

■P296. RECHERCHE DE MUTATIONS CAUSANT LES MYOPATHIES CENTRONUCLÉAIRES PAR SÉQUENÇAGE HAUT DÉBIT

N. Vasli (1), J. Boehm (1), F. Plewniak (1), N. Haumesser (1), V. Biancalana (2), J.L. Mandel (1, 2), J. Laporte (1)
(1) IGBMC, U964, Illkirch, France ; (2) Laboratoire de diagnostic génétique, Faculté de Médecine, Strasbourg, France
Contact : jocelyn@igbmc.fr

For rare monogenetic disorders, identification of the mutated gene is the compulsory first step towards molecular diagnosis, creation of animal models, and characterization of the pathological mechanisms, and is a prerequisite for most therapeutic approaches. Apart from a few diseases where the defective protein could be guessed from metabolic studies (eg. mutation in an enzyme synthesizing the missing metabolite), most disease genes are identified through a laborious positional cloning strategy requiring extensive informative families. Although such approach was successful, it cannot be applied to rare disorders without informative families that now represent the usual case. We aim to use "sequence capture and high throughput sequencing" with different strategies to screen thousands of candidate genes and alternatively the whole genome to find the gene(s) that are mutated in myopathies. We focus on centronuclear myopathies (CNM), a group of rare muscle diseases typically presenting an abnormal positioning of nuclei in muscle fibers. We have previously been implicated in the identification of the three genes known to be associated to CNM. Mutations in the MTM1 gene encoding a phosphoinositides phosphatase lead to the severe neonatal myotubular myopathy. Mutations in BIN1 (encoding Amphiphysin 2) and DNM2 (Dynamin 2) induce autosomal recessive and dominant forms respectively. A number of patients were not found to carry mutations in the known genes despite classical CNM features. It is conceivable that other genes are implicated in the development of the disease, and this is backed up by our preliminary linkage analysis data. In our project we aim to detect premature stop codon mutation, deletion and point mutations through the use of expression chips for detecting the genes with reduce level of expression, deletion/CGH chip to detect large deletions, and sequence capture followed by high throughput sequencing, respectively. For each of these strategies, we will use different number of patients and controls. We will apply several consecutive bioinformatics filters to discard any variation that is not linked to the disease, and will sequence the best candidate genes through Sanger method in additional patients from our large panel of CNM patients. Finally, we aim to investigate the functional impact of the identified sequence variation(s) by biochemical analysis and cell-based assays. This approach, if successful, could be applied to any rare (and frequent) genetic disorders, both for molecular diagnosis and novel gene identification.

Mots-clés : high throughput sequencing, centronuclear myopathies (CNM).

Maladies complexes

■P297. IDENTIFICATION DE POLYMORPHISMES DU GÈNE *KCNQ5* ASSOCIÉS À LA FONCTION VENTILATOIRE PAR UNE STRATÉGIE MULTI-MARQUEURS EN DEUX ÉTAPES

E. Bouzigon (1), H. Aschard (1), H. Tharrault (1), M.H. Dizier (1), R. Matran (2), F. Kauffmann (3), M. Lathrop (4), F. Demenais (1)
(1) Inserm U946, Paris, France ; (2) Univ Lille Nord de France, Lille, France ; (3) Inserm U780, Villejuif, France ; (4) CEA-CNG, Evry, France
Contact : emmanuelle.bouzigon@inserm.fr

Un précédent criblage du génome réalisé dans les familles de l'étude EGEA (Études des facteurs Génétiques et Environnementaux de l'Asthme) par analyses de liaison génétique, a mis en évidence une liaison entre une mesure de la fonction ventilatoire (VEMS : Volume Expiratoire Maximum Seconde) et la région 6q14. Le signal de liaison détecté était plus significatif chez les germains âgés de plus de 16 ans. Nous avons exploré plus finement cette région en génotypant 399 SNPs (couvrant 30Mb) dans 203 familles (337 germains adultes). Pour réduire le problème des tests multiples, nous avons utilisé une approche en deux étapes basée sur deux méthodes multi-marqueurs : 1) Local Score et 2) FBAT multi-marqueurs (FBAT-M). Cette stratégie a permis la détection de groupes de marqueurs adjacents présentant une aggrégation de scores statistiques élevés tout en prenant en compte le déséquilibre de liaison entre marqueurs. Nous avons identifié cinq marqueurs associés au VEMS (p-values allant de 0,005 à 0,0008) et qui restaient significatifs après correction de Bonferroni. Le groupe de marqueurs le plus significatif était localisé dans le gène *KCNQ5* et incluait 11 SNPs dont quatre étaient fortement associés au VEMS ($p \leq$

0,0007). Ces associations ont été répliquées chez 267 témoins adultes d'EGEA (p-values entre 0.03 et 0.002 pour quatre SNPs). La combinaison des p-values obtenues dans nos deux échantillons par le test de probabilité combinée de Fisher, renforçait l'évidence d'association entre le VEMS et trois SNPs (p-values combinées allant de 6×10^{-4} à 5×10^{-5}). Le gène *KCNQ5* est exprimé dans l'épithélium bronchique et est un déterminant du liquide de surface des voies respiratoires. Il représente donc un gène candidat intéressant de la régulation de la fonction ventilatoire. Financé par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, AFSSET, ANR-CEBS, GABRIEL

Mots-clés : VEMS, association familiale, multi-marqueurs.

■P298. RECHERCHE DE RÉGIONS GÉNOMIQUES ET DE GÈNES CANDIDATS IMPLIQUÉS DANS L'AUTISME

C. Nava (1), C. Depienne (1), B. Keren (2), D. Périssé (3), J. Xavier (3), C. Laurent (3), A. Afejar (4), A. Jacquette (4), S. Whalen (4), W. Carpentier (5), D. Cohen (3), D. Héron (4), A. Brice (1)
(1) CRICM, Inserm UMR_S 975, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) Département de Génétique et Cytogénétique, Unité Fonctionnelle de Cytogénétique, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Service de Psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (4) Département de Génétique et Cytogénétique, Unité Fonctionnelle de Génétique Clinique, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (5) Plate-forme post-génomique P3S, Faculté de médecine Pierre-et-Marie-Curie, Site Pitié-Salpêtrière, Paris, France
Contact : caro.na@wanadoo.fr

Introduction : L'autisme est un trouble neurodéveloppemental précoce altérant la communication, les interactions sociales et les comportements. En dépit de l'évidence d'une forte composante génétique, l'anomalie génétique en cause n'est réellement identifiée que dans 10 % des cas actuellement. Les études récentes ont identifié des microréarrangements génomiques (ou CNV pour Copy Number Variant) *de novo* chez 5 à 10 % des patients autistes contre 1 % dans la population générale. **Objectifs et méthodes :** L'objectif de cette étude était double : 1) identifier des microréarrangements génomiques chez 40 patients atteints d'autisme et de retard mental à l'aide de puces à ADN de haute densité de type SNP et identifier des régions homozygotes chez les patients ayant des parents apparentés dans l'hypothèse d'une pathologie autosomique récessive ; 2) utiliser les résultats de ces deux approches afin de proposer des gènes candidats. **Résultats :** Nous avons identifié une triplification 15q11-q12 et une délétion 9pter chez deux patients (un garçon et une fille). Nous avons également identifié 12 CNV différents chez 9 patients dont la signification reste inconnue ; ces CNV n'étaient pas référencés comme polymorphisme dans les bases de données et contenaient au moins un gène. Dans 7 cas (6 patients), il s'agissait d'un CNV hérité d'un parent asymptomatique, suggérant qu'il n'est pas responsable à lui seul des troubles autistiques. L'étude des parents est en cours pour les 5 autres CNV. D'autre part, l'étude d'une famille consanguine où 2 frères étaient autistes a permis d'identifier 4 régions homozygotes, en 6p21.32, 6q27, 8p21 et 15q13, présentes uniquement chez les atteints. Nous avons étudié 8 gènes candidats situés dans ces régions (GABRG3, CHRNA7, APBA2 et GREM1 en 15q13 et ELP3, PNMA2, CLU et DPYSL2 en 8p21). Cependant aucune mutation délétère n'a été identifiée. En conclusion, cette étude nous a permis d'identifier la cause de l'autisme chez 2 patients sur 40 (5 %) et de proposer de nouveaux gènes candidats à travers 2 approches : la recherche de microréarrangements génomiques et l'étude des régions d'homozygoties chez les patients ayant des parents apparentés. L'interprétation des CNV reste néanmoins délicate, et le rôle des CNV référencés comme polymorphisme dans les bases de données ou n'impliquant pas de gènes mais pouvant toucher des séquences régulatrices ne peut pas être exclu. Une des suites de ce projet sera d'analyser systématiquement des trios (enfant + parents) afin de caractériser en priorité toutes les anomalies survenues *de novo*, plus vraisemblablement causales.

Mots-clés : autisme, copy number variant, homozygotie.

■P299. RENDEMENT ÉTIOLOGIQUE DANS UNE POPULATION D'ENFANTS AUTISTES ISSUS D'UNE BASE GÉOGRAPHIQUE

F. Devillard (1), V. Guinchat (2), B. Assouline (3), M.A. Nguyen-Morel (4), F. Amblard (1), V. Satre (1), F. Prieur (5), R. Touraine (5), P.S. Jouk (1), C. Betancur (6)
(1) Département de Génétique, Hôpital Couple-Enfant, CHU de Grenoble, France ; (2) Psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent, G.H. Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Centre Alpin de Diagnostic Précoce de l'Autisme CADIPA, CH St Egrève, France ; (4) Département de Pédiatrie, Hôpital Couple-Enfant, CHU de Grenoble, France ; (5) Service de Génétique

Clinique, Chromosomique et Moléculaire, CHU de St Étienne, France ; (6) INSERM U952, Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris, France

Contact : fdevillard@chu-grenoble.fr

Entre 2002 et 2005 nous avons étudié des patients nés entre 1985 et 1998 dans une maternité de la région Rhône-Alpes, résidant en Savoie, Haute-Savoie ou Isère et présentant un diagnostic de trouble du spectre de l'autisme. Au total 182 enfants provenant de 179 familles ont été inclus avec un diagnostic d'autisme selon les critères du DSM-IV et présentant tous un ADI-R (Autism Diagnostic Interview - Revised) positif. Tous les patients ont passé une CARS (Childhood Autism Rating Scale) permettant d'évaluer le degré de sévérité du syndrome autistique. Le sexe ratio est de 4:1 (147 M/35 F). 85 % présentent un retard mental. Le bilan étiologique a consisté en une évaluation par un neuropédiatre, une évaluation des photographies par un staff de généticiens, un caryotype sanguin avec recherche des microremaniements par FISH des régions 15q11-q13, 22q11 et 22q13 et éventuellement des régions subtélomériques en présence d'une dysmorphie ou de malformations associées, une recherche d'X fragile, un bilan métabolique, une IRM et un EEG. Ce premier bilan étiologique a été complété par une recherche de microdélétions/microduplications impliquées dans le retard mental ainsi qu'une étude des régions subtélomériques par MLPA pour tous les enfants et une étude du gène MECP2 chez les filles avec retard mental. Les résultats des analyses génétiques ont montré : • 16 anomalies chromosomiques ou génomiques dépistées sur le caryotype ou par MLPA (8,7 %). Elles consistent en 4 anomalies gonosomiques et 5 remaniements autosomiques dépistés sur le caryotype, 4 anomalies génomiques dépistées par FISH (Angelman, Prader-Willi, Di George, Wolf-Hirschhorn) et 3 anomalies génomiques dépistées par MLPA (duplication 17p11.2, délétion 17q21.31, duplication Xq28). • 7 diagnostics de syndrome X Fragile (3,8 %) • 4 diagnostics de syndromes géniques (2 %) confirmés par biologie moléculaire (syndrome de Cohen, syndrome de Nance-Horan et deux syndromes de Rett). Au total un diagnostic a été identifié dans 26 familles/179 soit dans 14,5 %. Les résultats de cette étude confirment le nombre important de maladies génétiques rares associées à l'autisme, incluant des maladies monogéniques, des anomalies chromosomiques, des microdélétions et microduplications. Des délétions et duplications ont pu être détectées chez des patients sans un phénotype spécifique grâce au screening systématique par MLPA. Tous les patients avec un trouble du spectre de l'autisme devraient donc bénéficier d'un bilan étiologique afin d'identifier les causes génétiques connues.

Mots-clés : autisme, étiologie, génétique.

■P300. WHOLE GENOME ANALYSES OF DYSLEXIA AND SPECIFIC LANGUAGE IMPAIRMENT

G. Huguet (1), N. Lemiere (1), R. Toro (1), C. Bogliotti (3), S. Ianuzzi (6), Y. Chaix (6), C. Billard (4), C.L. Gerard (5), J.F. Demonet (6), J. Ziegler (7), I. Soares-Boucaud (8), S. Valdois (9), F. Ramus (3), T. Bourgeron (1, 2), F. Fauchereau (1, 2)

(1) Laboratoire de Génétique Humaine et Fonctions Cognitives, Institut Pasteur, Paris, France ; (2) Université Paris Diderot Paris 7, Paris, France ; (3) Laboratoire de Sciences Cognitives et Psycholinguistique (EHESS/CNRS/DEC-ENS), Paris, France ; (4) Hôpital du Kremlin-Bicêtre, France ; (5) Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (6) CHU Purpan, Toulouse, France ; (7) Hôpital La Timone, Marseille, France ; (8) Hôpital Edouard-Herriot, Lyon, France ; (9) CHU Grenoble, Grenoble, France

Contact : fabienf@pasteur.fr

Developmental dyslexia is defined as a specific and significant impairment in the development of reading skills that is not solely accounted for by mental age, visual acuity problems, or inadequate schooling. Specific language disorder is a developmental disorder in which the child's ability to use expressive spoken language and/or understanding of language is below the appropriate level for its mental age. Our aim is to better understand the contribution of genes to the development of these two language impairments. Previously, linkage and association studies have allowed the identification of 9 loci in dyslexia and the proposition of candidate genes, such as KIAA0319, TTRAP, DCDC2, and DYX1C1. The identification of genes involved in dyslexia is still restricted to FOXP2. Our strategy has been to use high-throughput genotyping of cohorts of controls and patients. The collaboration of several centres in France allowed the recruitment of 171 dyslexic patients, 45 patients with dysphasia, 407 siblings and parents, and 92 non-affected controls. For each of them, DNA was studied using Illumina 660K Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) arrays. These arrays allow both the genotyping of SNPs and the identification of Copy Number Variations. After genotyping, we will conduct association studies between genotyped SNPs and Copy Number Variations, and language impairments, in order to find new candidate genes.

Mots-clés : langage, disorder, arrays.

■P301. TACKLING THE GENETIC DIVERSITY OF AUTISM SPECTRUM DISORDERS

M. Konyukh (1), C. Leblond (1), R. Delorme (2), R. Toro (1), C. Gillberg (3), M. Leboyer (4), T. Bourgeron (1)

(1) Institut Pasteur, Université Paris 7, CNRS URA 2182, Paris, France ; (2) Hôpital Robert Debré, Paris, France ; (3) Department of Child and Adolescent Psychiatry, Göteborg University, Göteborg, Sweden ; (4) INSERM U513, Faculté de Médecine, Université Paris XII, Créteil, France

Contact : thomasb@pasteur.fr

Autism spectrum disorders (ASD) can be diagnosed by the age of 3 years based on alterations of three behavioral domains: social deficits, impaired language and communication skills, and stereotyped and repetitive behaviors. Beyond this seemingly unifying definition, lies an extreme degree of clinical heterogeneity, ranging from severe impairments to mild personality traits. Hence autism is not a single disease entity, but rather a complex phenotype encompassing either multiple "autistic disorders", or a continuum of autistic-like traits and behaviors, which includes autistic disorder, pervasive development disorder not otherwise specified and Asperger syndrome. Only in approximately 10 % of the affected individuals, autism is associated to a known genetic disorder, such as chromosomal rearrangement, fragile X syndrome, tuberous sclerosis, and neurofibromatosis. Most of the time the etiology of the disorder remains unknown, and in all cases no efficient therapy can be proposed to the families. Using the Illumina platforms of the Centre National de Génotypage (CNG) and the newly implemented platform at the Pasteur Institute, we have already genotyped 400 patients with ASD. The Human1M Bead-Chip specifically targets genes, tag SNPs, CNVs, and other high-value genomic regions, offering the most comprehensive genotyping available on a single microarray. The data generated by this high-throughput analysis is then used to perform whole genome linkage/association analyses and to detect copy number variants (CNVs) in the patients. The genotyping was performed in two phases. In the first phase, only the probands were genotyped. In the second phase the relatives of a subgroup of patients with compelling CNVs were genotyped. To better analyze the CNV, we also developed a genome viewer named SnipPeep that will be demonstrated during the presentation. Using this approach we could confirm the implication of the NRXN-NLGN-SHANK synaptic pathway in ASD. Furthermore, we could identify new susceptibility genes for ASD. Taken together, these results illustrate the genetic heterogeneity of ASD, but also shed light on common pathways altered in subgroups of patients with ASD.

Mots-clés : autism, SNP, CNV.

■P302. ÉTUDE GENESIS : DEUX ANS D'INCLUSION !

S. Eon-Marchais (1), M. Marcou (1), L. Toulemonde (1), M.G. Dondon (1), J. Beauvallet (1), F. Toribio (1), L. Barjhoux (2), C. Vernet (2), E. Cavaciuti (1), V. Bonadona (3), H. Sobol (4), C. Noguès (5), O. Caron (6), P. Berthet (7), C. Bonaiti (8), M.C. Babron (8), O. Sinilnikova (2), N. Andrieu (1), D. Stoppa-Lyonnet (9) pour GENESIS – groupe « Génétique et Cancer »

(1) Inserm U900, Mines ParisTech, Institut Curie, Paris, France ; (2) Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon, UMR5201 CNRS, Centre Léon-Bérard, Lyon, France ; (3) UMR CNRS 5558, Centre Léon Bérard, Lyon, France ; (4) Département d'Oncologie Génétique de Prévention et Dépistage, Inserm EMI 9939, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France ; (5) Laboratoire d'Oncogénétique, Centre René-Huguenin, Saint-Cloud, France ; (6) Consultation d'Oncogénétique, Département de Médecine, Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France ; (7) Service d'Oncologie Génétique, Centre François-Baclesse, Caen, France ; (8) Inserm U535, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France ; (9) Inserm U830, Université Paris Descartes, Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France

Contact : severine.eonmarchais@curie.net

Contexte et Objectifs- Le cancer du sein (CS) est une pathologie qui concerne environ 10 % des femmes. Deux gènes, BRCA1 et BRCA2, ont été identifiés (Miki et al. 1994, Wooster et al. 1995) ; leurs mutations sont impliquées dans environ 5 % des CS et seulement 15 à 20 % des cas familiaux testés. 80 % des cas familiaux restent inexplicables. L'étude GENESIS a été mise en place pour identifier de nouveaux gènes de prédisposition et évaluer leur rôle dans l'apparition d'un CS ainsi que celui de facteurs non génétiques qui pourraient modifier leur effet. Ceci permettrait une meilleure prise en charge des femmes à risque. Nous proposons de présenter l'état d'avancement et un descriptif intermédiaire de GENESIS. Données et Méthodes- GENESIS combine une étude de liaison génétique non paramétrique chez des paires de sœurs atteintes de CS, non porteuses d'une mutation des gènes BRCA et une étude d'association avec deux groupes témoins : sœurs indemnes et proches non apparentées (amies, collègues). L'effectif attendu est 1 000 paires de sœurs et



4 000 témoins. Les diverses étapes du protocole sont coordonnées par le Centre Coordonnateur* et le Centre de Ressources Biologiques#. Les cas index sont invités par les consultants en génétique du Groupe Génétique et Cancer de la Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer. Le recueil de caractéristiques phénotypiques des cas (densité mammaire, caractéristiques tumorales etc.) permettra de définir des endophénotypes et de diminuer ainsi l'hétérogénéité génétique au sein de la population d'étude. Des données épidémiologiques (facteurs gynéco-obstétriques, traitements hormonaux, habitudes tabagiques actives et passives, expositions aux radiations etc.) et des échantillons sanguins sont collectés. La densité mammaire est calculée avec le logiciel « Cumulus » après numérisation des mammographies précédant le diagnostic de CS ou des dernières mammographies pour les témoins indemnes. État d'avancement – En septembre 2009, 1022 cas index, 541 sœurs atteintes, 385 sœurs indemnes et 922 amies ont accepté de participer et ont reçu un dossier d'inclusion. 75 % ont renvoyé leur questionnaire, 78 % ont fait leur prélèvement sanguin, 70 % ont fourni des mammographies qui ont pu être numérisées. Perspectives – Un peu plus de la moitié des cas index inclus ont une sœur atteinte qui participe à l'étude. 1 820 cas index doivent donc être inclus pour atteindre l'objectif des 1 000 paires de sœurs atteintes. La dynamique d'inclusion des cas index doit s'accélérer, en particulier par l'invitation des cas « prospectifs », lors de la remise de leur résultat BRCA1/2 négatif. Le protocole de l'étude GENEGO portant sur les caractéristiques tumorales de GENESIS est en cours d'élaboration. Des études intermédiaires sur des gènes ou pathways « candidats » seront bientôt proposées. Remerciements – GENESIS est soutenue par la Ligue Nationale Contre le Cancer depuis 2006 et par l'Institut National du Cancer depuis 2008.

Mots-clés : cancer du sein, gènes de prédisposition, interaction gène-environnement.

■P303. CANCER DU POUMON ET GÈNES DE RÉPARATION DE L'ADN : ASSOCIATION SIGNIFICATIVE AVEC MSH5 ET INTERACTION POTENTIELLE ENTRE LE TABAC ET RAD54B

R. Kazma (1, 2), E. Génin (2, 3), V. Gaborieau (4), M.C. Babron (2, 3), P. Brennan (4), R.J. Hung (5), H. Krokan (6), A. Metspalu (7), J.K. Field (8), M. Lathrop (9, 10), A. Sarasin (10), S. Benhamou (2, 3, 11) et le consortium ILCCO

(1) Univ Paris-Sud, Faculté de Médecine, Le Kremlin Bicêtre, France ; (2) Inserm UMR-S946, Fondation Jean Dausset – CEPH, Paris, France ; (3) Univ Paris-Diderot, Paris, France ; (4) International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon, France ; (5) University of California at Berkeley, Berkeley, California, USA ; (6) Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, Norway ; (7) Institute of Molecular and Cell Biology, University of Tartu, Tartu, Estonia ; (8) University of Liverpool Cancer Research Center, Liverpool, United Kingdom ; (9) Centre National de Génotypage, Commissariat à l'Énergie Atomique, Evry, France ; (10) Fondation Jean Dausset – CEPH, Paris, France ; (11) CNRS FRE2939, Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France
Contact : remi.kazma@inserm.fr

Le cancer du poumon est la première cause de décès par cancer dans le monde. Bien que le tabac soit le principal facteur de risque de cancer du poumon, des facteurs génétiques contribuent probablement au développement de ce cancer. En particulier, des polymorphismes sur des gènes de réparation de l'ADN sont de bons candidats de par leur rôle fondamental dans la réparation des lésions induites par les carcinogènes du tabac. En outre, ces polymorphismes pourraient moduler l'effet du tabac sur le risque de cancer du poumon par des interactions gène-environnement. Afin d'évaluer le rôle de 1 823 substitutions nucléotidiques (Single Nucleotide Polymorphisms : SNPs) dans ou à proximité de 233 gènes de réparation de l'ADN, ainsi que leurs interactions avec l'exposition au tabac, nous avons regroupé les données individuelles de 6 études d'association pangénomiques récentes comportant au total 3 416 cas de cancer du poumon et 4 374 témoins. Nous avons mis en évidence une augmentation significative du risque de cancer du poumon associé au SNP rs3131379 du gène MSH5 ($P = 3,57 \times 10^{-5}$) avec un odds ratio (OR) de 1,30 (Intervalle de Confiance (IC) à 95 % : 1,15-1,47) en supposant un modèle co-dominant. Par ailleurs, l'effet de ce SNP varie significativement selon le type histologique ($P = 9,1 \times 10^{-3}$) : le risque est plus élevé pour les cancers épidermoïdes (OR = 1,52, IC 95 % : 1,28-1,80) que pour les adénocarcinomes (OR = 1,04, IC 95 % : 0,84-1,30) ou les autres types histologiques (OR = 1,31, IC 95 % : 1,09-1,57). Les analyses d'interaction avec le tabac ont mis en évidence des différences de risque de cancer du poumon pour le polymorphisme rs293096 du gène RAD54B ; le test d'interaction n'était cependant pas significatif après correction pour les tests multiples ($P = 2,31 \times 10^{-4}$) avec un coefficient d'interaction estimé de 1,54 (IC 95 % : 0,78-2,95). Comparé au génotype de référence T/T, le risque de cancer du poumon est de 0,79 (IC 95 % : 0,59-1,05) pour le génotype T/C et de 0,43 (IC 95 % :

0,25-0,73) pour le génotype C/C chez les non-fumeurs et de 1,10 (IC 95 % : 0,98-1,25) et 1,13 (IC 95 % : 0,94-1,36) respectivement chez les fumeurs. Nos résultats confirment une association précédemment rapportée avec le variant rs3131379 du gène MSH5 et des estimations de risque similaires. Ce gène code pour un membre de la famille de protéines MutS impliquées dans la réparation des mésappariements ainsi que dans les processus de recombinaison mitotique et méiotique. RAD54B est une ATPase ADN-dépendante également impliquée dans la réparation homologue mitotique et méiotique. Des mutations homozygotes de ce gène ont été décrites en association avec différents cancers. En conclusion, nos résultats suggèrent un rôle de la réparation de l'ADN par recombinaison dans la susceptibilité individuelle au cancer du poumon.

Mots-clés : cancer du poumon, gène candidat, interaction gène-environnement.

■P304. RECHERCHE DES GÈNES IMPLIQUÉS DANS LE PROLAPSUS VALVULAIRE MITRAL SUR LE LOCUS DU CHROMOSOME 16

M. Perrocheau-Garaud (1), D. Molière (2), A. Hagège (3), X. Jeunemaitre (1, 2)

(1) INSERM U970, PARCC, Paris, France ; (2) Service de Génétique, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France ; (3) Service de Cardiologie, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France

Contact : xavier.jeunemaitre@inserm.fr

Le prolapsus valvulaire mitral idiopathique (MMVP), encore appelé maladie de Barlow, est une pathologie cardiaque fréquente caractérisée par une dégénérescence myxoïde des feuillets valvulaires mitraux qui conduit au prolapsus de la valve. La plupart des PVM sont sporadiques mais il existe des formes familiales de la maladie. Quatre loci ont été identifiés à ce jour. Parmi eux, le locus MMVP1 localisé sur le chromosome 16p11-12, a été identifié à partir de 2 familles françaises (Disse *et al.* Am J Hum Genet 1999). Ce locus relativement large (15 cm) comprend 185 gènes mais aucun gène responsable n'a été identifié à ce jour. L'objectif de ce travail est de tester des gènes candidats positionnels pertinents. Six gènes candidats ont été testés par séquençage direct des régions codantes et des bornes intron-exon. Pour chaque gène, 2 patients atteints et 2 patients non atteints issus des 2 familles liées au locus MMVP1 ont été testés, ainsi que 46 cas-index de familles plus limitées et non-informatives. Trois gènes (Nomo1, Nomo2 et Nomo3) ont été sélectionnés. Ils appartiennent à la famille des modulateurs Nodal qui interagissent avec des protéines de la famille des TGF- β , connues pour jouer un rôle important dans la formation des valves cardiaques et dans la régulation de l'expression des gènes du collagène et de la matrice extracellulaire. Les gènes Nomo1, Nomo2 et Nomo3, localisés respectivement en 16p13.11, 16p12.3 et 16p13.11, s'étendent sur approximativement 63 kb et contiennent chacun 30 exons. Aucune mutation n'a été identifiée dans la région codante de ces gènes. Seuls ont été retrouvés des polymorphismes connus et des variants rares non codants. Nous avons également analysé 3 membres de la famille des heparan sulfate sulfotransférase (HS3ST1, HS3ST2 et HS3ST4) qui régulent la synthèse des protéoglycanes à heparan sulfate. Les gènes HS3ST2 et HS3ST4 sont localisés en 16p12 et s'étendent approximativement sur 123 kb. Chacun est composé de 2 exons séparés par un large intron. Pour ces 3 gènes, l'analyse génétique est également négative et aucune mutation pathogénique n'a été identifiée. Cette étude illustre la difficulté pour identifier le gène causal dans une maladie lorsque l'intervalle de liaison est large en raison du grand nombre de gènes à analyser. L'extension de familles liées au chromosome 16p ainsi que l'analyse de nouvelles familles informatives sont requises pour affiner l'intervalle de liaison MMVP1.

Mots-clés : prolapsus valvulaire mitral, gènes candidats, séquençage.

■P305. DYSFONCTIONNEMENT DU SYSTÈME IMMUNITAIRE DANS LES MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DE L'INTESTIN

R. Marrakchi, A. Benamar Elgaaid
Laboratoire de Génétique, Immunologie et Pathologies Humaines, Faculté des Sciences de Tunis, Université ElManar, Tunisie

Contact : raja.triki@laposte.net

Les maladies inflammatoires sont causées par des dérèglements du système immunitaire dans lesquels des réponses excessives sont provoquées par certains lymphocytes effectrices et les médiateurs qu'ils sécrètent. La maladie de Crohn (MC) et la recto-colite hémorragique (RCH), sont deux affections distinctes pour lesquelles les stratégies thérapeutiques sont différentes. Le gène NOD2/CARD15 a été identifié comme un gène susceptible de MC. Les rôles de NOD2/CARD15 dans la reconnaissance des

bactéries par le macrophage et dans la régulation de NF- κ B et des cytokines font de ce gène un acteur clef de la réponse immunitaire naturelle. L'activation par NOD2 du facteur transcriptionnel NF- κ B est suivie de la pénétration de ce dernier dans le noyau de la cellule, ce qui entraîne l'expression de nombreux gènes dont ceux des cytokines inflammatoires, qui sont responsables de l'inflammation. Notre travail consiste à étudier le polymorphisme du promoteur d'IL-10 à la position -627 et -1117 chez les maladies ayant la maladie de Crohn et les malades ayant la RCH ; cette étude est complétée par une comparaison entre les groupes de malades porteurs et non porteurs de la mutation 3020insC de CARD15. Nos résultats ont permis de mieux définir les bases immunologiques et génétiques de la susceptibilité des MICI, et aboutir ainsi à une meilleure compréhension des mécanismes de la MC à travers de ses marqueurs moléculaires et immunitaires les plus puissants NOD2/CARD15 et ASCA et l'expression de IL-10.

Mots-clés : NOD2/CARD15, MICI, IL-10.

■P306. ANALYSE DU GÈNE *BTNL2* (BUTYROPHYLLIN-LIKE2) DANS UNE LARGE COHORTE DE FAMILLES FRANÇAISES PRÉDISPOSÉES À LA SARCOÏDOSE

A. Calender (1, 2), R. Lamy (1), M.H. Castaldi (3), M. Gourin (4), G. Devouassoux (3), D. Valeyre (5), P. Roy (6), S. Lebecque (7), Y. Pacheco (3)

(1) Service de Génétique, Hôpital Édouard Herriot, CHU de Lyon, France ; (2) CNRS UMR 5201, Université Claude-Bernard Lyon 1, France ; (3) CHU de Lyon, Service de Pneumologie Lyon Sud, France ; (4) HC Forum, Grenoble, France ; (5) Service de Pneumologie et Médecine Interne, Hôpital Avicenne, Bobigny, France ; (6) Service de Biostatistiques et CNRS UMR 5558, CHU de Lyon, France ; (7) CNRS UMR 5201, Immunologie et Oncogénèse, Université Claude Bernard Lyon 1, France

Contact : alain.calender@chu-lyon.fr

La sarcoïdose ou maladie de Besnier-Boeck-Schauman est une pathologie inflammatoire systématisée commune, de fréquence mal définie, caractérisée par une lymphogranulomatose essentiellement pulmonaire, mais pouvant affecter l'ensemble des organes, œil, peau, cœur, reins, glandes salivaires, foie, rate et tout système riche en ganglions lymphatiques. Même si elle considérée comme bénigne, la sarcoïdose évolue en insuffisance respiratoire sévère dans 20 % des cas, conditionnant le pronostic vital. Cette affection est le plus souvent de présentation a priori sporadique, et dans 5 % des cas familiale sur un mode apparent autosomique dominant. Le caractère multifactoriel est démontré sur la base d'études épidémiologiques, la prévalence variant en fonction de l'ethnie, de l'âge, de facteurs infectieux ou d'exposition toxique (beryllium) mais aussi héréditaires. Dans les formes familiales, plusieurs gènes de prédisposition, d'influence probablement modérée, ont été mis en évidence ces dernières années. Parmi eux, le gène *BTNL-2* (butyrophyllin-like 2) code une protéine de la superfamille des immunoglobulines, à localisation membranaire, avec possibilité de clivage d'un facteur soluble, dont la fonction principale semble la régulation négative de la réponse des cellules T à la présentation de l'antigène par les cellules dendritiques. *BTNL-2* est proche par cette fonction de CD86. Un SNP (Single Nucleotide Polymorphism) référencé rs2076530 avait été préalablement identifié comme une probable mutation causale des formes familiales, cette substitution en position -1 d'un site donneur dans l'intron 5 du gène, induisant l'activation d'un site cryptique d'épissage 4 paires de base en amont dans l'exon 5, et de ce fait une délétion de type frameshift et une troncation de la protéine codée par l'ARN muté. La forme mutée de *BTNL-2* (forme S) pourrait générer une libération constitutionnelle du facteur soluble et en conséquence une dérégulation de la présentation de l'antigène, et au final la réponse inflammatoire. Afin d'étudier la causalité de cette anomalie génétique dans la prédisposition génétique, nous avons collecté dans le cadre d'un projet collaboratif national (PHRC) une large série de familles présentant 2 cas ou plus de sarcoïdose liés au premier degré et évalué le risque relatif (RR) associé à la présence du SNP pathogène rs2076530. L'étude porte sur 236 patients sarcoïdosiens, dont près de 120 associés à une forme familiale, 116 cas a priori sporadiques et en comparaison à 172 témoins. Nos données suggèrent que le risque relatif associé à cette mutation est faible (RR < 1,5) mais significatif, mais surtout que la présence d'un génotype homozygote muté pour le SNP rs2076530 est fréquemment retrouvée dans les familles avec plus de 2 cas, suggérant la possibilité d'un effet soit ancestral, soit de consanguinité ancienne dans certaines familles et ethnies spécifiques. L'intérêt clinique de l'analyse de *BTNL-2* est discuté sur la base de ces résultats.

Mots-clés : gène candidat, multigénique, maladies multifactorielles.

■P307. APPORT DE LA BIOPSIE MUSCULAIRE AU DIAGNOSTIC DES MALADIES MITOCHONDRIALES

L.A. Vincent (1), M. Louha (1), S. Filaut (1), I. Lemièrre (1), P. Laforêt (2), N. Romero (3), A. Lombès (4), B. Hainque (1), C. Jardel (1, 4)
(1) APHP, Biochimie métabolique, centre de génétique moléculaire et chromosomique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) APHP, Centre de Référence de pathologie neuromusculaire Paris-Est, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Laboratoire de pathologie musculaire Risler, Institut de Myologie, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (4) INSERM, UMRS 975, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France
Contact : claud.jardel@psl.aphp.fr

Les maladies mitochondriales constituent un ensemble très hétérogène de pathologies dû à un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire, dont le diagnostic est difficile. Évoqué devant la présentation clinique et l'augmentation du lactate (sang et/ou LCR), la démarche diagnostique au laboratoire repose sur l'examen anatomopathologique de la biopsie musculaire, puis sur la mesure des activités de la chaîne respiratoire (ASCR) et/ou l'étude par génétique moléculaire de l'ADN mitochondrial (ADNmit) ou de gènes nucléaires impliqués dans cette maladie. L'objet de ce travail rétrospectif est de comparer l'apport de ces différentes investigations dans le cheminement diagnostique. Matériel et méthodes : nous avons analysé les résultats obtenus sur les 1 962 biopsies musculaires de patients de 0 à 88 ans, adressés au laboratoire du groupe hospitalier pitié salpêtrière pour suspicion de maladie mitochondriale, entre 1992 et 2007. Les analyses réalisées étaient la morphologie musculaire (n = 1201), ASCR (n = 1221), la recherche de délétion de l'ADNmit par Southern Blot ou PCR longue (n = 1029), la recherche de mutations ponctuelles de l'ADNmit par DGGE ou séquençage (n = 527), le screening par séquençage de gènes nucléaires impliqués dans la maintenance de l'ADNmit (POLG, DGUOK, TK2, sur1) Résultats : 507 patients présentaient des anomalies mitochondriales caractéristiques (Ragged Red Fibers, fibres COX-) ; elles étaient accompagnées de diminution isolée ou combinée des ASCR dans environ 50 % des cas ; 61 patients (16 %) sur 372 analysés présentaient une délétion de l'ADNmit tandis que 69 patients (24 %) sur 290 étudiés présentaient une mutation pathogène de l'ADNmit ; parmi les patients présentant des anomalies modérées (n = 313) ou ayant une morphologie normale (n = 276) une anomalie de l'ADNmit n'était trouvée que chez 20 patients (5 délétions et 15 mutations ponctuelles). Au total le diagnostic moléculaire a pu être posé pour 304 patients, soit 15 % des patients adressés pour suspicion de maladies mitochondriales ; le rendement diagnostique est amélioré dans le groupe des patients avec déficit isolé ou combiné de la chaîne respiratoire (24 %) ou avec une morphologie musculaire évocatrice (40 %). Conclusion : ce travail illustre la difficulté du diagnostic biologique des maladies mitochondriales et met en évidence la nécessité de disposer d'une biopsie musculaire dont l'analyse permet de considérablement améliorer le rendement du diagnostic génétique en particulier chez l'adulte.

Mots-clés : diagnostic, mitochondrie, biopsie musculaire.

■P308. SEARCHING FOR GENETIC VARIANTS INVOLVED IN THE PROGRESSION OF CEREBRAL DEMYELINATION IN X-LINKED ADRENOLEUKODYSTROPHY (ALD): A WAY TO IMPROVE HEMATOPOIETIC STEM-CELL TRANSPLANTATION

M. Barbier (1), O. Ahouansou (1), M. Asheuer (1), I. Dijkstra (2), R. Ofman (2), C. Trainor (3), S. Kemp (2), P. Aubourg (1)
(1) UMR745, Faculty of Pharmacological and Biological Sciences, University Paris-Descartes, Paris, France ; (2) Academic Medical Center, University of Amsterdam, The Netherlands ; (3) Laboratory of Molecular Biology, NIDDK, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA
Contact : mathieu.barbier@inserm.fr

ALD is a severe neurodegenerative disease, characterized by a progressive demyelination within the central and peripheral nervous system, adrenal insufficiency (Addison's disease) and accumulation of very-long-chain fatty acids (VLCFA) in plasma, fibroblasts and tissues. Sixty-five percent of patients with ALD develop lethal cerebral demyelination (or cerebral ALD) that can however be arrested by allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation (HSCT), provided the procedure is performed at an early stage of the disease. The narrow therapeutic window during which HSCT has beneficial effects in ALD patients and the lack of biomarkers to predict disease evolution have hampered the indication of HSCT in patients with more advanced stage of cerebral ALD. Any additional therapy allowing to slow down the progression of cerebral demyelination at time of HSCT would be in addition valuable. ALD is a X-linked disease resulting from mutations in the *ABCD1* gene. In male, ALD is fully penetrant after 45 years of age, but there is no correlation between the disease evolution and *ABCD1* mutations. Since not all patients with ALD develop cerebral demyelination, this prompted us to search for gene variants that could play

a role in the progression/onset of cerebral demyelination. Among them, ELOVL1, coding for an elongase involved in the synthesis of VLCFA, appears to be a promising gene. We genotyped ELOVL1 polymorphisms in controls and patients with AMN (adult ALD patients who do not develop cerebral demyelination) or cerebral ALD. We detected a polymorphism in the ELOVL1 promoter associated with a significant risk to develop cerebral ALD ($P = 0.017$, $OR = 2.092$). Studies are underway to demonstrate the functional role of this variant in the synthesis of VLCFA. The identification of this polymorphism could help to identify which ALD patients are the most at risk to aggravate cerebral demyelination at time of HSCT and pave the way to develop pharmacological approaches to decrease synthesis of VLCFA within the brain in order to slow down cerebral demyelination after HSCT.

Mots-clés : adrenoleucodystrophie, génétique.

■P309. GÈNES MODIFICATEURS ET HÉMOCHROMATOSE LIÉE AU GÈNE HFE : INFLUENCE DE VARIANTS RARES SITUÉS DANS LA RÉGION PROMOTRICE DU GÈNE CODANT L'HEPCIDINE (HAMP) SUR L'EXPRESSION PHÉNOTYPIQUE DU GÉNOTYPE P.C282Y/P.C282Y

G. Le Gac (1), C. Ka (1), I. Gourlaouen (1), B. Héroult (2), B. Martin (3), V. Scotet (1), C. Férec (1)

(1) Inserm U613, Établissement Français du Sang, Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité du CHU, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France ; (2) Établissement Français du Sang, Tours, France ; (3) Établissement Français du Sang, Niort, France

Contact : gerald.legac@univ-brest.fr

Introduction : Il est aujourd'hui parfaitement admis que la pénétrance du génotype HFE p.C282Y/p.C282Y est incomplète. Cette constatation prévaut sur une définition clinique de l'hémochromatose, mais elle est également valable si on considère des marqueurs biologiques. L'identification de gènes modificateurs a fait l'objet de nombreuses études. Pour l'essentiel, ces études ont été basées sur l'analyse de variants fréquents situés dans des gènes susceptibles d'influencer directement la surcharge en fer ou de produire un effet synergique sur la constitution d'une fibrose hépatique. Des effets significatifs ont été révélés par plusieurs équipes, mais ces effets n'ont que très rarement été répliqués. Dans cette étude, nous rapportons l'influence de deux variations rares sur l'expression phénotypique du génotype p.C282Y/p.C282Y. Ces variations sont localisées dans la partie promotrice du gène HAMP. L'une est localisée au niveau du point +1 de transcription (c.-72 C>T), l'autre se situe à l'intérieur d'une séquence de 6 pb qui joue un rôle fondamental dans la régulation de la synthèse hépatique d'hepcidine en fonction des quantités de fer présent dans l'organisme (c.-153 C>T). Cette régulation s'articule autour d'une voie de signalisation cellulaire de type BMP/Smad qui implique l'hémojuvénine et la protéine circulante BMP6. Résultats : Phénotypes observés Les variations c.-72 C>T et c.-153 C>T ont été identifiées à l'état hétérozygote chez deux femmes, âgées respectivement de 49 et 47 ans. Au moment du diagnostic, ces deux femmes présentaient des phénotypes comparables : coefficient de saturation de la transferrine supérieur à 90 % (92 vs 99) et ferritine sérique supérieure à 1 200 µg/L (1 282 vs 1 234). L'existence d'une surcharge en fer importante avait été confirmée par l'évaluation de la quantité de fer soustraite par phlébotomie (3,6g dans les deux cas). Une comparaison avec les données observées chez des femmes homozygotes pour la mutation p.C282Y et appartenant à la même classe d'âges (45-50 ans ; $n = 35$), permettait de compléter nos observations et de qualifier les phénotypes observés de sévères. Tests fonctionnels : Nous avons estimé l'activité promotrice du gène HAMP en clonant la séquence de type sauvage et les séquences mutées dans le vecteur pGL3. Des mesures de l'activité luciférase ont permis d'établir que la variation c.-72 C>T provoque une réduction significative de l'activité basale du promoteur (baisse de 35 %), alors que la variation -153 C>T modifie l'activité basale du promoteur (baisse de 60 %) tout en le rendant insensible à une stimulation par l'hémojuvénine et/ou BMP6. Conclusion : Il existe une cohérence entre les résultats des tests fonctionnels, la localisation des variants et les données de la littérature. De fait, notre étude confirme l'intérêt d'une recherche de variants rares dans le contexte de phénotypes extrêmes et incite à une étude plus approfondie des gènes impliqués dans la régulation de la synthèse hépatique d'hepcidine.

Mots-clés : hémochromatose, pénétrance, gènes modificateurs.

■P310. APOE EPSILON4 INCREASES THE RISK OF BULBAR-ONSET AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS IN MEN

J. Praline (1, 2), P. Vourc'h (1, 3), H. Blasco (1, 3), M.A. Garrigue (3), P.H. Gordon (4), W. Camu (5), P. Corcia (1, 2), C.R. Andres (1, 3) and The French ALS Study Group (6)

(1) UMR INSERM U930, Université François-Rabelais, Tours, France ; (2) Centre SLA, Service de Neurologie et Neurophysiologie Clinique, CHRU de Tours, France ; (3) Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital Bretonneau, CHRU Tours, France ; (4) Northern Navajo Medical Center, Shiprock, New Mexico, USA ; (5) Centre SLA, Hôpital Gui-de-Chauliac, CHU Montpellier, France ; (6) French ALS study group : F. Dubas and G. Nicolas (Angers), L. Rumbach (Besançon), P. Clavelou, N. Guy (Clermont-Ferrand), G. Besson (Grenoble), A. Destée and V. Brunaud-Danel (Lille), P. Couratier (Limoges), E. Broussolle, C. Vial and N. Vandenberghe (Lyon), W. Camu and N. Pageot (Montpellier), M. Debouverie (Nancy), C. Desnuelle (Nice), A. Lagueny, G. Lemasson and E. Salort (Bordeaux), V. Meininger, F. Salachas, P.-F. Pradat, M. Dib, G. Bruneteau and N. Leforestier (Paris), J. Pouget, D. Lardiller and A. Verschuren (Marseille), F. Viader and L. Carlier (Caen), C. Tranchant, A. Echaniz-Laguna (Strasbourg), J.-C. Antoine and J.P. Camdessanché (Saint-Etienne), M.-C. Arne-Bes and P. Cintas (Toulouse), P. Corcia and J. Praline (Tours), France

Contact : helene.blasco@univ-tours.fr

Objective. We examined the APOE alleles in a large cohort of patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis (SALS) to determine whether APOE is a susceptibility or modifying factor for SALS. Methods. Clinical data and blood samples were obtained from 1,546 patients with SALS and 955 controls. The APOE polymorphisms were determined and analysed by univariate and multivariate statistics, taking into account gender, site and age-at-onset. Results. We did not observe differences in genotypes or allele frequencies of the APOE gene between SALS and control groups. Patients with bulbar-onset were more likely to be women (odds ratio (OR) = 2.17 ; CI 95 % : 1.74-2.72), and to be older (OR = 3.47 comparing the oldest group to the youngest ; CI 95 % : 2.58-4.67). There was a significant difference in the distribution of APOE epsilon4 carriers between patients with limb and bulbar-onset (OR = 1.39 bulbar versus limb-onset ; CI 95 % : 1.08-1.80), which was due to differences among male patients (OR = 1.78 ; CI 95 % : 1.25-2.53). Interpretation. The APOE epsilon4 allele is a risk factor for bulbar-onset ALS among men. We propose that men are normally protected by androgens against bulbar-onset and that the epsilon4 allele inhibits this protection, perhaps by interfering with the androgen pathway. Furthermore, the general epidemiology of bulbar onset ALS is compatible with this "androgen protection" hypothesis. APOE genotype needs to be considered during randomization in clinical trials and men carrying the APOE epsilon4 allele could benefit from specific therapeutic approaches.

Mots-clés : APOE, amyotrophic lateral sclerosis.

■P311. RÔLE DU GÈNE WFS1 DANS L'ASSOCIATION DIABÈTE DE TYPE 2 ET SURDITÉ NEUROSENSORIALE DANS LA POPULATION FRANÇAISE

S. Ait el mkadem (1, 2), S. Bannwarth (1, 2), R. Attaoua (3), F. Grigorescu (3), B. Vialettes (4), S. Mutz (1), B. Chafino (1), V. Paquis-Fluckinger (1, 2) (1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, département de Génétique Médicale, Hôpital de l'Archet 2, Nice, France ; (2) FRE 3086 CNRS/UNSA, Faculté de Médecine, Université de Nice Sophia-Antipolis, France ; (3) Laboratoire d'Endocrinologie Moléculaire (UMR 204), IURC, Université de Montpellier 1, Montpellier, France ; (4) Département d'Endocrinologie-Nutrition, Hôpital La Timone, Université de la Méditerranée, Marseille, France.

Contact : samirasaadi03@yahoo.fr

WFS1 est un gène impliqué dans le syndrome de Wolfram (MIM606201). Ce syndrome, de transmission autosomique récessive, associe un diabète de type 1, une atrophie optique et des manifestations telles que une surdité, un diabète insipide et des signes neurologiques. Des mutations de WFS1 ont été également décrites dans des surdités familiales non syndromiques. Récemment, des études pangénomiques ont montré une association entre des variants de ce gène et le diabète de type 2 (DT2). Notre objectif a été d'explorer WFS1 dans l'association DT2 et surdité neurosensorielle par cartographie dense des SNP. L'étude cas-témoins d'association a été réalisée sur une population de DT2 ($n = 101$), recrutée aux CHU de Marseille et Nice. Ce diabète, apparu après l'âge de 15 ans, est associé à une surdité neurosensorielle. Les diabètes de type 1 ou liés à une mutation de l'ADN mitochondrial ont été exclus. La population témoin est représentée par des sujets ($n = 140$), recrutés de manière randomisée dans la population générale du sud de la France et appariés pour l'âge (~ 60 ans). La cartographie dense des SNP a concerné une région génomique continue comprenant l'exon 8 (2,6 kb), qui contient la majorité des mutations déjà décrites dans le syndrome de Wolfram et les surdités non syndromiques, et la région 3'UTR. La détection des SNP a été suivie par la reconstruction des haplotypes (programme PHASE) et l'association génétique a été testée par le

test chi2 et régression logistique. Le criblage des 8 exons du gène (séquençage) chez 35 cas et 40 contrôles nous a permis de déterminer les sites variables (plus de 30) et les blocs de déséquilibre de liaison (DL). 20 SNP apparaissent communs aux patients et aux témoins avec des fréquences (MAF) de 0,014 à 0,423. Une série de 14 SNP dans l'exon 8 et la région 3'UTR à des fréquences $\geq 10\%$ se sont montrés dans un bloc de très fort DL qui a été choisi pour l'analyse des haplotypes. Le SNP rs1801212 (c.997A>G, p.I333V) a été associé à la maladie, notamment par la forme homozygote GG (9 % chez les contrôles vs 2 % chez les patients). Ce rôle protecteur se révèle en régression logistique comme diminuant le risque de ~ 5 fois ($P < 0,036$, OR 0,213 95 % CI [0,046-0,98]). Le SNP rs1046319 (c.*91C>T) dans la région 3'UTR, en très fort DL avec le SNP rs1801212, a montré la même tendance par le génotype CC. Afin de tester le rôle des différentes combinaisons des SNP, nous avons construit les haplotypes formés par 9 SNP et montré qu'un haplotype est 17 fois plus fréquent chez les patients et fortement associé à la maladie ($P < 0,0005$, OR 14,5, 95 % CI [1,85-114,7]). Cet haplotype contient notamment les allèles A et T des SNP cités ci-dessus, ainsi que l'allèle G du SNP rs1046320 dans la région 3'UTR. Ces données montrent la supériorité de l'analyse des haplotypes par rapport aux SNP individuels et démontrent pour la première fois l'implication du gène WFS1 dans l'association diabète de type 2 et surdité neurosensorielle, dans la population française.

Mots-clés : WFS1, SNP-Haplotypes, diabète de type 2-Surdité

■P312. SÉQUENÇAGE DES 9 GÈNES USHER CONNUS DANS UNE LARGE COHORTE DE PATIENTS : DIVERGENCE GÉNOTYPE/PHÉNOTYPE ET CAS DE DIGÉNISME

C. Bonnet (1, 2), M. Grati (1, 2), F. Denoyelle (3), M. Parodi (4), M. Niasme-Grare (4), D. Zelenika (5), M. Délépine (5), C. Koval (4), D. Feldmann (4), L. Jonard (1, 4), D. Weil (2), B. Delobel (6), C. Vincent (7), H. Dollfus (8), M.M. Eliot (9), A. David (10), C. Calais (11), J. Vigneron (12), B. Montaut (13), D. Bonneau (14), J. Dubin (15), C. Thauvin (16), A. Duvillard (17), C. Francannet (18), T. Mom (19), D. Lacombe (20), F. Duriez (21), V. Drouin-Garraud (22), M.F. Thuillier-Obstoy (23), R. Couderc (4), J. Weissenbach (24), C. Petit (2), S. Marlin (1)

(1) Unité de Génétique Médicale, Unité INSERM U587, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Paris, France ; (2) Unité de Génétique des Déficits Sensoriels, Unité INSERM U587, Université Pierre-et-Marie-Curie, Institut Pasteur, Paris, France ; (3) Service d'ORL et de Chirurgie Cervico-faciale, Unité INSERM U587, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, AP-HP, Université Paris VI, Paris, France ; (4) Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Unité INSERM U587, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France ; (5) CEA, Centre National de Génotypage, Evry, France ; (6) Centre de Génétique, Hôpital St-Antoine, Lille, France ; (7) Service d'ORL, Hôpital St-Antoine, Lille, France ; (8) Service de Génétique médicale, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France ; (9) Service d'ORL, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France ; (10) Service de Génétique, Hôtel Dieu, Nantes, France ; (11) Service d'ORL, CHU Hôtel-Dieu, Nantes, France ; (12) Maternité Régionale Adolphe-Pinard, Nancy, France ; (13) Service d'ORL, Maternité Régionale Adolphe-Pinard, Nancy, France ; (14) Centre de Référence des Maladies Neurogénétiques, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, France ; (15) Service d'ORL, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, France ; (16) Unité de Génétique Médicale, Hôpital, Dijon, France ; (17) Service d'ORL, Hôpital, Dijon, France ; (18) Génétique Médicale, Hôtel-Dieu, Clermont-Ferrand, France ; (19) Service d'ORL, Hôtel-Dieu, Clermont-Ferrand, France ; (20) Centre de Génétique, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France ; (21) Service d'ORL, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France ; (22) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Charles-Nicolas, Rouen, France ; (23) Service ORL Pédiatrique, Hôpital Charles-Nicolas, Rouen, France ; (24) CEA, DSV, IG, Genoscope, CNRS-UMR 8030, UVEF, Université d'Évry, Évry, France
Contact : crystal.bonnet@orange.fr

Introduction : Le syndrome de Usher associe rétinopathie pigmentaire et surdité neurosensorielle généralement congénitale avec atteinte vestibulaire variable. De transmission autosomique récessive, il est génétiquement et cliniquement hétérogène. MYO7A, USH1C, CDH23, PCDH15 et SANS sont impliqués dans le syndrome de Usher de type I ; USH2A, VLGR1 et WHRN dans le Usher de type II et USH3A dans le Usher de type III. Par ailleurs, il est vraisemblable, que dans certains cas, un phénomène de digénisme soit à l'origine d'un syndrome de Usher. Méthodes : Afin de rechercher des cas de digénisme, nous avons entrepris un séquençage systématique des exons codants ainsi que des sites d'épissage de chacun des neuf gènes Usher. Cette étude porte sur 59 patients dont 29 USH1, 22 USH2 et 8 USH3. Résultats : Nous avons trouvé des mutations chez 50 patients, 48 nouvelles mutations, prédites comme pathogènes sont rapportées dans

cette étude. Parmi les patients USH1, 55 % portent au moins une mutation dans MYO7A. En combinant les patients USH2 et USH3, 53 % ont au moins une mutation dans USH2A, tandis que VLGR1 est impliqué dans 20 % des cas. Nous avons également pu observer une divergence entre génotype/phénotype pour les patients diagnostiqués USH3. En effet, six d'entre eux possèdent des mutations dans USH2A. Deux cas de digénisme probable sont rapportés chez deux patients USH1 (MYO7A+SANS ; PCDH15 + SANS). Conclusion : L'exploration des neuf gènes Usher actuellement connus est donc indispensable pour obtenir un meilleur diagnostic et mettre en évidence de possible cas de digénisme.

Mots-clés : Usher, digénisme.

■P313. MUTATION DE LBR ET ANOMALIES NUCLÉAIRES FIBROBLASTE-SPECIFIQUES CHEZ UNE PATIENTE SCLÉRODERMIQUE

C. Gaudy-Marqueste (1), P. Roll (2, 3), V. Esteves-Vieira (2), I. Agouti (2), F. Angelis (2), P. Cau (2, 3), P.J. Weiller (4), J.J. Grob (1), N. Lévy (2, 3), A. De Sandre-Giovannoli (2, 3)

(1) Service de Dermatologie, Hôpital Ste Marguerite, Marseille, France ; (2) Département de Génétique Médicale et Biologie Cellulaire, Hôpital la Timone Enfants, Marseille, France ; (3) INSERM UMR_S910, Faculté de Médecine, Marseille, France ; (4) Service de Médecine Interne, Hôpital la Timone, Marseille, France.

Contact : annachiara.desandre@ap-hm.fr

Les laminopathies constituent un groupe hétérogène de pathologies secondaires à mutations des Lamines, protéines nucléaires ubiquitaires, et de certains de leurs partenaires moléculaires. L'existence de similitudes cliniques entre la sclérodémie systémique et certaines laminopathies systémiques, i.e. la Progeria de Hutchinson-Gilford, nous a conduits à rechercher des mutations des Lamines A/C et de certains partenaires moléculaires chez une patiente atteinte de sclérodémie systémique cutanée limitée (classification de Leroy). Une variation non décrite à l'état hétérozygote (c.1114C>T ; p.R372C), a été observée chez la patiente dans l'exon 9 du gène LBR, codant une protéine intégrale de la membrane nucléaire interne, le Récepteur des Lamines de type B. Des mutations de ce gène sont responsables de l'anomalie de Pelger-Huet, un trait hématologique dominant sans anomalie fonctionnelle, et de la dysplasie de Greenberg, une chondrodystrophie récessive létale in utero. Cette variation n'a pas été retrouvée dans 400 chromosomes contrôles ni chez 27 autres patients sclérodermiques. L'analyse de la lobulation des polynucléaires neutrophiles a exclus une anomalie de Pelger-Huet chez la patiente. Les analyses bioinformatiques effectuées ensuite ont montré que l'Arginine 372 est très conservée au cours de l'évolution et prédisait un impact potentiel de la mutation sur la structure secondaire de la protéine. L'expression de LBR et de plusieurs de ses partenaires moléculaires, analysée par western blot sur les cellules lymphoblastoïdes de la patiente était sans particularité. Au contraire, les mêmes analyses réalisées sur une lignée de fibroblastes montraient une diminution importante de l'expression de LBR, des Lamines A/C et de LMNB2 ainsi qu'une abolition de l'expression de LMNB1 et HPIalpha. En parallèle, les analyses immunocytochimiques retrouvaient des anomalies de ces mêmes protéines dans les fibroblastes mais pas dans les cellules lymphoblastoïdes. La réduction d'expression importante observée pour LBR et plusieurs de ses partenaires moléculaires, dont les interactions multiples et étroites au sein des enveloppes nucléaires ont été largement documentées, suggère que la mutation pourrait avoir des effets délétères dominants négatifs au sein des noyaux cellulaires, de manière tissu-spécifique. Une modification de la structure tridimensionnelle de LBR pourrait déstabiliser d'autres protéines de l'enveloppe nucléaire et perturber l'interaction avec la chromatine périphérique ou des partenaires moléculaires tissus-spécifiques. En particulier, une perturbation de la voie de signalisation du TGF-beta pourrait être supposée, étant donné que les Lamines A/C participent à la modulation de l'effet du TGF-beta sur la production de collagène. Certaines mutations du gène LBR pourraient donc représenter une cause rare de Sclérodémie Systémique et l'exploration de cohortes plus larges de patients apparaît dans ce contexte utile et indiquée.

Mots-clés : sclérodémie systémique, LBR, laminopathie.

■P314. ASSOCIATION STUDY OF PSORIASIS IN TUNISIAN MULTIPLE FAMILIES

M. Ammar (1), C. Bouchlaka-Souissi (1), I. Zraa, N. Doss (3), C. Helms (4), R. Dhaoui (3), A. Ben Osman (2), A. Ben Ammar-El Gaid (1), M. Mokni (2), A. Bowcock (4)

(1) Laboratoire de Génétique, Immunologie et Pathologie Humaine, Département de Biologie, Faculté des Sciences de Tunis, Tunisie ; (2) Service de Dermatologie, Hôpital La Rabta de Tunis, Tunisie ; (3) Service

de Dermatologie, Hôpital Militaire de Tunis, Tunisie ; (4) Washington University, Saint Louis, USA

Contact : myriambensaid@yahoo.fr

Background – Psoriasis is a relapsing chronic inflammatory skin disease affecting all racial groups with a peak prevalence of 3% in northern European, Scandinavian Caucasians. This prevalence is also reached in the Tunisian population. Epidemiologic studies have implicated a genetic component to psoriasis. In the last 12 years multiple genome wide linkage analyses have identified putative susceptibility loci on several chromosomes, with a major locus in the CMH region.

Recently, a genome-wide association study of psoriasis and psoriasis arthritis using a panel of SNPs was performed on 274 US cases and 223 controls, revealing novel associations with genes of the immune system and cartilage homeostasis. Forty nine single nucleotide polymorphisms (SNPs), with their risk alleles, have been identified on different regions across the genome.

Objectives – In order to investigate the genetic predisposition of psoriasis in Tunisian population, a family based association study was carried out on 7 Tunisian multiplex psoriatic families (37 patients and 57 healthy) using a set of these reported 98 SNPs showing strong associations with psoriasis. We also performed a SNPs interaction test using the epistatic test implemented in PLINK software.

Methods – Genotyping of all individuals was performed with the sequenom Mass Array system. For statistical analyses we used FBAT, TDT and epistatic tests implemented in PLINK software.

Results – The most significant p value of association ($p = 0.009$), were obtained with an SNP in chromosome 3 within the IL17RD gene. Other significant p values were obtained with SNPs localized on chromosome 13 within the COG6 gene and chromosome 6 within the HLA class I region of the MHC (PSORS1 locus). Some of the associated haplotypes were overtransmitted to affected individuals.

Conclusion – Our results showed significant association of Tunisian families with loci within chromosome 3, 6 and 13. Our result is consistent with our previously analyses. Furthermore, two other regions were of interest including the chromosomes 12 and 20 which should be more investigated in our population in order to identify new genes implicated in the pathogenesis.

Mots-clés : psoriasis, FBAT, TDT.

■P315. RECHERCHE D'UNE ASSOCIATION GÉNÉTIQUE ENTRE LE GÈNE PADI4 ET LA SUSCEPTIBILITÉ À LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE DANS LA POPULATION TUNISIENNE

M. Ben Hamad (1), S. Marzouk (2), G. Chabchoub (1), Z. Bahloul (2), F. Fakhfakh (1), H. Ayadi (1), A. Maalej (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie ; (2) Service de Médecine Interne, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

Contact : myriam_bh@yahoo.fr

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une des causes les plus communes des maladies auto-immunes systémiques. Elle affecte 0,5 à 1 % de la population. Elle est caractérisée par une inflammation chronique du tissu synovial et la formation d'un pannus qui est capable de détruire le cartilage adjacent et l'os. Dans cette étude cas/contrôle, nous avons recherché une éventuelle association entre le gène peptidylarginine déiminase 4 (PADI4) et la susceptibilité à la PR dans la population tunisienne. Ce gène catalyse la conversion des résidus arginine, basiques, en résidus citrulline, neutres dans les peptides. Suite à cette modification post traductionnelle le système immunitaire va réagir en produisant des auto-anticorps anti-peptides citrullinés (anti-CCP) très spécifiques de la PR. Deux polymorphismes du gène PADI4 : PADI4_92 (G/C) et PADI4_96 (C/T) ont été analysés dans une série de 142 malades et 155 témoins d'origine tunisienne. Le génotypage des deux polymorphismes a été effectué par la technique de PCR-RFLP. La comparaison des fréquences alléliques et génotypiques entre les malades et les témoins a été effectuée par le test χ^2 et le test du risque relatif du génotype. L'analyse statistique n'a pas montré de différences significatives ($p > 0,05$) chez les malades par rapport aux témoins pour les polymorphismes étudiés. Cependant, la stratification de nos patients selon leurs données cliniques et immunologiques a montré une légère association allélique pour le polymorphisme PADI4_96 chez les patients qui possèdent le facteur rhumatoïde (FR) ($p = 0,0477$). Toutefois, aucune différence significative n'a été détectée pour les sous groupes de patients qui présentent les anti-CCP, des érosions, des nodules, une autre maladie auto-immune associée, l'allèle de susceptibilité HLA-DRB1*04 ainsi que HLA-DRB1*10. En conclusion, nos résultats plaident en faveur d'une

association génétique du polymorphisme PADI4_96 et la PR dans le sous-groupe de patients séropositifs pour le facteur rhumatoïde (FR+).

Mots-clés : polyarthrite rhumatoïde, étude d'association, peptidylarginine déiminase 4.

■P316. LINKAGE STUDY OF THE NEWLY PROPOSED RHEUMATOID ARTHRITIS (RA) SUSCEPTIBILITY GENES REL AND BLK IN THE WESTERN EUROPEAN POPULATION

H. Mbarek (1), C. Pierlot (1), M.L. Tadjeddine (1), P. Migliorini (2), A. Balsa (3), R. Westhovens (4), B. Pilar (5), H. Alvers (6), D. Pascual-Salcedo (3), S. Bombardieri (2), J. Dequeker (4), T.R. Radstake (5), P.V. Riel (5), L.V. De putte (5), Thomas Bardin (7), B. Prum (8), E. Petit-Teixiera (1), F. Cornélis (1, 7, 10) for ECEAF (9)

(1) GenHotel-EA3886- Laboratoire de Recherche Européen pour la Polyarthrite Rhumatoïde, Member of AutoCure European Consortium, University Evry Val d'Essonne-Paris7, Evry-Genopole, France ; (2) Pisa University, Italy ; (3) La Paz Hospital, Madrid, Spain ; (4) KUL Leuven University, Belgium ; (5) Nijmegen University, The Netherlands ; (6) Porto San Joao Hospital, Porto, Portugal ; (7) Fédération de Rhumatologie, Pôle de l'Appareil Locomoteur, Lariboisière Hospital, Paris, France ; (8) Laboratoire Statistique et Génome, Université d'Evry Val d'Essonne, Evry, France ; (9) European Consortium on Rheumatoid Arthritis Families ; (10) Unité de Génétique Clinique, Pôle des Laboratoires Médicaux-Imagerie-Pharmacie, Lariboisière Hospital, Paris, France
Contact : meriem@polyarthrite.net

Background : RA is the most frequent human multifactorial auto-immune disease. To date, four RA genetic factors have been definitely confirmed by linkage and association : HLA-DRB1, PTPN22, C5-TRAF1, and TNFAIP3. Recently, two novel RA genetic risk factors were proposed in a genome-wide association study, involving allelic polymorphisms at REL locus (2p16.1) encoding c-Rel, a transcription factor from the Rel /NFkB family and at BLK locus (8p21.1) encoding B lymphoid tyrosine kinase. **Objectives** : We aimed at testing for RA linkage REL and BLK loci in the Western European Caucasian population. **Methods** : A DNA set for 419 trio Caucasian families (one RA case and both parents) from Western Europe (France, Italy, Belgium, Spain, the Netherlands and Portugal) was available for this study. Three single nucleotide polymorphisms (SNP), rs13031237 and rs13017599 for REL, together with rs2736340 for BLK, were genotyped using KASPar chemistry (www.kbioscience.co.uk). Statistical analyses were performed using the transmission disequilibrium test (TDT) for linkage as well as the comparison of allelic frequencies (AFBAC) and the genotype relative risk (GRR) for association. Analyses were planned for subgroups of families according to patients rheumatoid factor (RF+/-) and anti-citrullinated peptide antibodies (ACPA+/-) status. Given the initial study, we had a 70 % power to reach statistical significance ($P < 0.05$) with 419 trio families for each SNP. **Results** : We observed for REL rs13031237 and rs13017599, which were in near total linkage disequilibrium, a trend for RA linkage only in the ACPA- subgroup (TDT 67 % and 68 % of transmission, $P = 0.011$ and 0.0052 , respectively) with a significant association for the T and A allele of rs13031237 and rs13017599, respectively (AFBAC RA index cases 0.47 vs 0.31 in controls and 0.43 vs 0.26, $P = 0.0099$ and 0.0041 , respectively). For BLK rs2736340, the results showed RA linkage only in the RF- subgroup (TDT 61 % of transmission, $P = 0.044$) with a significant association for the T allele (AFBAC RA index cases 0.27 vs 0.19, $P = 0.0099$ and 0.042). After multistep correction, the results remained significant for REL. **Conclusions** : These results in the Western European population showed the first linkage evidence for the REL locus in ACPA- RA and a linkage trend for the BLK locus in RF- RA. Further work is required to establish BLK locus in RA. REL locus could be considered as a new RA genetic factor, stimulating investigations for this Rel /NFkB family member to understand RA genetic susceptibility.

Mots-clés : REL, BLK, rheumatoid arthritis.

■P317. LINKAGE PROOF FOR THE 6Q23 LOCUS, THE NEW RHEUMATOID ARTHRITIS SUSCEPTIBILITY GENETIC FACTOR

H. Mbarek (1), V.H. Teixeira (1, 11), P. Dieudé (1, 12), C. Pierlot (1), M.L. Tadjeddine (1), P. Migliorini (4), A. Balsa (5), R. Westhovens (6), P. Barrera (7), H. Alvesi (8), C. Vaz (8), M. Fernandes (8), D. Pascual-Salcedo (5), S. Bombardieri (4), J. Dequeker (6), T.R. Radstake (7), P.V. Riel (7), L.V. De putte (7), A. Lopes-Vaz (8), B. Prum (10), T. Bardin (9), E. Petit-Teixiera (1), F. Cornélis (1, 2, 3, 9, 5, 13)

(1) GenHotel-EA 3886, University Evry-Paris 7 Medical School, Member of the AutoCure European Consortium, CP5727, Evry-Genopole, France ; (2) Fédération de Rhumatologie, Pôle de l'Appareil Locomoteur, Lariboisière Hospital, AP-HP, Paris, France ; (3) Unité de Génétique Clinique, Pôle des Laboratoires, Paris, France Médicaux-Imagerie-Pharmacie,

Lariboisière Hospital, AP-HP, Paris, France ; (4) Pisa University, Pisa, Italy ; (5) La Paz Hospital, Madrid, Spain ; (6) KUL Leuven University, Leuven, Belgium ; (7) Nijmegen University, Nijmegen, The Netherlands ; (8) Porto San Joao Hospital, Porto, Portugal ; (9) Adult Genetics Unit, Centre Hospitalier Sud Francilien, Evry-Corbeil, Corbeil-Essonnes, France ; (10) Laboratoire Statistique et Génome université d'Evry Val d'Essonne, France ; (11) Faculty of Medicine, University of Coimbra, Coimbra, Portugal ; (12) Université Diderot-Paris7, Bichat-Claude-Bernard Hospital, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France ; (13) European Consortium on Rheumatoid Arthritis Families
Contact : meriem@polyarthrite.net

Rheumatoid arthritis (RA) is the most frequent multifactorial human autoimmune disease. Recently, to the three RA loci definitely confirmed by linkage and association, HLA-DRB1, PTPN22 and C5-TRAF1, the 6q23-TNFAIP3 locus was added as a new RA locus, following multiple independent associations studies. However, the linkage proof is still awaited. Objective. The aim of our study was to provide the RA linkage proof for the 6q23 locus. Methods. 420 trio families were genotyped for 11 SNPs throughout the 6q23-TNFAIP3 region. The linkage and association analysis for each SNPs and haplotypes were performed using the Transmission Disequilibrium Test (TDT), the comparison of allelic frequencies (AFBAC) and the genotype haplotype relative risk. Stratification using autoantibodies status was planned, as the association was described predominantly in the sub-group of auto-antibody + RA patients. Results. The TDT haplotype analysis provided the linkage proof for the haplotype C-A-T of rs10499194, rs6920220 and rs5029937 ($P = 0.00057$). We observed also evidence for association using AFBAC ($P = 0.0093$) and the genotype haplotype relative risk, showing a significant increase of C-A-T containing haplotypes in patients compared to virtual controls ($P = 0.0081$). Stratification analysis showed a stronger RA linkage and association in the auto-antibody rheumatoid factor + patient's subgroup. The obvious candidate gene TNFAIP3 lies outside of the associated haplotype. Conclusions. This study provides the first linkage proof confirming definitely the 6q23 locus as a new RA susceptibility factor. Further investigations should now define precisely the boundaries of the associated haplotype to guide the search for the underlying pathophysiological mechanism.

Mots-clés : rheumatoid Arthritis, 6q23 gene region, linkage, multifactorial diseases.

■P318. IDENTIFICATION D'IRF5 COMME NOUVEAU FACTEUR GÉNÉTIQUE DE SUSCEPTIBILITÉ DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE : ARGUMENTS DE LIAISON ET D'ASSOCIATION

K. Dawidowicz-Pachy (1, 3), Y. Allanore (2), C. Pierlot (3), V.H. Teixeira (3), E. Petit-Teixeira (3), F. Cornélis (3), P. Dieudé (1, 3) for ECRAF (4)
(1) Service de Rhumatologie, Hôpital Bichat Claude-Bernard, AP-HP, Université Diderot-Paris 7 Paris, France ; (2) Service de Rhumatologie A, Hôpital Cochin, AP-HP, Université Descartes, Paris, France ; (3) Gen-Hotel-EA 3886, Université d'Évry, CP5727, Évry-Genopole, France ; (4) European Consortium on Rheumatoid Arthritis Families
Contact : meriem@polyarthrite.net

Rationnel. De récentes études du transcriptome ont mis en évidence une « signature de l'interferon de type I (IFN I) » dans les monocytes du sang périphérique, dans les glandes salivaires accessoires et dans le tissu cutané au cours du lupus érythémateux disséminé (LED), du syndrome de Sjögren (SS), de certaines polyarthrites rhumatoïdes (PR), ou encore de la sclérodermie systémique (ScS), soulignant l'importance de la voie IFN I dans la physiopathologie des connectivites. Les Interferon Regulatory Factors (IRFs), tel qu'IRF5, sont des facteurs de transcription impliqués dans la régulation de l'expression des IFNs de type I. À ce jour, plusieurs polymorphismes fonctionnels d'IRF5 ont été suggérés comme facteurs de susceptibilité de plusieurs pathologies auto-immunes, incluant le LED, le SS la ScS ou encore la PR. Aucun argument de liaison génétique n'a encore été rapporté dans la PR. Objectif. Le but de ce travail était d'établir l'argument de liaison entre IRF5 et la PR. Patients et Méthodes. 1014 individus d'origine Européenne Caucasiennne issus de 338 familles trio (un patient atteint de PR et ses 2 parents) ont été génotypés pour les single nucleotide polymorphisms (SNPs) rs3757385, rs2004640 and rs10954213 d'IRF5. L'information de liaison génétique a été obtenue par la transmission (T) observée au Transmission Disequilibrium Test (TDT). Résultats. L'analyse par marqueur a montré une liaison génétique pour les 3 SNPs d'IRF5 testés. Au sein des 8 haplotypes générés par les 3 SNPs, l'argument de liaison entre IRF5 et la PR concernait 2 haplotypes particuliers : un haplotype IRF5 (C-T-A) de susceptibilité « S » ($T = 62,2\%$, $P = 2,9 \times 10^{-4}$) et un haplotype (A-G-G) protecteur « P » ($T = 38,7\%$, $P = 1,86 \times 10^{-3}$). La liaison était significativement plus importante dans le sous groupe non-érosif (PR sans destruction articulaire), ce pour les 2 haplotypes d'IRF5 « S » et « P » : $T = 82,2\%$, $P = 1,34 \times 10^{-5}$ et $T = 19,4\%$, $P = 2,46 \times 10^{-4}$. La liaison d'IRF5

avec la PR n'était pas influencée par d'autres données phénotypiques cliniques, immunologiques ou génétique (notamment statut PTPN22, HLA-DRB1). Les génotypes haplotypiques homozygotes IRF5 SS et PP étaient associés avec la PR, positivement et négativement, respectivement : $P = 0,0026$, OR 1,88, 95 %CI [1,24-2,84], $P = 0,006$, OR 0,71 95 %CI [0,55-0,91]. Ces résultats nous permettent une approche individuelle pratique, prenant un compte un statut simplifié de génotypes haplotypiques d'IRF5 : IRF5 SS, PP et XX (X correspondant aux haplotypes non-S et non-P). Conclusion. Ce travail apporte l'argument de liaison génétique permettant, avec l'association observée, cohérente avec la littérature, l'identification formelle d'IRF5 en tant que facteur de susceptibilité de la PR. Ces résultats illustrent la notion d'un fond génétique partagé par différentes maladies auto-immunes. De nouvelles études sur des cohortes de suivis de patients atteints de PR permettront de préciser l'influence du génotype d'IRF5 sur l'expression de la PR.

Mots-clés : IRF5, rheumatoid arthritis, linkage.

■P319. ASSOCIATION ENTRE DES POLYMORPHISMES DU GÈNE GDF5 ET LA LUXATION CONGÉNITALE DE HANCHE DANS UNE POPULATION CAUCASIENNE

K. Rouault (1, 2), V. Scotet (1), S. Autret (1, 3), F. Gaucher (4), F. Dubrana (5), D. Tanguy (6), C. Yaacoub El Rassi (7), B. Fenoll (8), C. Férec (1, 2, 3, 9)

(1) Inserm U613 « Génétique moléculaire et génétique épidémiologique », Brest, France ; (2) Université de Brest, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Brest, France ; (3) CHU Brest, Hôpital Morvan, Laboratoire de génétique moléculaire, Brest, France ; (4) Hôtel Dieu, Service de chirurgie orthopédique, Pont L'Abbé, France ; (5) CHU Brest, Hôpital La Cavale Blanche, Service de chirurgie orthopédique, Brest, France ; (6) Centre de Perharidy, Service de médecine physique et de réadaptation, Roscoff, France ; (7) CH Quimper, Service de chirurgie orthopédique, Quimper, France ; (8) CHU Brest, Hôpital Morvan, Service de chirurgie pédiatrique, Brest, France ; (9) Établissement Français du Sang – Bretagne, Brest, France

Contact : karen.rouault@univ-brest.fr

Introduction : La luxation congénitale de hanche (LCH), qui affecte entre 2 et 10 nouveau-nés sur 1 000, est une des anomalies congénitales du squelette les plus fréquentes dans les populations d'origine caucasienne. Cette maladie résulte d'une anomalie de positionnement de la tête fémorale dans la cavité acétabulaire, ce qui induit une dislocation partielle voire complète de la hanche. La LCH se constitue in utero, à la faveur de facteurs mécaniques, liés aux conditions de grossesse et d'accouchement et de facteurs génétiques. Si la composante mécanique semble prédominante, l'étiologie de la pathologie suggère également l'existence d'un déterminisme génétique de la maladie. De ce fait, la LCH est aujourd'hui considérée comme une maladie complexe dans laquelle un ou plusieurs gènes doivent être impliqués. La LCH a fait l'objet d'un nombre important de publications sur les aspects difficiles de son dépistage et de son traitement mais les gènes responsables n'ont, à ce jour, pas été identifiés. Récemment, un polymorphisme fonctionnel (rs143383) de la région 5'-UTR du gène GDF5 (Growth/Differentiation Factor 5) – précédemment associé à l'ostéoartrrose – a été associé à la LCH dans une population chinoise. Le but de notre étude était de déterminer si le gène GDF5, connu pour être impliqué dans la morphogénèse des os et des cartilages, était également associé à la LCH chez les Caucasiens. Méthode : Nous avons génotypé un ensemble de tagSNPs (rs224334, rs143384 et rs143383) chez 239 patients luxés et 239 témoins, tous originaires du Finistère, département où la LCH est fréquente. Nous avons ensuite testé l'association par une approche marqueur par marqueur et une approche haplotypique. Résultats : L'association la plus significative a été observée avec le marqueur rs143384. L'allèle T de ce SNP était surreprésenté chez les cas (65,9 % vs. 55,9 %, $p = 0,002$) et le meilleur modèle génétique testé était le modèle additif (OR = 1,51, IC à 95 % : [1,16 ; 1,95], $p = 0,002$). La significativité de l'association était augmentée dans le sous-groupe de patients présentant une luxation de hanche (OR = 1,78, IC à 95 % : [1,32 ; 2,40], $p = 0,0001$). Concernant le marqueur rs143383, l'association demeurait significative après correction pour tests multiples uniquement dans ce dernier groupe de patients. L'haplotype regroupant les allèles de susceptibilité de ces SNPs était également plus fréquent chez les cas (OR = 1,53, IC à 95 % : [1,18 ; 1,98], $p = 0,002$). Conclusion : Cette étude rapporte, pour la première fois, l'association entre des polymorphismes du gène GDF5 et la LCH au sein d'une population caucasienne, et révèle un autre polymorphisme d'intérêt, ce qui nécessite des analyses complémentaires. La diminution de l'expression de GDF5 pourrait conduire à une anomalie de développement des ligaments et de la capsule de la hanche, et pourrait ainsi contribuer à la pathogénèse de la LCH.

Mots-clés : luxation congénitale de hanche, étude d'association, gènes candidats.

■P320. GRANDE HÉTÉROGÉNÉITÉ GÉNÉTIQUE ET NOUVEAU LOCUS POUR LA SCOLIOSE IDIOPATHIQUE

P. Edery (1, 2), P. Marguerite-Jeannin (3), B. Biot (4), A. Labalme (1), J.-C. Bernard (4), J. Chastang (1), B. Kassai (5), F. Clerget-Darpoux (3)
(1) Hospices Civils de Lyon, Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Bron, France ; (2) Université Lyon1, France ; (3) Unité d'Épidémiologie Génétique, INSERM U 535, Villejuif, France ; (4) Centre de Réadaptation Fonctionnelle des Massues, Lyon, France ; (5) Hospices Civils de Lyon, Centre d'Investigation Clinique (CIC), Bron, France
Contact : patrick.edery@chu-lyon.fr

La scoliose idiopathique est une pathologie de la statique rachidienne dont les causes sont inconnues à ce jour, caractérisée par une déviation de la colonne dans le plan frontal (angle de Cobb) d'au moins 10° et par une rotation vertébrale. La prévalence de cette affection est de 1,5-3 % dans la population générale. Ses conséquences fonctionnelles, esthétiques et sociales sont parfois majeures. Un petit nombre d'analyses de liaison génétique suggère la présence de quelques localisations possibles sur le génome, mais aucune n'a été répliquée de façon convaincante à ce jour. De plus, un polymorphisme du gène CHD7, impliqué dans le syndrome CHARGE, a été considéré comme prédisposant à la scoliose idiopathique. Toutefois, aucun gène causal n'a été clairement identifié à ce jour. L'étude présentée ici repose sur l'hypothèse de l'existence, à côté du vaste groupe des formes multifactorielles de scoliose idiopathique, d'un groupe restreint de formes « monogéniques » dans lesquelles la maladie est héritée selon un mode dominant. Nous avons donc collecté des familles multiplex de scoliose idiopathique grâce au recrutement du Centre de Réadaptation des Massues, Lyon, France, parmi lesquelles nous avons sélectionné 6 grandes familles multiplex compatibles avec une hérédité dominante. Le critère d'inclusion de la scoliose idiopathique était un angle de Cobb supérieur à 15°, pour limiter le risque de phénocopies (prévalence des scolioses supérieures à 15° de l'ordre de 1 %). Nous avons ensuite effectué un tour du génome avec un panel de 1 000 marqueurs répartis tous les 3,7 cM en moyenne (deCODE genetics®) dans ces 6 familles, après une étude d'informativité. Dans seulement une de ces grandes familles, la coségrégation de la maladie et des marqueurs est compatible avec la transmission d'une mutation dominante (partage d'un même haplotype par tous les malades et transmetteurs obligatoires). Pour cette famille, cette parfaite coségrégation est observée en deux régions du génome (5q13-q14 et 3q11-q13) avec un lod score de 2.70. La probabilité d'avoir obtenu ces deux pics en absence de liaison est <5 % indiquant que le gène muté est situé à une de ces localisations. Dans deux autres grandes familles, nous n'avons trouvé aucune région du génome compatible avec une liaison génétique, suggérant soit une hétéro-généité génétique intrafamiliale soit la présence de phénocopies dans ces familles. De plus, dans chacune des 6 familles étudiées ici, nous avons exclu une compatibilité de liaison avec les autres régions impliquées à ce jour dans la scoliose idiopathique : 19p13.3, 17p11.2, 9q34, 17q25, 18q et 8q (gène CHD7), suggérant des résultats faux positifs ou une importante hétéro-généité génétique.

Mots-clés : scoliose idiopathique, maladie multifactorielle, formes monogéniques dominantes.

■P321. GENERISK : UN LOGICIEL D'ESTIMATION DES RISQUES POUR DES MALADIES GÉNÉTIQUES À PARTIR DE DONNÉES FAMILIALES

B. Bonaïti (1, 2), C. Bonaïti-Pellié (2, 3)
(1) INRA-GABI, Jouy-en-Josas, France ; (2) INSERM, U535, Villejuif, France
Contact : catherine.bonaiti@inserm.fr

Dans les maladies génétiques à âge de début variable ou dans les formes héréditaires de maladies communes comme le cancer, la prise en charge des personnes porteuses d'une mutation nécessite d'avoir une estimation précise des risques cumulés en fonction de l'âge (fonction de pénétrance), en particulier pour définir des stratégies de prévention. Ces personnes étant le plus souvent diagnostiquées dans des familles recensées sur des critères complexes, et en particulier sur la présence de plusieurs personnes atteintes, les échantillons d'individus porteurs dont on dispose sont bien entendu biaisés. Il est donc crucial, pour obtenir des estimations fiables, de corriger pour ce biais de recensement. Cette correction peut être effectuée grâce à des méthodes basées sur le maximum de vraisemblance. La GRL (genotype restricted likelihood) a été développée dans le cas où les critères sont essentiellement familiaux (Carayol et Bonaïti-Pellié, 2004). Son principe est de maximiser, pour chaque famille, la probabilité des génotypes observés conditionnellement aux phénotypes de tous les membres de cette famille, et au génotype de l'individu index (premier individu testé dans la famille) dont le génotype est toujours muté. Cette méthode s'applique

préférentiellement aux formes héréditaires de maladies communes. La PEL (Proband's phenotype exclusion likelihood) a été développée dans le cas où les familles ont été recensées indépendamment de l'histoire familiale et s'applique essentiellement aux maladies héréditaires à âge de début variable (Alarcon et Bonaïti-Pellié, 2009). Le logiciel GENERISK permet l'utilisation de ces deux méthodes. La GRL et la PEL ont été généralisées de manière à prendre en compte un éventuel effet de l'origine parentale de la mutation et un effet pléiotropique de cette mutation, c'est-à-dire la possibilité de plusieurs maladies différentes (par exemple des tumeurs de localisations diverses) chez les individus porteurs. Nous présentons les principes des méthodes, leurs applications possibles et les précautions à prendre dans l'utilisation du logiciel. Une illustration de GENERISK sur l'estimation du risque de différentes tumeurs dans le syndrome Lynch/HNPCC sera présentée par Valérie Bonadona au cours de ces Assises. Carayol J, Bonaïti-Pellié C. Estimating penetrance from family data using a retrospective likelihood when ascertainment depends on genotype and age of onset. Genet Epidemiol 2004 ; 27 : 109-17. Alarcon F, Bourgain C, Gauthier-Villars M, Planté-Bordeneuve V, Stoppa-Lyonnet D, Bonaïti-Pellié C. PEL : An unbiased method for estimating age dependent genetic disease risk from pedigree data unselected for family history. Genet Epidemiol 2009 ; 33 : 379-85.

Mots-clés : estimation, risque, prédisposition.

Maladies monogéniques – de la clinique aux gènes

■P322. ÉTUDE MOLÉCULAIRE DE 10 FAMILLES NORD-AFRICAINES DE DÉFICIT EN CLASSE II DU SYSTÈME HLA

R. M'rad (1, 3), F. Mellouli (2), M. Trabelsi (1, 3), I. Chelly (1), H. Jilani (1), L. Euch (1), M. Chaabouni (1, 3), I. Ouertani (1), M. Bejaoui (2), F. Maazoul (1), H. Chaabouni (1, 3)
(1) Service des maladies congénitales et héréditaires, EPS Charles Nicolle, Tunis, Tunisie ; (2) Centre de greffe de Moelle, Bab Saadoun, Tunis, Tunisie ; (3) Laboratoire de génétique humaine, Faculté de Médecine de Tunis, Tunis, Tunisie
Contact : rmrad@yahoo.com

Le défaut d'expression des molécules HLA de classe II (MCHII) est responsable d'un déficit immunitaire combiné et sévère appelé « syndrome des lymphocytes nus ». C'est une génopathie, rare au cours de laquelle les infections notamment digestives et pulmonaires apparaissent tôt dans la vie. Sur le plan biologique il est caractérisé par une absence de la réponse cellulaire et humorale à une stimulation antigénique exogène. Sur le plan moléculaire, il est secondaire à un défaut d'expression d'un des quatre facteurs majeurs de la régulation transcriptionnelle de l'expression du MCHII : CIITA, RFXANK, RFX5, et RFXAP. Le gène RFXANK code pour une sous unité du complexe RFX impliquée dans la régulation transcriptionnelle du système MCHII. Une délétion de 26 pb (752delG-25) a été décrite avec une fréquence élevée. Un effet fondateur de cette mutation dans la population nord africaine a été mis en évidence. Dans ce travail, nous rapportons l'étude moléculaire de 8 familles Tunisiennes et 2 autres Libyennes chez qui le diagnostic de déficit en MHC class II est fortement suspect. Le cas index n'était pas disponible chez 2/10 familles. Chez les 8 familles où le cas index est disponible, la délétion (752delG-25) du gène RFXANK a été retrouvée à l'état homozygote chez le malade et hétérozygote chez ses parents dans 5/8 cas. Chez les deux familles où le cas index est décédé, 752delG-25 est retrouvée à l'état hétérozygote chez les deux parents. Cette étude montre qu'au moins 75 % des patients tunisiens sont porteurs de cette anomalie. Ces résultats confirment l'effet fondateur décrit dans la population nord africaine et permettent de proposer un conseil génétique et un diagnostic anténatal fiable dans les familles à risque.

Mots-clés : RFXANK, Afrique du nord, déficit immunitaire.

■P323. ANALYSIS OF TAZ (TAFAZZIN) AND LDB3 (LIM DOMAIN-BINDING3/CYPHER/ZASP) GENES IN LEFT VENTRICULAR NON COMPACTION

E. Villard (1), G. Habib (2), E. Donal (3), J.C. Eicher (4), C. Pascal (5), R. Isnard (1), G. Dilanian (1), M. Komajda (1), P. Charron (1)
(1) AP-HP – Hôpital La Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) AP-HM – Hôpital de la Timone, Marseille, France ; (3) CHU de Rennes – Hôpital de Pontchaillou, Rennes, France ; (4) Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France ; (5) CHU de Nantes – Hôpital Guillaume et René Laennec, Nantes, France
Contact : philippe.charron@psl.aphp.fr