la perte de la fonction exonucléase entraîne une saturation du système MMR, ce qui favorise la survenue de mutations somatiques et donc de cancers.

B. AXIN2

En 2004, Lammi *et al* (33) ont décrit une famille où il était diagnostiqué chez 13 patients sur 4 générations des oligodonties, parfois sévères (8 à 29 dents définitives absentes). Chez 8 de ces patients étaient également diagnostiqués des cancers du côlon ou des polypes hyperplasiques ou adénomateux, avec jusque 68 adénomes

coliques pour l'un des sujets. Chez ces patients était mise en évidence par étude de liaison et séquençage des gènes d'un locus commun une mutation non sens du gène *AXIN2* (NM_004655) c.1966C>T (p.Arg656*). D'autres études ont confirmé le lien entre les mutations perte de fonction d'*AXIN2* et le phénotype associant une oligodontie et une prédisposition au cancer colorectal et parfois d'autres anomalies ectodermiques comme des cheveux et des sourcils épars (34,35).

De façon notable, il a été rapporté en 2014 une famille avec trois sujets présentant une polypose adénomateuse atténuée et/ou un cancer colorectal sans oligodontie ni anomalie ectodermique (36).

La prédisposition liée à *AXIN2* est donc de transmission autosomique dominante avec une pénétrance élevée, le phénotype associe une polypose adénomateuse atténuée et des cancers colorectaux, avec ou sans atteinte ectodermique.

AXIN2 est un gène suppresseur de tumeur qui code une protéine dont le rôle est d'inactiver la voie Wnt quand le récepteur transmembranaire de cette voie ne fixe pas son ligand (37). La protéine *AXIN2* participe alors, comme la protéine APC, au complexe qui dégrade la β -caténine (voir Figure 3). Dans l'épithélium colique normal des sujets porteurs d'une mutation d'*AXIN2*, la régulation de la voie Wnt est maintenue grâce à la présence d'un allèle normal mais la perte de fonction du deuxième allèle entraîne une activation constitutive de la voie, ce qui favorise la prolifération cellulaire.

C. Syndrome de polypose mixte héréditaire lié à *GREM1*

Il a été décrit chez plusieurs sujets d'origine juive ashkénaze un syndrome associant des lésions coliques d'histologie très variée : adénome classiques, polypes festonnés, polypes de type Peutz-Jeghers, polypes juvéniles et cancers colorectaux (38). Le nombre total de polypes est souvent faible, inférieur à 15. L'âge médian au diagnostic de cancer colorectal était de 47 ans, avec une grande variabilité (32 à 74 ans). Aucun signe extra-colique n'a été décrit.

Par étude de liaison, une région d'intérêt commune aux sujets atteints a été déterminée, d'une taille de 2,2 Mb, dont le séquençage n'a pas permis la mise en évidence de mutation délétère. Une CGH-array étudiant spécifiquement cette région a été créée afin de rechercher des réarrangements de grande taille de la région, permettant de mettre en évidence chez 40 sujets atteints une duplication de 40 kb en amont du gène *GREM1* et impliquant les exons 3 à 6 du gène *SCG5*. Cette duplication n'était pas présente chez 238 témoins juifs ashkénazes non atteints, dont 50 étaient apparentés aux patients positifs (39).

La duplication n'a pas de conséquence sur l'expression de *SCG5* mais elle entraîne une surexpression du gène *GREM1* dans l'épithélium colique, alors que l'expression normale de ce gène au niveau colique est restreinte aux myofibroblastes à la base des cryptes. *GREM1* code pour une protéine qui peut intervenir dans la voie BMP, qui a un rôle majeur dans la différenciation des cellules souches de la base des cryptes coliques en cellules matures de l'épithélium de surface du côlon. La surexpression de *GREM1* favorise la persistance du phénotype de cellule-souche des cellules épithéliales, ce qui leur donne un potentiel de division élevé.

D. *NTHL1*

En utilisant une stratégie de séquençage du génome complet dans 48 familles de polyposes adénomateuses non expliquées, Weren *et al* (40) ont identifié une mutation c.268C>T (p.Gln90*) homozygote du gène *NTHL1* (NM_002528) chez 7 sujets atteints de 3 familles. Leurs apparentés non atteints n'étaient pas porteurs de la mutation à l'état homozygote. Une 8^e patiente est décrite la même année par Rivera *et al* (41), celle-ci est hétérozygote composite et était porteuse, en plus de la mutation déjà décrite, de la mutation c.709+1G>A (p.?).

Les 8 patients présentaient tous une polypose adénomateuse atténuée avec un nombre d'adénomes compris entre 8 et 50. Cinq sujets ont présenté au moins un cancer colorectal entre 40 et 63 ans. Parmi les 4 femmes, 3 ont présenté un cancer de l'endomètre, la dernière une hyperplasie de l'endomètre. D'autres tumeurs étaient rapportées comme des carcinomes basocellulaires chez au moins 3 sujets, entre 52 et 63 ans, parfois multiples, des cancers du sein chez 2 sujets, un carcinome

urothélial de vessie à 47 ans, un carcinome duodénal à 52 ans, un carcinome épidermoïde du cou à 55 ans. La patiente décrite par Rivera *et al* a ainsi présenté 5 tumeurs malignes entre 41 et 58 ans.

Le phénotype associé à ces mutations est donc celui d'une polypose adénomateuse atténuée de transmission autosomique récessive avec un probable risque associé de tumeurs extradigestives.

Le gène *NTHL1* code une protéine impliquée dans le système de réparation par excision de bases de l'ADN, tout comme *MUTYH*. Le rôle spécifique de NTHL1 est l'excision et la réparation des pyrimidines oxydées et des purines dont l'anneau aromatique est ouvert (42).

IV. Objectif du travail

Cette étude a eu pour but de déterminer la contribution de ces nouveaux gènes dans les suspicions de prédisposition au cancer colorectal avec ou sans polypose afin de déterminer si leur recherche dans la démarche diagnostique de routine a un intérêt et de préciser le phénotype associé à ces mutations.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I. Choix des patients

Les patients pouvant être inclus étaient des patient adressés au laboratoire de biologie moléculaire du CHRU de Lille pour suspicion de prédisposition au cancer colorectal pour lesquels les analyses de routine n'avaient pas mis en évidence de mutation délétère : *APC* et *MUTYH* en cas de polypose, gènes MMR dans les autres cas. L'ADN de ces patients est systématiquement conservé en vue d'éventuelles analyses complémentaires.

Les critères d'inclusion cliniques étaient les suivants :

- **Polypose adénomateuse classique** : Plus de 100 adénomes coliques quel que soit l'âge ;
- **Polypose adénomateuse atténuée** : Plus de 10 adénomes coliques quel que soit l'âge ou plus de 5 adénomes coliques avant 50 ans ;
- **Polypose mixte** : Plus de 10 polypes coliques avant 50 ans dont au moins 3 adénomateux ;
- **Adénome avancé précoce** : Au moins un adénome avancé (plus de 10 mm, ou vilieux, ou en dysplasie de haut grade) avant l'âge de 30 ans ;
- **Cancer colorectal jeune** : Tout cas-index ayant présenté un cancer colorectal avant l'âge de 41 ans quelle que soit l'histoire familiale ;
- **Cancer colorectal familial**: Tout cas-index ayant présenté un cancer colorectal avant 50 ans et ayant au moins un apparenté du premier degré ayant également présenté un cancer colorectal avant 50 ans ;
- **Cancers colorectaux multiples**: Tout cas-index ayant présenté plusieurs cancers colorectaux synchrones ou métachrones dont au moins un avant 60 ans quelle que soit l'histoire familiale.

Pour chaque gène, un échantillon des patients éligibles étaient analysés, en fonction de l'histoire personnelle et familiale et de la compatibilité de celle-ci avec les phénotypes liés aux nouvelles prédispositions.

La présence ou l'absence d'instabilité microsatellitaire n'était pas un critère déterminant pour l'intérêt de l'analyse car celle-ci peut résulter d'événements somatiques survenus dans la tumeur. Par exemple, il a été montré que la présence d'une mutation constitutionnelle de *POLE* peut être responsable de mutations somatiques des gènes MMR ce qui conduit à une instabilité (29).

De même, l'origine juive ashkénaze et la présence de signes de dysplasie ectodermique n'étant pas recherchées en consultation d'oncogénétique, ces critères ne pouvaient pas être pris en compte pour la sélection des patients pour les analyses de *GREM1/SCG5* et de *AXIN2* respectivement.

II. Analyses moléculaires

A. *POLE* et *POLD1*

La première analyse consistait en une recherche de la mutation récurrente c.1270C>G p.Leu424Val du gène *POLE* par pyroséquençage.

La première étape consistait à amplifier la région d'intérêt par PCR en utilisant deux amorces, dont l'une porte une biotine à son extrémité 5'. La PCR est réalisée dans les conditions suivantes : volume final de 50 µl contenant 2,5 µL de tampon 10X, 5 µL de desoxyribonucléotides (dNTP) 10 mM, 5 µL de MgCl₂ 25 mM, 6 µL d'amorces sens et antisens à 2,5 µM chacune, 0,25 U d'ADN polymérase AmpliTaq Gold (ThermoFisher) et environ 50 ng d'ADN du patient. Le programme utilisé est le suivant : 1 cycle de dénaturation à 95°C pendant 7 minutes, suivi de 35 cycles comprenant 30 secondes à 95°C, 30 secondes d'hybridation à 66°C et 1 minute d'élongation à 72°C, puis un cycle final d'élongation à 72°C pendant 10 minutes.

Après vérification de l'efficacité de l'amplification par analyse d'une fraction du produit par électrophorèse en gel d'agarose (1 %), le produit est purifié en utilisant des billes de streptavidine qui fixe la biotine, ce qui permet de ne garder que le brin d'ADN biotinylé pour le séquençage.

La réaction de séquençage implique le brin d'ADN biotinylé, une amorce de séquençage complémentaire à ce brin, située en amont de la région à séquencer, une ADN polymérase ajoutant les nucléotides à l'extrémité 3' de l'amorce de séquençage, une sulfurylase et une luciférase. Dans le séquenceur, les nucléotides sont ajoutés de façon successive selon une séquence prédéterminée. S'ils ne sont pas complémentaires de la séquence, ils ne sont pas incorporés et aucun signal n'est émis, ils sont détruit par une apyrase. S'ils sont complémentaires, leur incorporation libère un pyrophosphate, qui sert à la formation d'ATP via une sulfurylase. L'ATP est consommée par la luciférase qui émet un signal lumineux, proportionnel à la quantité de nucléotides inclus.

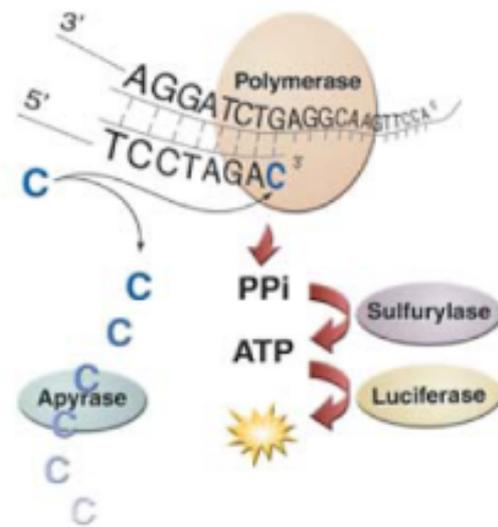


Figure 5 : Schéma du pyroséquençage. Les nucléotides sont ajoutés successivement. Un signal n'apparaît que si le nucléotide est incorporé par l'ADN polymérase, c'est-à-dire s'il est complémentaire du fragment amplifié. D'après England *et al*, 2005 (43)

Le pyroséquençage était réalisé par le pyroséquenceur *PyroMark Q96* (Biotage) et les résultats étaient analysés par le logiciel *Pyromark MD*.

Le pyroséquençage permet de séquencer uniquement des séquences courtes, de l'ordre de quelques nucléotides. Cependant, il est peu coûteux, donne des résultats rapides et permet de détecter les mosaïques à partir de 5 % d'allèles mutés. Des mutations *de novo* c.1270C>G de *POLE* ayant été décrites (44), il s'agit probablement d'un hotspot de mutation et il semblait important d'utiliser une technique recherchant une éventuelle mutation en mosaïque.

La seconde étape consistait dans le séquençage Sanger complet des exons contenant les mutations récurrentes : exon 13 de *POLE* et exon 12 du gène *POLD1*. L'amplification des exons était réalisée par PCR réalisées dans les mêmes conditions que celles décrites précédemment. Le programme utilisé est le suivant : 1 cycle à 95°C pendant 7 minutes, suivi de 35 cycles comprenant 30 secondes à 95°C, 30 secondes à 64°C et 1 minute 72°C, puis un cycle final d'élongation à 72°C pendant 10 minutes.

Après vérification de l'efficacité de l'amplification par analyse d'une fraction du produit de PCR par électrophorèse en gel d'agarose (1 %), celui-ci est séquencé sur

séquenceur automatique 3730XL (Applied Biosystems). Les séquences sont analysées et comparées aux séquences de références à l'aide du logiciel SeqScape v2.7 (Applied Biosystems). La séquence de référence utilisée est le NM_006231.2 pour *POLE* et le NM_002691.1 pour *POLD1*.

B. AXIN2

L'amplification des exons 1 à 10 était réalisée par PCR. Les PCR sont réalisées dans les mêmes conditions que celles décrites précédemment. Le programme utilisé est le suivant : 1 cycle à 95°C pendant 7 minutes, suivi de 35 cycles comprenant 30 secondes à 95°C, 30 secondes à 60°C pour les exons 2 à 4 et 58 °C pour les autres, et 1 minute 72°C, puis un cycle final d'élongation à 72°C pendant 10 minutes.

Les produits ont été analysés par séquençage Sanger comme décrit précédemment. La séquence de référence utilisée est le NM_004655.2.

C. *GREM1*

L'équipe du Dr Emma Jaeger, ayant décrit la duplication de *GREM1* responsable de polyposes mixtes héréditaire (39), a mis au point un test simple pour la détection de cette duplication, basé sur une PCR dont l'amplification n'est possible qu'en présence de cette duplication.

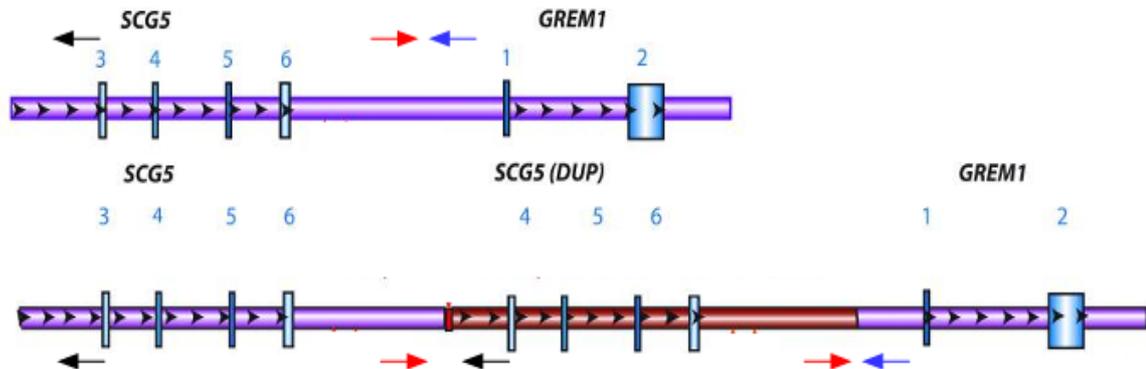


Figure 6 : Amplification spécifique de la duplication des exons 3 à 6 de *SCG5*. En haut, en l'absence de la duplication, les amorces sens (flèche rouge) et anti-sens A (flèche noire) spécifiques de la duplication ne sont pas face-à-face. La seule amplification possible est l'amplification non spécifique de la duplication d'un fragment de 435 pb entre les amorces sens et anti-sens B (flèche bleue). En bas, en présence de la duplication, les amorces sens et anti-sens A se font face et permettent l'amplification spécifique de la duplication d'un fragment de 190 pb, en plus de l'amplification non spécifique. D'après Jaeger *et al*, 2012 (39)

Afin de vérifier la présence de la duplication, une PCR était donc réalisée dans les mêmes conditions que décrites précédemment. Le programme utilisé est le suivant : 1 cycle à 95°C pendant 7 minutes, suivi de 38 cycles comprenant 30 secondes à 95°C, 30 secondes à 55°C et 1 minute 72°C, puis un cycle final d'élongation à 72°C pendant 10 minutes.

Les produits de PCR étaient ensuite analysés après séparation par électrophorèse en gel d'agarose 1 %. L'efficacité de la PCR était vérifiée par la présence de la bande d'amplification non spécifique de la duplication de 435 pb. Le produit de l'amplification spécifique de la duplication est de 190 pb. Le test était réalisé simultanément sur l'ADN d'un témoin positif, fourni par l'équipe du Dr Emma Jaeger.

Un grand nombre de patients ont été testés pour cette prédisposition dans cette étude car les renseignements cliniques transmis par les prescripteur mentionnent en règle générale uniquement les polypes adénomateux, ignorant les autres types de polypes, en particulier hyperplasiques, car ceux-ci n'ont pas de potentiels dégénératifs. On ne peut donc exclure la présence de polypes hyperplasiques chez les patients adressés pour suspicion de prédisposition au cancer colorectal. Par ailleurs, la recherche de cette duplication est rapide et peu coûteuse.

D. *NTHL1*

La prédisposition liée à *NTHL1* est autosomique récessive, les sujets rapportés étaient tous porteurs soit de la mutation récurrente c.268C>T (p.Gln90*) soit à l'état homozygote, soit à l'état hétérozygote composite avec une autre mutation. Il a donc été décidé de chercher chez les patients sélectionnés la mutation c.268C>T par séquençage ciblé de l'exon 2 dans un premier temps. Si une mutation hétérozygote était identifiée, l'analyse était poursuivie par le séquençage complet des 6 exons du gène.

L'amplification des exons 1 à 6 était réalisée par PCR. Les PCR sont réalisées dans les mêmes conditions que décrites précédemment. Le programme utilisé est le suivant : 1 cycle à 95°C pendant 7 minutes, suivi de 35 cycles comprenant 30 secondes à 95°C, 30 secondes à 58°C, et 1 minute 72°C, puis un cycle final d'élongation à 72°C pendant 10 minutes.

Les produits ont été analysés par séquençage Sanger comme décrit précédemment. La séquence de référence utilisée est le NM_002528.5.

RÉSULTATS

Au total, 173 patients ont été analysés pour au moins un des nouveaux syndromes de prédisposition.

I. Analyse des gènes *POLE* et *POLD1*

La mutation récurrente c.1270C>G (p.Leu424Val) a été recherchée par pyroséquençage chez 160 patients dont les phénotypes étaient les suivants :

- 2 polyposes adénomateuses classiques
- 90 polyposes adénomateuses atténuées
- 4 polyposes mixtes
- 2 adénomes avancées précoces
- 41 cancers colorectaux jeunes
- 18 cancers colorectaux familiaux
- 3 cancers colorectaux multiples

Parmi ces patients, aucun n'était porteur de la mutation récurrente, ni de variation des bases adjacentes. Un exemple de profil est présenté à la figure 7.

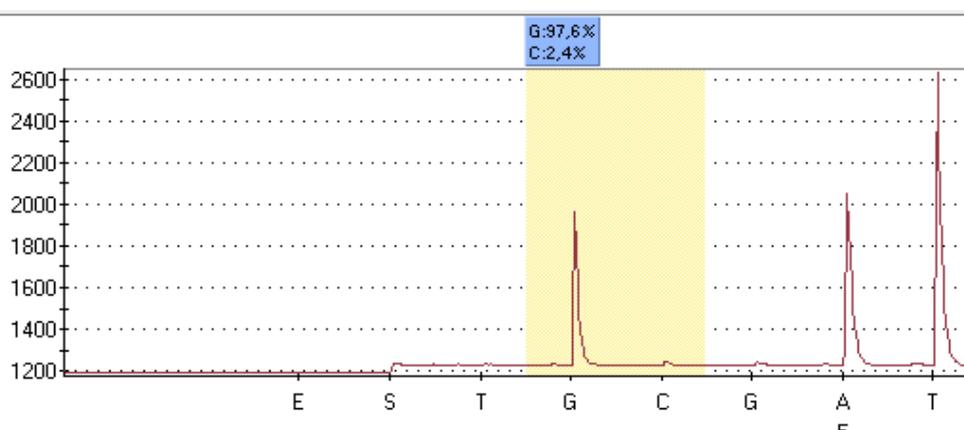


Figure 7 : Profil de pyroséquençage d'un patient non porteur de la mutation récurrente c.1270C>G. La première étape est l'injection des réactifs E et S. Les nucléotides sont ensuite injectés de façon séquentielle. Le premier nucléotide séquencé est en position 1270. L'amorce de séquençage étant complémentaire au brin sens, un signal apparaît à l'injection de la guanosine, confirmant que le nucléotide 1270 est une cytosine. Le signal de 2,4 % qui apparaît à l'injection de la cytosine est lié au bruit de fond.

Le séquençage des exons 13 de *POLE* et 12 du gène *POLD1* était réalisé chez 56 de ces patients, en sélectionnant ceux dont l'histoire personnelle et familiale était la plus évocatrice. Les phénotypes étaient les suivants :

- 2 polyposes adénomateuses classiques
- 42 polyposes adénomateuses atténuées
- 9 cancers colorectaux jeunes
- 18 cancers colorectaux familiaux

Aucune variation significative n'a été mise en évidence chez ces patients, en particulier la mutation c.1433G>A (p.Ser478Asn) de *POLD1*, décrite dans plusieurs familles, n'a pas été retrouvée.

II. Analyse du gène *AXIN2*

38 patients ont été analysés :

- 4 avec un phénotype de polypose adénomateuse classique
- 33 avec un phénotype de polypose adénomateuse atténuée.
- 1 avec un adénome avancé avant 30 ans

Il n'était pas rapporté de notion d'anomalies ectodermiques chez ces patients, mais ces anomalies ne sont pas systématiquement recherchées en consultation.

Malgré les modifications des conditions de PCR et le changement des amorces, il n'a pas été possible au cours du travail d'obtenir une amplification satisfaisante de l'exon 1 chez les patients en raison de la richesse en GC de la région. Le séquençage n'a donc concerné que les exons 2 à 10 du gène. A l'heure actuelle, aucune mutation délétère n'a été rapportée dans l'exon 1 du gène *AXIN2*.

Aucun variant d'intérêt n'a été mis en évidence chez les patients testés.

III. Recherche de la duplication récurrente de *GREM1*

La duplication récurrente a été recherchée chez 95 patients avec les phénotypes suivants :

- 3 polyposes adénomateuses classiques
- 82 polyposes adénomateuses atténuées
- 3 polyposes mixtes
- 2 adénomes avancées précoces
- 8 cancers colorectaux jeunes

La bande d'amplification spécifique de la duplication n'a été mise en évidence chez aucun patient. La bande non spécifique était systématiquement présente, confirmant que les conditions permettaient la réalisation d'une amplification par PCR.

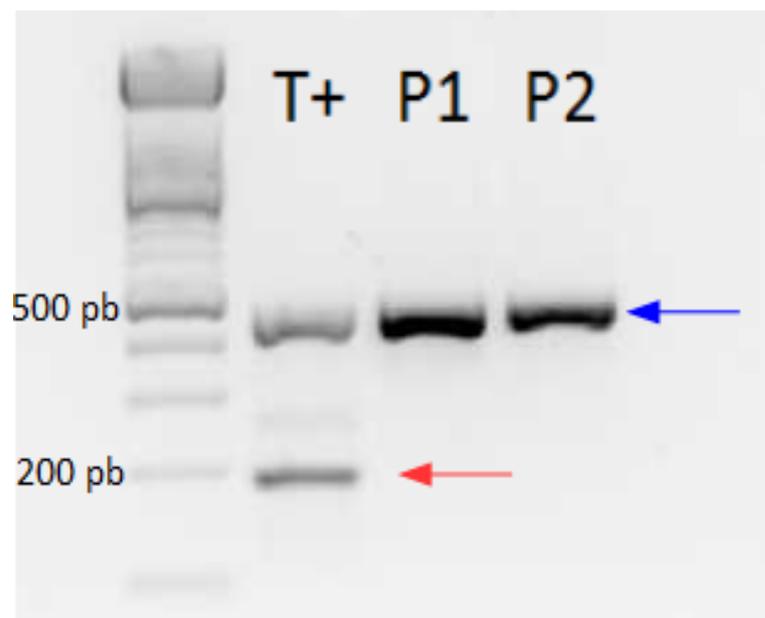


Figure 8 : Résultat de la recherche de duplication en amont de *GREM1*. Présence des 2 bandes chez le témoin positif (T+) et d'une unique bande chez 2 patients (P1 et P2). La flèche rouge indique la bande spécifique de la duplication de 190 pb, la flèche bleue la bande non spécifique (contrôle positif d'amplification, 435 pb).

IV. Analyse du gène *NTHL1*

Le séquençage de l'exon 2 du gène *NTHL1* a été réalisé chez 81 patients :

- 73 présentant une polypose adénomateuse atténuée
- 5 présentant une polypose mixte
- 2 présentant une polypose adénomateuse classique
- 2 présentant un adénome avancé avant 30 ans
- 2 présentant des cancers du côlon multiples.

La mutation récurrente c.268C>T (p.Gln90*) a été mise en évidence chez un seul patient (référence P08.14). Aucune autre variation n'a été mise en évidence dans l'exon 2 chez les autres patients.

Le séquençage des 5 autres exons de *NTHL1* et des régions introniques flanquantes a été réalisé chez ce patient, permettant de mettre en évidence une mutation de l'intron 1 : c.139+1G>A. Le caractère délétère de cette mutation est très probable car elle entraîne une destruction du site donneur d'épissage.

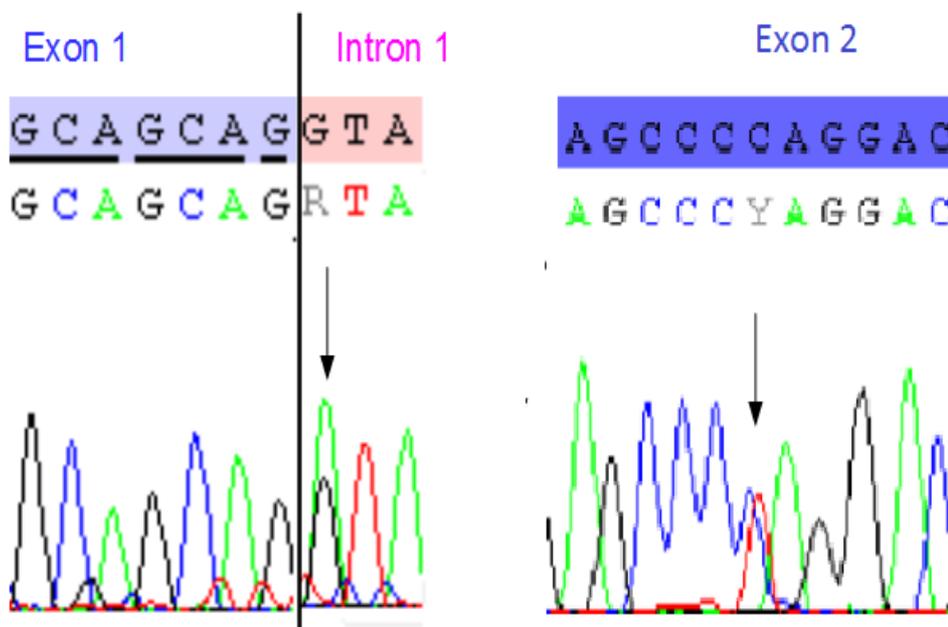


Figure 9 : Mise en évidence des mutations hétérozygotes c.139+1G>A (p.?) et c.268C>T (p.Gln90*) chez le patient P08.14

Il n'a pas été possible de confirmer que les 2 mutations étaient situées sur des allèles différents car aucun prélèvement d'apparenté n'a été réalisé jusqu'à présent.

Le patient P08.14 présente un phénotype de polypose adénomateuse atténuée, il a développé au moins 6 adénomes entre 43 et 50 ans, dont un adénome en dysplasie de haut grade à 43 ans. Il n'a pas présenté de cancer.

Ce patient est le deuxième d'une fratrie de 9. Une de ses 4 sœurs est décédée à 38 ans dans un contexte de carcinose péritonéale dont l'origine n'a pas pu être déterminée. Une autre sœur a présenté un sarcome nasal à 47 ans. On note également un antécédent de cancer du côlon tardif chez la mère, vers 70 ans. (Figure 10).

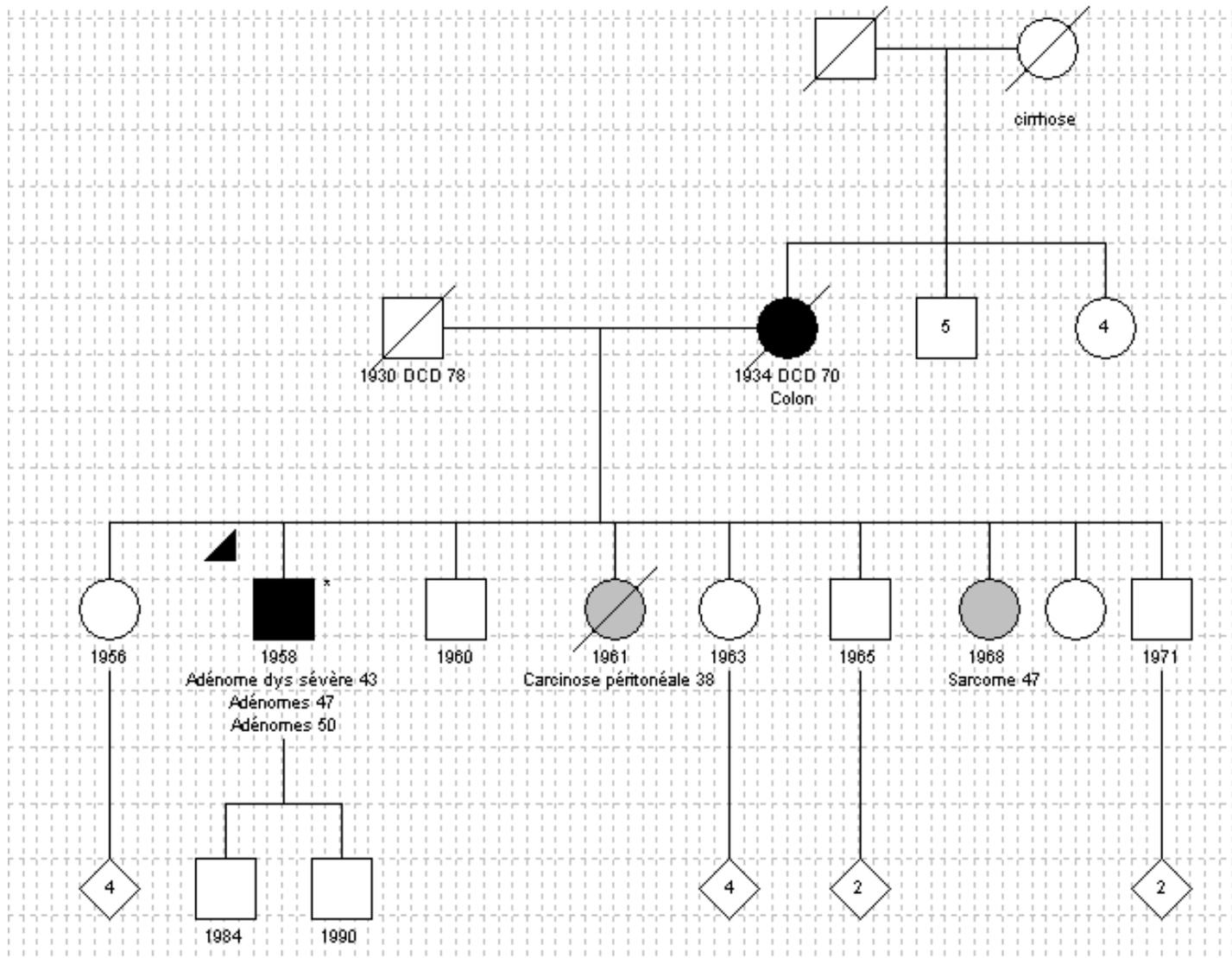


Figure 11: Arbre généalogique du patient P08.14 (indiqué par la flèche noire). En noir : pathologie colorectale. En gris pathologie cancéreuse d'origine autre ou indéterminée. DCD : âge de décès. Les nombres dans les figures indiquent le nombre d'individus (carré : homme, cercle : femme, losange : hommes et femmes).

DISCUSSION

173 patients ont bénéficié d'au moins une analyse à la recherche d'une prédisposition au cancer colorectal liée à *POLE*, *POLD1*, *AXIN2*, *GREM1* et/ou *NTHL1*. Les analyses effectuées n'ont permis de mettre en évidence une probable prédisposition génétique aux cancers colorectal que chez un seul des patients examinés.

I. Patient P08.14

Chez ce patient, deux mutations délétères de *NTHL1* ont été mises en évidence, c.139+1G>A (p.?) et c.268C>T (p.Gln90*). Ces mutations sont situées respectivement dans l'intron 1 et l'exon 2 du gène, qui compte au total 6 exons. Elles sont probablement responsables de la synthèse d'une protéine tronquée dépourvue d'importants domaines fonctionnels ou de l'absence de synthèse de la protéine par dégradation de l'ARNm via le mécanisme NMD (*Nonsense-mediated decay*).

La présence de 2 mutations est cohérente avec le mode de transmission autosomique récessif de la polypose adénomateuse lié à *NTHL1*, même si le caractère bi-allélique de ces mutations n'a pas pu être prouvé.

Si le caractère bi-allélique de la mutation est prouvée, le conseil génétique pourra être rassurant pour la descendance du patient P08.14 à condition qu'il ne soit pas apparenté à sa conjointe. En effet, d'après la base de données ExAC qui comprend les résultats de plus de 60 000 exomes réalisés chez des sujets sains, la mutation récurrente c.268C>T p.Gln90* a une fréquence allélique globale de 0,15 % et une fréquence allélique maximale de 0,3 % dans la population finlandaise (45). Les autres mutations délétères du gène *NTHL1* sont encore plus rares, la mutation c.139+1G>A n'est décrite que chez 2 sujets parmi les 60 000 séquencés (46).

Une des sœurs de ce patient est décédée à un âge très précoce d'une carcinose péritonéale, complication fréquente des cancers colorectaux avancés (47), mais une origine gynécologique est également possible (48). Une autre sœur a présenté un sarcome à 47 ans. Ce type de tumeur n'a pas été rapporté chez les sujets porteurs de mutations bi-alléliques de *NTHL1* des 4 familles décrites, mais un grand nombre de tumeurs extra-coliques est noté chez ces sujets : cancer de l'endomètre, cancer du sein, carcinome basocellulaire... (40,41). Le spectre des cancers associés à cette prédisposition est peut-être extrêmement large. L'atteinte avant 50 ans de 3 membres d'une fratrie de 9 sans antécédent précoce connu dans les générations précédentes est compatible avec le mode de transmission autosomique récessif de cette prédisposition.

La mère du patient a présenté un cancer du côlon à l'âge de 70 ans, cette association peut être fortuite du fait de la fréquence du cancer colorectal dans la population générale et de l'âge de survenue tardif de cette tumeur (3). Cependant, dans l'hypothèse d'une mutation bi-allélique chez son fils, elle serait porteuse obligatoire d'une mutation mono-allélique, dont les conséquences ne sont pas connues, mais qui pourrait être associée à une légère augmentation du risque de cancer colorectal, comme c'est le cas pour les mutations mono-alléliques du gène *MUTYH* (49).

Étant donné le faible recul sur ce syndrome, il est difficile de proposer à ce patient une surveillance spécifique, en particulier en ce qui concerne les risques tumoraux extra-coliques, dont le lien avec les mutations *NTHL1* n'est pas établi avec certitude. Une surveillance clinique pourrait cependant avoir son intérêt, notamment concernant les cancers cutanés car elle n'est pas invasive.

Un conseil génétique pourrait être proposé concernant ses apparentés si le caractère bi-allélique des mutations est confirmé. Le risque que ses frères et sœurs soient également porteurs des 2 mutations serait de 1/4 pour chacun. Dans ce cas, une surveillance coloscopique rapprochée devrait leur être proposée. Concernant la descendance du cas-index, nous pourrions être rassurant s'il n'est pas apparenté à sa conjointe étant donné la rareté des mutations *NTHL1* (fréquence allélique maximale de 0,3 % pour la mutation récurrente). Un séquençage du gène *NTHL1*

pourrait être proposée à sa conjointe afin d'éviter une analyse à tous leurs enfants si celle-ci est négative, comme cela est proposé dans des situations équivalentes pour le gène *MUTYH* (23). Cependant dans le cas de ce gène, cette attitude est justifiée par la fréquence des porteurs de mutation hétérozygote en population générale (1 à 2%) (50).

II. Patients mutés *POLE* identifiés à Lille

Le travail réalisé n'a pas permis d'identifier de mutation dans les gènes *POLE* ou *POLD1*. Cependant, le laboratoire de Lille a récemment mis en place une stratégie diagnostique par panel de gène. Le séquençage des exons 7 à 15 de *POLE* et 6 à 14 de *POLD1*, correspondant au domaine exonucléasique, a donc été ajouté au panel de diagnostic des polyposes, qui comprend notamment les gènes *APC*, *MUTYH* et *AXIN2*. Cela a permis récemment d'identifier des variants de *POLE* chez deux patients adressés pour polypose colorectale.

Dans le premier cas, la mutation récurrente c.1270C>G (p.Leu424Val) a été identifiée chez un patient qui présentait une polypose adénomateuse atténuée avec une vingtaine d'adénomes. Il a présenté deux carcinomes coliques, à 44 ans et 50 ans. Les analyses somatiques du deuxième cancer concluaient à une stabilité des microsatellites, permettant d'exclure avec une bonne sensibilité le diagnostic de syndrome de Lynch. La mère de ce patient avait présenté un cancer de l'oesophage à un âge non précisé sans qu'un lien puisse être fait avec la pathologie de son fils. L'histoire familiale ne comprenait pas d'autre antécédent notable

La variation c.1306C>A (p.Pro436Thr) a été identifiée chez un patient ayant présenté un carcinome colique *in situ* à 24 ans et un adénome infra-millimétrique. Il aurait présenté ensuite plusieurs polypes dont le type histologique n'est pas connu. Son père présentait des polypes et l'une de ses tantes paternelles a présenté un carcinome jéjunal à 52 ans. Le fils de cette dernière est décédé d'un carcinome colique à 29 ans. Le grand-père paternel du cas index est décédé à 42 ans d'un cancer du côlon. Cette histoire personnelle et familiale particulièrement évocatrice d'une prédisposition a justifié la réalisation d'un grand nombre d'analyses dans cette famille, dont le séquençage des gènes MMR et des gènes de polyposes adénomateuses *APC* et *MUTYH* avant l'identification de ce variant de *POLE*. Le père et la tante atteinte ont pu être testés, ils sont tous deux porteurs de la variation.

La variation constitutionnelle c.1306C>A (p.Pro436Thr) n'a jamais été décrite mais son caractère délétère est très probable, car elle est située dans le domaine

exonucléase de la polymérase et elle concerne un acide aminé très conservé. La mutation somatique p.Pro436Arg concernant le même acide aminé a déjà été décrite dans des cancers colorectaux et endométriaux présentant des phénotypes hypermutateurs (51).

Ces deux cas montrent l'efficacité d'une stratégie par séquençage haut-débit car l'identification dans un cas d'une mutation clairement délétère et dans l'autre d'un variant dont le caractère délétère est probable va permettre de proposer un conseil génétique aux apparentés.

III. Contribution globale des nouveaux gènes

Les résultats de ce travail sont en faveur d'une contribution faible des nouveaux gènes dans les situations où une prédisposition est suspectée et que les diagnostics les plus fréquents comme le syndrome de Lynch et la Polypose Adénomateuse lié à *APC* ou *MUTYH* ont été éliminés.

Ces résultats sont compatibles avec les données de la littérature, en particulier pour les mutations de *POLE* et *POLD1* qui ont été recherchés dans plusieurs cohortes de grandes tailles pour lesquelles les taux de détections étaient toujours faibles.

En 2014, Valle *et al* (44) ont étudié 858 cas-index, dont 581 cas de cancer du côlon précoce ou familial sans instabilité microsatellitaire, 86 cas avec une instabilités et 191 cas de polyposes. L'analyse concernait uniquement les exons contenant les mutations récurrentes c.1270C>G (p.Leu424Val) de *POLE* et c.1433G>A (p.Ser478Asn) de *POLD1*. La mutation récurrente de *POLE* n'a été identifiée que chez un patient et celle de *POLD1* dans aucun de ces cas. Une variation probablement délétère de *POLD1* c.1421T>C (p.Leu474Pro) a été identifiée dans une seule famille. Dans la série rapportée par Elsayed *et al* (29) comprenant 1188 patients présentant une polypose adénomateuse ou un cancer colorectal avec antécédents familiaux, avec recherche spécifique des mutations c.1270C>G de *POLE* et c.1433G>A de *POLD1*, seuls 3 patients (0,25 %) étaient porteurs la mutation récurrente de *POLE*. Dans la série publiée par Bellido *et al* (52), comportant 526 familles pour lesquelles les deux mutations récurrentes avaient déjà été recherchées, le séquençage de l'ensemble du domaine exonucléase des deux gènes (exons 9 à 14 de *POLE* et 6 à 12 de *POLD1*) n'a pas conduit à l'identification de mutation de *POLE* supplémentaire. En revanche, 6 variants dont 4 probablement délétère ont été identifiés dans *POLD1* : c.883G>A (p.Val295Met), c.946G>C (p.Asp316His), c.947A>G (p.Asp316Gly) et c.1421C>T (p.Leu474Pro).

Concernant la mutation récurrente de *NTHL1*, sa fréquence allélique est de $q = 0,15 \%$ en population générale. D'après la loi de Hardy Weinberg, la fréquence

des hétérozygote pour cette mutation est de $2pq$, avec p proche de 1, donc environ $2q$. La fréquence des hétérozygotes dans la population générale est donc de 0,3 % (proche de $1/330$) et celle des homozygotes est inférieur à $1/400\ 000$.

Il s'agit donc dans tous les cas de mutations extrêmement rares. Du fait de la rareté de ces mutations, une stratégie de recherche séquentielle a donc un rendement diagnostic extrêmement faible.

Le développement récent du séquençage à haut débit a permis la mise en place de panels de gènes diagnostiques qui ont montré leur intérêt dans de nombreux domaines, dont l'identification de prédispositions aux cancers (53,54). Ils permettent de séquencer en une seule manipulation un grand nombre de gènes, ce qui explique leur rendement élevé mais augmente le risque de détecter des variants dont le caractère délétère est incertain. Il reste donc essentiel de décrire précisément les phénotypes associés à chaque prédisposition afin de faciliter l'interprétation de ces variants.

IV. Interprétation des VSI

La place des analyses somatiques dans l'interprétation de ces variants sera sans doute très importante dans les années à venir. Par exemple, les mutations de *POLE* et *POLD1*, qu'elles soient constitutionnelles ou somatiques, sont associées au niveau tumoral à un phénotype dit « hypermutateur » avec un nombre de mutations somatiques bien supérieur à celui rencontré dans les autres tumeurs. Ce phénotype s'accompagne d'une prédominance des mutations de type transversion G:C>T:A dû à la perte de la fonction exonucléase qui corrige normalement ces transversions (55), alors que les tumeurs ont habituellement une prédominance de transitions G:C>A:T. En cas d'identification d'un variant de signification inconnue dans le gène *POLE* ou *POLD1*, l'absence de phénotype hypermutateur au niveau tumoral et du profil de mutation particulier serait un argument en défaveur du caractère délétère de ce variant.

De même, les tumeurs liée à *NTHL1* portent une majorité de mutation de type C:G>T:A, en raison du déficit de réparation par excision de bases.

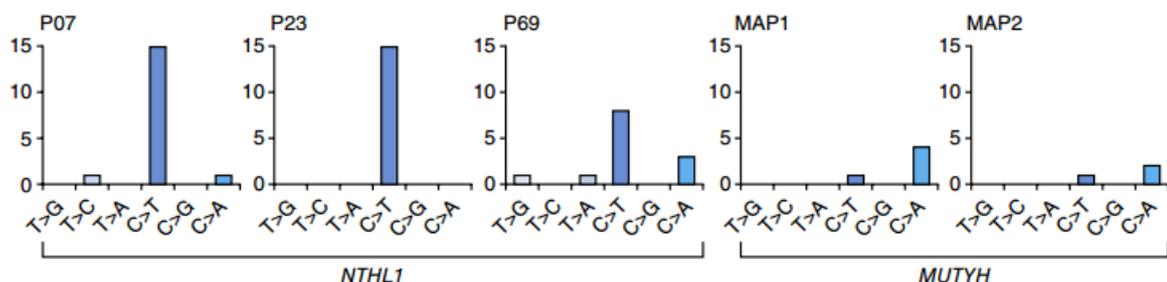


Figure 12 : Comparaison de la répartition des mutations somatiques entre des patients présentant une prédisposition liée à *NTHL1* et ceux présentant une polypose liée à *MUTYH*. Dans le cas des mutations *NTHL1*, il existe une nette prédominance des mutations somatiques de type C>T. D'après Weren *et al*, (40).

Chez un patient portant une mutation délétère d'un allèle de *NTHL1* et une variation dont le caractère pathogène est incertain sur l'autre allèle, une analyse somatique de la tumeur pourrait être réalisée pour rechercher la prédominance de ce type de mutation, ce qui serait un argument en faveur du caractère délétère de la mutation.

Dans tous les cas, la description précise du phénotype des sujets testés est indispensable à cette interprétation. En effet, le risque du développement des panels de gènes à visée diagnostique est l'identification de variants qui seraient interprétés comme pathogène alors qu'il n'ont pas de lien avec le phénotype du patient. Cela conduirait à des test pré-symptomatiques qui pourraient conduire à des excès de surveillance dans certains cas ou des arrêts de surveillance injustifiés.

V. Part génétique non expliquée

Une part importante des suspicions de prédispositions au cancer colorectal reste inexpliquée. Ceci peut être expliqué de différentes façons. Parmi les gènes décrits, de façon ancienne ou récente, des mutations causales peuvent être difficiles à identifier car localisée dans des régions non codantes : régions régulatrices 5' et 3', régions introniques... Ces régions ne sont pas séquencées car l'interprétation de variation dans ces séquences est impossible dans la majorité des cas. Certains réarrangements complexes sont également difficiles à mettre en évidence. Le taux de détection des mutations dans les gènes connus n'est donc pas de 100 %.

Il existe probablement d'autres gènes de prédisposition non encore décrits. Les stratégies de séquençage d'exomes ou de génomes complets ont prouvé leur efficacité pour l'identification de ces nouveaux gènes (28,41). Le coût de séquençage de l'exome ou du génome complet étant de plus en plus faible, il devient accessible à un nombre croissant d'équipes de recherche et il est probable que d'autres gènes soient décrits dans les années à venir.

Comme pour d'autres pathologies multifactorielles comme l'hypertension (56) ou le diabète de type 2 (57), il a été mis en évidence des polymorphismes génétiques conférant une augmentation très modérée du risque de cancer colorectal. Par exemple, les polymorphismes rs72647484 (fréquence de l'allèle mineur : 9 %) et rs16941835 (fréquence de l'allèle mineure 21%) sont associés à une augmentation modeste du risque de cancer colorectal (odds ratios de 1,21 et 1,15 respectivement) (58). Une partie des situations pour lesquelles aucune prédisposition monogénique n'est identifiée pourrait être en lien avec une prédisposition polygénique, où plusieurs facteurs dont l'impact est modéré ont un effet global important lorsqu'ils sont combinés. A l'heure actuelle, les prédispositions polygéniques ne sont pas recherchées en routine chez les patients, mais il est possible qu'à l'avenir, des analyses permettent de calculer un risque lié à l'existence de ces polymorphismes et d'adapter la surveillance en fonction de ce risque (59).

CONCLUSION

L'identification récente de nouveaux gènes de prédisposition permet d'augmenter la probabilité de porter un diagnostic dans les situations où une prédisposition est suspectée et de permettre de proposer un conseil génétique et une surveillance adaptée. Cependant, du fait de la faible contribution individuelle de chaque gène, une stratégie de recherche séquentielle n'est pas adaptée, l'émergence du NGS a permis le développement du diagnostic par panel de gène qui permet un meilleur rendement diagnostique mais qui pose le problème de la complexité de l'interprétation des variants identifiés. Par ailleurs, les risques tumoraux associés à ces nouvelles prédispositions sont difficiles à préciser du fait de leur rareté, la surveillance qui doit être proposée dans ces situations ne fait pas encore l'objet de recommandations officielles, il est donc important de poursuivre la description de ces nouveaux syndromes afin d'améliorer les prises en charge de ces patients.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. *Cell*. 2000 Jan 7;100(1):57–70.
2. Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvuo M, et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer--analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med*. 2000 Jul 13;343(2):78–85.
3. Binder-Foucard F, Bossard N, Delafosse P, Belot A, Woronoff A-S, Remontet L, et al. Cancer incidence and mortality in France over the 1980-2012 period: solid tumors. *Rev Epidémiologie Santé Publique*. 2014 Apr;62(2):95–108.
4. Moghadamyeghaneh Z, Hanna MH, Hwang G, Mills S, Pigazzi A, Stamos MJ, et al. Outcomes of colon resection in patients with metastatic colon cancer. *Am J Surg*. 2016 Aug;212(2):264–71.
5. Grady WM, Carethers JM. Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology*. 2008 Oct;135(4):1079–99.
6. HAS - Dépistage et prévention du cancer colorectal - Actualisation du référentiel de pratiques de l'examen périodique de santé (EPS) Juin 2013 Page consultée le 23/06/16 [en ligne] http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2013-08/referentieleps_format2clic_kc_colon-vfinale_2013-08-30_vf_mel_2013-08-30_12-18-6_653.pdf.
7. Faivre J, Dancourt V, Lejeune C, Tazi MA, Lamour J, Gerard D, et al. Reduction in colorectal cancer mortality by fecal occult blood screening in a French controlled study¹. *Gastroenterology*. 2004 Jun;126(7):1674–80.
8. Barret M, Boustiere C, Canard J-M, Arpurt J-P, Bernardini D, Bulois P, et al. Factors associated with adenoma detection rate and diagnosis of polyps and colorectal cancer during colonoscopy in France: results of a prospective, nationwide survey. *PloS One*. 2013;8(7):e68947.
9. Lohsiriwat V. Colonoscopic perforation: Incidence, risk factors, management and outcome. *World J Gastroenterol WJG*. 2010 Jan 28;16(4):425–30.
10. Olschwang S, Bonaïti-Pellié C, Feingold J, Frébourg T, Grandjouan S, Lasset C, et al. [Identification and management of HNPCC syndrome (hereditary non polyposis colon cancer), hereditary predisposition to colorectal and endometrial adenocarcinomas]. *Pathol Biol (Paris)*. 2006 May;54(4):215–29.
11. Giardiello FM, Yang VW, Hylind LM, Krush AJ, Petersen GM, Trimbath JD, et al. Primary chemoprevention of familial adenomatous polyposis with sulindac. *N Engl J Med*. 2002 Apr 4;346(14):1054–9.
12. de la Chapelle A. The incidence of Lynch syndrome. *Fam Cancer*. 2005;4(3):233–7.

13. Lynch HT, Lanspa S, Smyrk T, Boman B, Watson P, Lynch J. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndromes I & II). Genetics, pathology, natural history, and cancer control, Part I. *Cancer Genet Cytogenet.* 1991 Jun;53(2):143–60.
14. Lynch HT, Snyder CL, Shaw TG, Heinen CD, Hitchins MP. Milestones of Lynch syndrome: 1895-2015. *Nat Rev Cancer.* 2015 Mar;15(3):181–94.
15. Vasen HFA, Möslein G, Alonso A, Bernstein I, Bertario L, Blanco I, et al. Guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (hereditary non-polyposis cancer). *J Med Genet.* 2007 Jun;44(6):353–62.
16. Umar A, Risinger JI, Hawk ET, Barrett JC. Testing guidelines for hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Nat Rev Cancer.* 2004 Feb;4(2):153–8.
17. Tiwari AK, Roy HK, Lynch HT. Lynch syndrome in the 21st century: clinical perspectives. *QJM Mon J Assoc Physicians.* 2016 Mar;109(3):151–8.
18. Rahmi G, Lecomte T, Malka D, Maniere T, Le Rhun M, Guimbaud R, et al. Impact of chromoscopy on adenoma detection in patients with Lynch syndrome: a prospective, multicenter, blinded, tandem colonoscopy study. *Am J Gastroenterol.* 2015 Feb;110(2):288–98.
19. Jasperson KW, Burt RW. APC-Associated Polyposis Conditions. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJ, et al., editors. *GeneReviews(®)* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2016 Aug 28]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1345/>
20. Bisgaard ML, Fenger K, Bülow S, Niebuhr E, Mohr J. Familial adenomatous polyposis (FAP): frequency, penetrance, and mutation rate. *Hum Mutat.* 1994;3(2):121–5.
21. Angers S, Moon RT. Proximal events in Wnt signal transduction. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2009 Jul;10(7):468–77.
22. Nielsen M, Lynch H, Infante E, Brand R. MUTYH-Associated Polyposis. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJ, et al., editors. *GeneReviews(®)* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2016 Aug 29]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK107219/>
23. La polypose associée aux mutations bi-alléliques du gène MUTYH - INCa – avril 2011.
24. David SS, O’Shea VL, Kundu S. Base-excision repair of oxidative DNA damage. *Nature.* 2007 Jun 21;447(7147):941–50.
25. Larsen Haidle J, Howe JR. Juvenile Polyposis Syndrome. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJ, et al., editors. *GeneReviews(®)* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2016 Aug 28]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1469/>
26. 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(®)* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2016 Aug 28]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1266/>

27. Eng C. PTEN Hamartoma Tumor Syndrome. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJ, et al., editors. GeneReviews(®) [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2016 Aug 28]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1488/>
28. Palles C, Cazier J-B, Howarth KM, Domingo E, Jones AM, Broderick P, et al. Germline mutations affecting the proofreading domains of POLE and POLD1 predispose to colorectal adenomas and carcinomas. *Nat Genet.* 2013 Feb;45(2):136–44.
29. Elsayed FA, Kets CM, Ruano D, van den Akker B, Mensenkamp AR, Schruppf M, et al. Germline variants in POLE are associated with early onset mismatch repair deficient colorectal cancer. *Eur J Hum Genet EJHG.* 2015 Aug;23(8):1080–4.
30. Doublé S, Zahn KE. Structural insights into eukaryotic DNA replication. *Front Microbiol.* 2014;5:444.
31. Rohlin A, Zagoras T, Nilsson S, Lundstam U, Wahlström J, Hultén L, et al. A mutation in POLE predisposing to a multi-tumour phenotype. *Int J Oncol.* 2014 Jul;45(1):77–81.
32. Zahurancik WJ, Klein SJ, Suo Z. Significant contribution of the 3'→5' exonuclease activity to the high fidelity of nucleotide incorporation catalyzed by human DNA polymerase ϵ . *Nucleic Acids Res.* 2014 Dec 16;42(22):13853–60.
33. Lammi L, Arte S, Somer M, Jarvinen H, Lahermo P, Thesleff I, et al. Mutations in AXIN2 cause familial tooth agenesis and predispose to colorectal cancer. *Am J Hum Genet.* 2004 May;74(5):1043–50.
34. Mazzoni SM, Petty EM, Stoffel EM, Fearon ER. An AXIN2 Mutant Allele Associated With Predisposition to Colorectal Neoplasia Has Context-Dependent Effects on AXIN2 Protein Function. *Neoplasia N Y N.* 2015 May;17(5):463–72.
35. Marvin ML, Mazzoni S, Herron CM, Edwards S, Gruber SB, Petty EM. AXIN2-Associated Autosomal Dominant Ectodermal Dysplasia and Neoplastic Syndrome. *Am J Med Genet A.* 2011 Apr;155(4):898–902.
36. Rivera B, Perea J, Sánchez E, Villapún M, Sánchez-Tomé E, Mercadillo F, et al. A novel AXIN2 germline variant associated with attenuated FAP without signs of oligodontia or ectodermal dysplasia. *Eur J Hum Genet EJHG.* 2014 Mar;22(3):423–6.
37. Hart MJ, de los Santos R, Albert IN, Rubinfeld B, Polakis P. Downregulation of beta-catenin by human Axin and its association with the APC tumor suppressor, beta-catenin and GSK3 beta. *Curr Biol CB.* 1998 May 7;8(10):573–81.
38. Whitelaw SC, Murday VA, Tomlinson IP, Thomas HJ, Cottrell S, Ginsberg A, et al. Clinical and molecular features of the hereditary mixed polyposis syndrome. *Gastroenterology.* 1997 Feb;112(2):327–34.
39. Jaeger E, Leedham S, Lewis A, Segditsas S, Becker M, Cuadrado PR, et al. Hereditary mixed polyposis syndrome is caused by a 40-kb upstream duplication that leads to increased and ectopic expression of the BMP antagonist GREM1. *Nat Genet.* 2012 Jun;44(6):699–703.
40. Weren RDA, Ligtenberg MJL, Kets CM, de Voer RM, Verwiel ETP, Spruijt L, et al. A

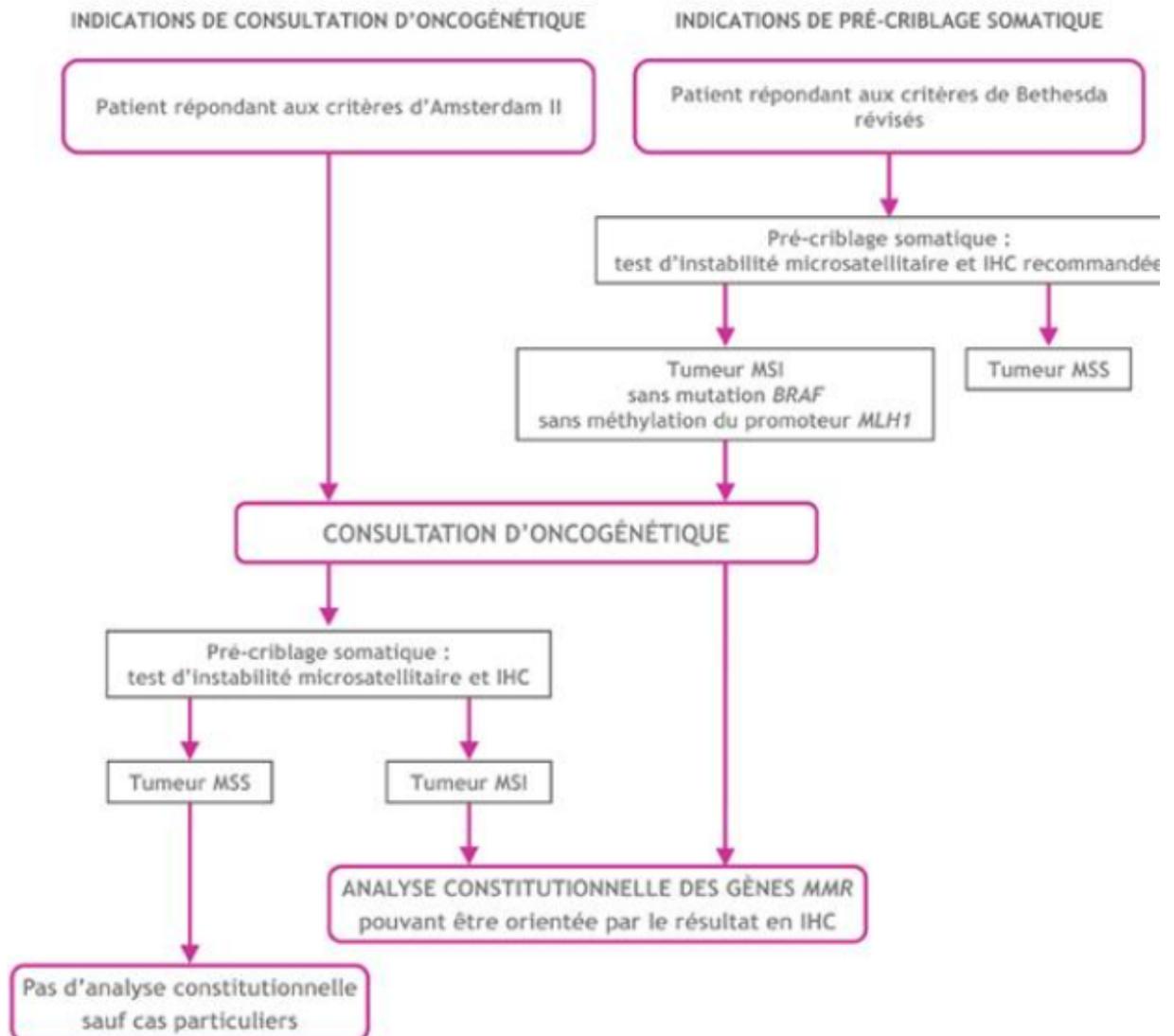
- germline homozygous mutation in the base-excision repair gene NTHL1 causes adenomatous polyposis and colorectal cancer. *Nat Genet.* 2015 Jun;47(6):668–71.
41. Rivera B, Castellsagué E, Bah I, van Kempen LC, Foulkes WD. Biallelic NTHL1 Mutations in a Woman with Multiple Primary Tumors. *N Engl J Med.* 2015 Nov 12;373(20):1985–6.
 42. Krokan HE, Bjørås M. Base excision repair. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013 Apr;5(4):a012583.
 43. Robert England, Monica Petterson. Pyro Q-CpG[[trade]]: quantitative analysis of methylation in multiple CpG sites by Pyrosequencing. *Nature Methods*, Nature Publishing Group; 2005.
 44. Valle L, Hernández-Illán E, Bellido F, Aiza G, Castillejo A, Castillejo M-I, et al. New insights into POLE and POLD1 germline mutations in familial colorectal cancer and polyposis. *Hum Mol Genet.* 2014 Jul 1;23(13):3506–12.
 45. ExAC Browser (Beta) | Exome Aggregation Consortium [en ligne] Page consultée le 25/06/2016 <http://exac.broadinstitute.org/variant/16-2096239-G-A>.
 46. ExAC Browser (Beta) | Exome Aggregation Consortium [en ligne] Page consultée le 16/08/2016 <http://exac.broadinstitute.org/variant/16-2097709-C-T>.
 47. Klaver YL, Lemmens VE, Nienhuijs SW, Luyer MD, de Hingh IH. Peritoneal carcinomatosis of colorectal origin: Incidence, prognosis and treatment options. *World J Gastroenterol WJG.* 2012 Oct 21;18(39):5489–94.
 48. Coccolini F, Gheza F, Lotti M, Virzi S, Iusco D, Ghermandi C, et al. Peritoneal carcinomatosis. *World J Gastroenterol WJG.* 2013 Nov 7;19(41):6979–94.
 49. Win AK, Dowty JG, Cleary SP, Kim H, Buchanan DD, Young JP, et al. Risk of colorectal cancer for carriers of mutations in MUTYH, with and without a family history of cancer. *Gastroenterology.* 2014 May;146(5):1208–1211-5.
 50. Cleary SP, Cotterchio M, Jenkins MA, Kim H, Bristow R, Green R, et al. Germline MutY human homologue mutations and colorectal cancer: a multisite case-control study. *Gastroenterology.* 2009 Apr;136(4):1251–60.
 51. Billingsley CC, Cohn DE, Mutch DG, Stephens JA, Suarez AA, Goodfellow PJ. Polymerase ε (POLE) mutations in endometrial cancer: clinical outcomes and implications for Lynch syndrome testing. *Cancer.* 2015 Feb 1;121(3):386–94.
 52. Bellido F, Pineda M, Aiza G, Valdés-Mas R, Navarro M, Puente DA, et al. POLE and POLD1 mutations in 529 kindred with familial colorectal cancer and/or polyposis: review of reported cases and recommendations for genetic testing and surveillance. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet.* 2016 Apr;18(4):325–32.
 53. Simbolo M, Mafficini A, Agostini M, Pedrazzani C, Bedin C, Urso ED, et al. Next-generation sequencing for genetic testing of familial colorectal cancer syndromes. *Hered Cancer Clin Pract.* 2015;13(1):18.
 54. Slavina TP, Niell-Swiler M, Solomon I, Nehoray B, Rybak C, Blazer KR, et al. Clinical

- Application of Multigene Panels: Challenges of Next-Generation Counseling and Cancer Risk Management. *Front Oncol.* 2015;5:208.
55. Church DN, Briggs SEW, Palles C, Domingo E, Kearsley SJ, Grimes JM, et al. DNA polymerase ϵ and δ exonuclease domain mutations in endometrial cancer. *Hum Mol Genet.* 2013 Jul 15;22(14):2820–8.
 56. Hamet P, Seda O. Current status of genome-wide scanning for hypertension. *Curr Opin Cardiol.* 2007 Jul;22(4):292–7.
 57. Billings LK, Florez JC. The genetics of type 2 diabetes: what have we learned from GWAS? *Ann N Y Acad Sci.* 2010 Nov;1212:59–77.
 58. Al-Tassan NA, Whiffin N, Hosking FJ, Palles C, Farrington SM, Dobbins SE, et al. A new GWAS and meta-analysis with 1000Genomes imputation identifies novel risk variants for colorectal cancer. *Sci Rep.* 2015;5:10442.
 59. Khoury MJ, Janssens ACJW, Ransohoff DF. How can polygenic inheritance be used in population screening for common diseases? *Genet Med Off J Am Coll Med Genet.* 2013 Jun;15(6):437–43.
 60. INCA - Oncogénétique - Les prédispositions génétiques Page consultée le 23/06/16 [en ligne] <http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/L-organisation-de-l-offre-de-soins/Oncogenetique/Les-predispositions-genetiques>.

Annexes

Annexe 1 : Stratégie diagnostique du syndrome de Lynch

D'après Inca – Oncogénétique – Les prédispositions génétiques (60)



Annexe 2 : Indications d'analyses du gène MUTYH

- Nombre cumulé⁴ de polypes adénomateux (prouvés histologiquement) supérieur ou égal à 15 quel que soit l'âge.
- Nombre cumulé de polypes adénomateux (prouvés histologiquement) compris entre 10 à 14 avant l'âge de 60 ans.
- Nombre cumulé de polypes adénomateux (prouvés histologiquement) compris entre 5 à 9, si au moins un des critères additionnels suivants est rempli et si les analyses somatiques ne sont pas en faveur d'un syndrome de Lynch⁵ :
 - ✓ tous ces polypes adénomateux sont survenus avant 40 ans,
 - ✓ ces polypes adénomateux sont associés à un cancer colorectal survenu avant 60 ans,
 - ✓ au moins 5 de ces polypes adénomateux sont « avancés », c'est-à-dire de taille supérieure ou égale à 10 mm et/ou d'architecture tubulo-villeuse ou villose exclusive et/ou associés à des lésions de dysplasie de haut grade,
 - ✓ ces polypes adénomateux sont associés à un ou plusieurs adénomes ou carcinomes sébacés ou à des lésions d'hyperplasie sébacées multiples et/ou de grande taille avant l'âge de 50 ans,
 - ✓ ces polypes adénomateux sont associés à des adénomes duodénaux.

D'après La polypose associée aux mutations bi-alléliques du gène MUTYH - INCa – avril 2011 (23)

AUTEUR : Nom : BRAHIMI

Prénom : Afane

Date de Soutenance : 04/10/2016

Titre de la Thèse :

Contribution des gènes AXIN2, POLE, POLD1, GREM1 et NTHL1 dans les suspicions de prédisposition au cancer colorectal

Thèse - Médecine - Lille 2016

Cadre de classement : Génétique

DES + spécialité : Génétique médicale

Mots-clés : Prédisposition génétique, cancer colorectal, POLE, POLD1, AXIN2, GREM1, NTHL1

Contexte : L'identification de prédisposition génétique au cancer colorectal (CCR) chez un patient permet de lui proposer une surveillance adaptée, ainsi qu'à ses apparentés. De nombreux cas où une prédisposition est suspectée restent non élucidés après la recherche des syndromes de prédisposition les plus fréquents. Récemment, il a été décrit de nouveaux gènes de prédisposition au CCR, mais leur contribution n'est pas connue.

Méthode : Les analyses suivantes ont été réalisées chez des patients adressés pour suspicion de prédisposition au CCR pour lesquelles les analyses de routine étaient négatives : recherche des mutations récurrentes de *NTHL1*, *POLE* et *POLD1*, recherche de la duplication récurrente de *GREM1*, recherche de mutations du gène *AXIN2*.

Résultats : Deux mutations délétères de *NTHL1* ont été mises en évidence chez un sujet porteur de polypose adénomateuse, ce qui est compatible avec le mode de transmission autosomique récessif de cette prédisposition. Aucune mutation des autres gènes n'a été mise en évidence.

Conclusion : Les nouveaux gènes de prédisposition ont une contribution probablement modérée, mais il est important de les rechercher. Une stratégie de séquençage en panel pourrait avoir un intérêt.

Composition du Jury :

Président : Pr Sylvie MANOUVRIER

Assesseurs : Pr Nicole PORCHET, Pr Marie-Pierre BUISINE, Dr Sophie LEJEUNE